

審査の結果の要旨

氏名 梅 松 瞳

本研究は骨格筋に発現する転写コアクティベーター・peroxisome proliferative activated receptor gamma coactivator-1 α (PGC-1 α) の発現増加に重要な役割を果たしている Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase (CaMKK) の骨格筋における詳細な役割は明らかにするため、CaMKK の二つのアイソフォームである、CaMKK α と CaMKK β の両方が欠損した CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスを用いて、CaMKKs の糖代謝に与える影響と運動による糖代謝改善メカニズムの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型マウスおよび CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスにトレッドミル運動を行ったところ、摂餌量・体重差は認められなかった。また、経口糖負荷試験・インスリン負荷試験を行ったところ、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスは野生型マウスと比較して、耐糖能障害・インスリン抵抗性を有することが明らかになった。さらに CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでは、野生型マウスでは認められた、運動による糖代謝改善作用が認められず、運動抵抗性が生じていた。

2. 骨格筋での遺伝子発現変化を解析したところ、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでは、野生型マウスと比較し、PGC-1 α の発現が低下していた。このことより、非運動群においては、CaMKKs シグナル依存的に PGC-1 α の発現量が調整されていることが明らかになった。一方で、運動群においては、野生型マウスさらには CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでも、運動により骨格筋における PGC-1 α の発現量が増加することが分かった。このことより、運動における PGC-1 α の発現増加には、CaMKKs 非依存的なシグナルも関与していることが明らかになった。

3. ミトコンドリア関連遺伝子の骨格筋での発現量を検討したところ、野生型マウスと CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスの間に差はなかったが、野生型マウス、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスともに、発現は運動により上昇した。骨格筋の Type 1 fiber 遺伝子である Troponin 1 の発現を検討したところ、野生型マウスと CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスとの間に、骨格筋における Troponin 1 の発現の差は認めなかった。また、野生型マウスおよび CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスともに運動により Troponin 1 の発現は上昇した。運動におけるミトコンドリア関連遺伝子、および筋繊維の変化には、CaMKKs 非依存的なシグナルも関与していることが明らかになった。一方で、

CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスにおいて、運動による糖代謝改善作用が認められない理由として、PGC-1 α を含むミトコンドリア関連遺伝子が関与している可能性は低いことも明らかになった。

4. マイオカインの可能性が高く、代謝と関連する可能性が指摘されている Exercise-induced protein derived from muscle 1 (EXPM1) について検討した。EXPM1 の骨格筋における発現を検討したところ、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでは野生型マウスと比較し、発現が低下していた。また、野生型マウスでは運動により骨格筋での EXPM1 の発現は増加したが、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでは、運動による EXPM1 の発現上昇は認められなかった。EXPM1 の組織での発現量を検討した結果、EXPM1 遺伝子は特に骨格筋に多く発現していることが明らかになった。また、C2C12 骨格筋細胞を用いて、分化前と分化誘導後の EXPM1 の発現量の変化を調べたところ、EXPM1 は骨格筋細胞の分化に伴い、発現量が増加した。

5. EXPM1 が糖新生関連遺伝子の発現を抑制するかどうかについて、ラット肝癌細胞 Fao 細胞を用いて検討したところ、EXPM1 により糖新生関連酵素の発現が抑制され、骨格筋より分泌される EXPM1 が、肝臓における糖新生を抑制する可能性が示唆された。

6. トレッドミル運動を行った野生型マウスおよび CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスを用いて、糖新生関連遺伝子発現について検討したところ、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでは糖新生関連遺伝子の発現が増加していた。さらに、野生型マウスでは運動により肝臓における糖新生関連遺伝子の発現が低下していたが、CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスでは運動によるこれら遺伝子発現の抑制効果は認められなかった。

7. 野生型マウスと比較して、高脂肪食負荷マウス、肥満・2型糖尿病モデルマウスの骨格筋では、EXPM1 の発現が低下した。肥満・2型糖尿病におけるインスリン抵抗性惹起メカニズムの一部に骨格筋における EXPM1 の発現低下が関与している可能性が示唆された。高脂肪食負荷マウスにトレッドミル運動を行ったところ、摂餌量および体重に有意な差は認められなかったが、運動群においては骨格筋における EXPM1 の発現量は増加し、肝臓における糖新生関連遺伝子の発現低下が認められ、個体レベルでの血糖値の低下が認められた。

以上、本論文は、運動による糖代謝改善メカニズムの一部に CaMKKs が重要な役割を担っていることを明らかにした。さらに CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスを用いた実験により、運動による糖代謝改善メカニズムの一部に EXPM1 が関与している可能性が明らかになった。CaMKK α ・CaMKK β ダブル欠損マウスの骨格筋では運動による EXPM1 発現増加が認められなかったことより、EXPM1 の発現増加には CaMKKs を介したカルシウムシグナルが重要であることが分かった。本研究は運動による糖代謝改善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。