

審査の結果の要旨

氏名 小田原（中村） 紗羅

本研究は、運動によって骨格筋から分泌される生理活性物質の一つである Exercise-induced protein derived from muscle 1 (EXPM1) の生体内における糖・脂質代謝に与える影響の検討および、運動による糖・脂質代謝改善メカニズムについての解明を行うため、EXPM1 欠損マウスを用いて検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型マウスと EXPM1 欠損マウスの肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、膵臓、脳、心臓、肺、腎臓、胃、脾臓、骨格筋における EXPM1 の遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法を用いて検討した。野生型マウスにおいて、EXPM1 は特に骨格筋に多く発現している事が明らかになった。EXPM1 欠損マウスでは、いずれの臓器においても EXPM1 は発現していなかった。
2. 次に、野生型マウスと EXPM1 欠損マウスの解析において、8 週齢の時点では野生型マウスと比較して EXPM1 欠損マウスの摂餌量および体重に差はなかった。野生型マウスと比較して EXPM1 欠損マウスでは、血中の中性脂質および血中の遊離脂肪酸値が有意に高く、また経口糖負荷試験とインスリン負荷試験において耐糖能障害およびインスリン抵抗性を認め、糖・脂質代謝の増悪を認めることが明らかとなった。
3. 次に、運動による糖代謝改善作用を検討するために、野生型マウスおよび EXPM1 欠損マウスそれぞれに、3 週間のトレッドミル運動を行った。運動期間中においても、EXPM1 欠損マウスと野生型マウスの摂餌量に差を認めず、野生型マウスと EXPM1 欠損マウスの非運動群と運動群のそれぞれの摂餌量にも差を認めなかった。また週齢の増加に伴い、EXPM1 欠損マウスの体重は増加して、野生型マウスと比較して EXPM1 欠損マウスは体重が有意に増加していた。運動により、野生型マウスでは体重が減少したが、EXPM1 欠損マウスでは運動により体重が減少しなかった。
4. 野生型マウスと比較して、EXPM1 欠損マウスは精巣周囲白色脂肪組織の重量が有意に増加していた。野生型マウスでは、運動により精巣周囲白色脂肪組織の重量が減少していたが、EXPM1 欠損マウスでは、運動により精巣周囲脂肪組織の重量が減少していなかった。Haematoxylin-eosin 染色を行ったところ、精巣周囲白色脂肪組織の重量変化と一致した、脂肪組織の組織学的変化が認められた。
5. 次に、エネルギー消費について検討する目的で、酸素消費量の測定を行った。野生型マウスと比較して EXPM1 欠損マウスでは酸素消費量が有意に低下しており、また野生型マウスでは、運動により酸素消費量が増加していたが、EXPM1 欠損マウスでは、運動による酸素消費量の増加を認めなかった。呼吸商を測定したところ、野生

型マウスと EXPM1 欠損マウスでは呼吸商に差を認めなかった。また野生型マウス、EXPM1 欠損マウス共に、非運動群と運動群の呼吸商にも差を認めなかった。

6. さらに体温について検討したところ、野生型マウスと比較して EXPM1 欠損マウスは、安静時の体温が有意に低かった。また野生型マウスは運動により有意な体温上昇を認めたが、EXPM1 欠損マウスでは、運動による体温上昇が認められなかった。
7. 以上の実験結果から、EXPM1 は、運動によって遺伝子発現が増加し、運動によるエネルギー消費量の増加、体温上昇に関与し、体重減少に関わっている事が示唆された。EXPM1 を介したエネルギー代謝調節メカニズムについて、さらに詳細に検討するため、白色脂肪組織である精巣周囲脂肪組織および鼠径部脂肪組織における遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法を用いて検討した。野生型マウスでは運動によって、ミトコンドリア関連遺伝子である uncoupling protein 1 (UCP1)、cytochrome c oxidase subunit II (COX2)、脂肪酸燃焼の関連遺伝子である estrogen-related receptor α (ERR α)、peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)、medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD)、白色脂肪細胞のベージュ化のマーカーである cell death-inducing DFFA-like effector A (Cidea)、type 2 deiodinase (Dio2) の発現が上昇していたが、EXPM1 欠損マウスでは運動によってそれら遺伝子発現が上昇しない事が示され、EXPM1 が白色脂肪組織のベージュ化に関与している可能性が示唆された。
8. 野生型マウスと EXPM1 欠損マウスにおける、運動による脂質代謝への作用について検討したところ、野生型マウスと比較して、EXPM1 欠損マウスでは脂質代謝が増悪しており、また野生型マウスでは運動により脂質代謝が改善していたが、EXPM1 欠損マウスでは、運動による脂質代謝の改善は認められなかった。EXPM1 欠損マウスは、経口糖負荷試験とインスリン負荷試験において耐糖能障害およびインスリン抵抗性を認め、さらに EXPM1 欠損マウスでは、野生型マウスで認められた運動による耐糖能障害の改善とインスリン抵抗性改善作用が認められない事が明らかとなった。
9. インスリン抵抗性についてさらに詳細に検討するため、グルコースクランプ試験を行ったところ、野生型マウスと比較して EXPM1 欠損マウスでは全身の糖取り込みが低下している事が明らかとなった。また野生型マウスでは運動によって全身の糖取り込みが増加したが、EXPM1 欠損マウスでは、野生型マウスで認められた、運動による全身の糖取り込みの増加作用が認められない事が明らかとなった。

以上、本論文は、運動による代謝改善作用の一部に EXPM1 が関与していること、そのメカニズムとして、EXPM1 欠損マウスの解析により、EXPM1 が運動による白色脂肪組織のベージュ化に関与し、全身のエネルギー代謝を正に制御し、糖・脂質代謝を改善していることを初めて明らかにしたものである。本研究は、未だ明らかとなっていない運動による代謝調節メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。