

食生活の変化に伴う細胞代謝変化が加齢現象に与える影響の解明

宮 下 和 季

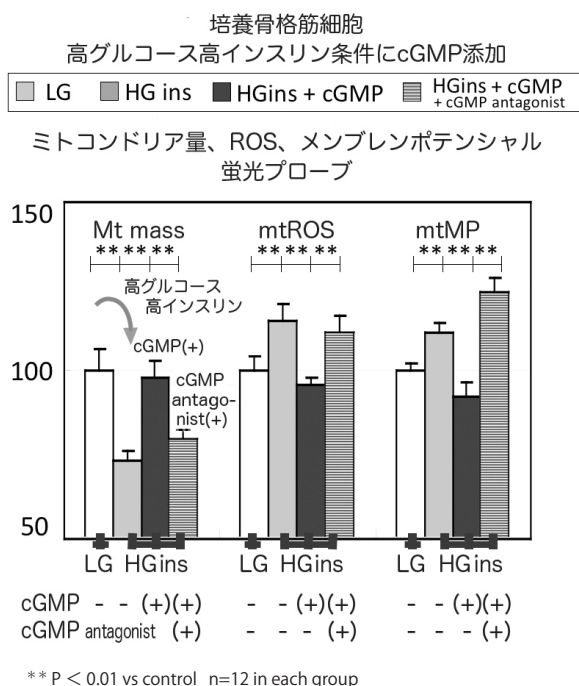
慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 特別研究講師

緒 言

ミトコンドリアは細胞代謝の主座であり、代謝性疾患や加齢性疾患の発症においても中心的役割を担う。肥満患者において骨格筋ミトコンドリア量の減少が報告されており、ミトコンドリアの減少の結果、基礎代謝が低下して摂食量に見合うだけのエネルギー代謝が行われなくなることが、肥満の根本原因である可能性が指摘されている。2型糖尿病患者骨格筋においてもミトコンドリア量の減少と ATP 産生の低下が示されており、インスリン抵抗性の出現にミトコンドリア機能不全が関与することが示唆されている。また加齢に伴うミトコンドリア量の減少に伴い、ミトコンドリア機能不全が進行することが知られている。しかしながら食生活の変化がミトコン

ドリアに与える影響はこれまで十分検討されていない。

そこで本研究では現代の過栄養食を模倣する細胞モデルならびに動物モデルにおけるミトコンドリア機能を評価した。また細胞代謝を含めた生体の恒常性維持に寄与する内分泌因子が食生活の変化に伴う細胞代謝変化に拮抗する可能性を検討した。また我々は血管作動性ホルモン、特に血管拡張ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド (NP; ANP、BNP、CNP) の動脈硬化性疾患 (脳血管障害、虚血性心疾患、閉塞性動脈硬化症など) における意義に注目して研究を続けている。その延長線上で本研究では、ナトリウム利尿ペプチド (NP) /cGMP/cGMP/cGMP 依存性蛋白キナーゼ (cGK) の細胞代謝における作用に焦点を絞り検討した。



HG ins : High Glucose (450mg/dl) + insulin (100ng/ml)
cG: cGMP (8-pCPT-cGMP)
Rp : cGMP antagonist (Rp-8-pCPT-cGMP)

ミトコンドリア機能に関する分子
ウェスタンブロッティング

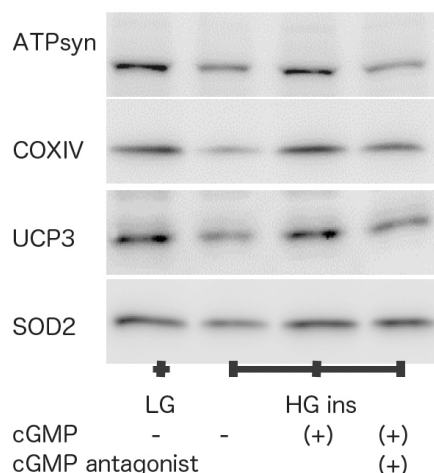


図1 高グルコース高インスリンによるミトコンドリア機能障害と cGMP による改善
過栄養を模倣する高グルコース高インスリン条件下でミトコンドリア量は減少し、ROS 産生は増加したが、cGMP の添加によりミトコンドリア量が回復し ROS 産生が減少した。

実験方法

培養骨格筋細胞 C2C12 にインスリンとグルコースを負荷して 48 時間後にミトコンドリア量、ミトコンドリア ROS 産生、ATP 産生を定量した。NP のセカンドメッセンジャーである cGMP を添加し、ミトコンドリア制御に関与する遺伝子群の発現変化を評価した。マウスを高脂肪食にて飼育し、過栄養に伴うミトコンドリア機能変化とエネルギー代謝や耐糖能を評価した。BNP を肝臓で過剰発現し、血中濃度が生理的状態の数百倍になる BNP-Tg マウスならびに、NP の細胞内シグナル伝達分子である cGMP 依存性蛋白キナーゼ (cGK) を全身で過剰発現する cGK-Tg マウスを用いて、NP/cGMP/cGK カスケードが高脂肪食に伴うミトコンドリア変化に拮抗する作用を検討した。

結 果

培養骨格筋細胞への cGMP 添加により、ミトコンドリア量と ATP 産生が増加し、その一方でミトコンドリア ROS 産生は減少した。過栄養を模倣する高グルコース高インスリン条件下でミトコンドリア量は減少し、

ROS 産生は増加したが、cGMP の添加によりミトコンドリア制御に関与する PGC1 α 、ATP synthase、UCP2、SOD2 の発現が増加してミトコンドリア量が回復し ROS 産生が減少した (図 1) ¹⁾。

呼吸ガス分析で評価した体重当たりの酸素消費量は高脂肪食負荷マウスにおいて有意に低下した。ミトコンドリア DNA コピー数で評価したミトコンドリア量は高脂肪食負荷マウス骨格筋において若干低下していた。一方ミトコンドリア生合成を促進する因子である PGC1 α は高脂肪食負荷マウス骨格筋において若干増加した。8 週間の高脂肪食負荷後、BNP-Tg マウスの体重は Wt と比較して有意に減少していた (18 週齢 Wt 43.0 ± 0.9 g, BNP-Tg 38.9 ± 0.9 g; $P < 0.01$)。高脂肪食負荷に伴う脂肪肝と耐糖能悪化は、BNP-Tg マウスで有意に抑制された。高脂肪食負荷 BNP-Tg マウスは野生型マウスと比較して骨格筋ミトコンドリア量が増加し、酸素消費量が有意に増加していた。

cGK-Tg マウスは摂餌量が減少しないにもかかわらず標準食下において体重が減少し、耐糖能良好であった(図2)。呼気ガス分析では、cGK-Tg マウスにおいて酸素消

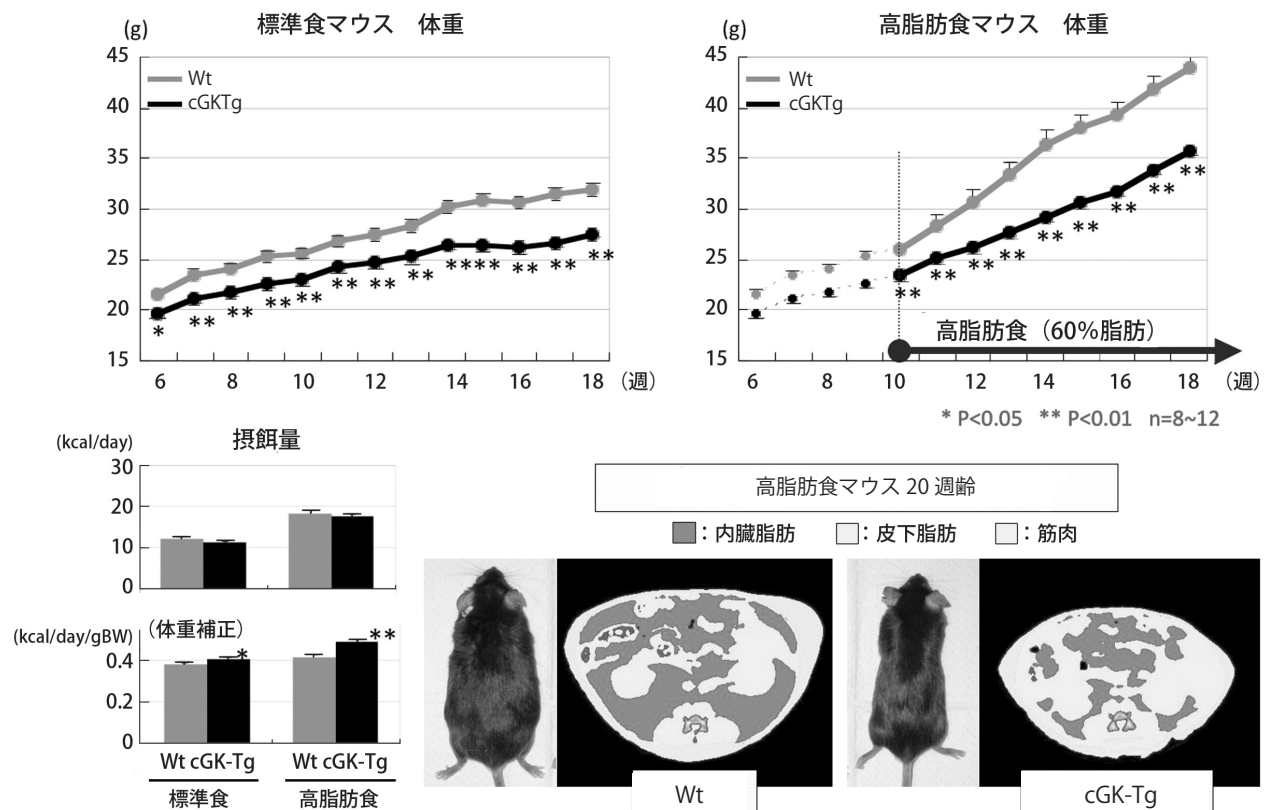


図2 cGK-Tg マウスにおける体重増加の顕著な抑制
cGK-Tg マウスは摂餌量が減少しないにもかかわらず標準食下において体重が減少した。

費と脂質燃焼の亢進を認めた。cGK-Tg マウス骨格筋においては、ミトコンドリア合成と脂質燃焼に関与する分子である PGC1 α 、PPAR δ の発現が増加していた。電子顕微鏡を用いた観察では、cGK-Tg マウス骨格筋において、巨大なミトコンドリアを高密度で認めた (図3) ²⁾。

高脂肪食負荷により、野生型マウス骨格筋において NP レセプターである GCA, GCB の発現は低下し、高脂肪食負荷 GCA+/- マウスは野生型マウスよりも体重が有意に増加した。

考 察

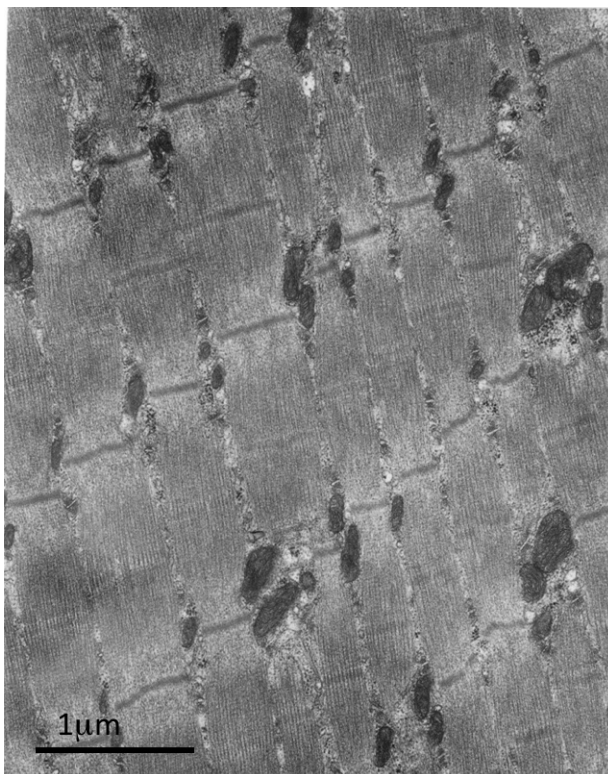
NP/cGMP/cGK カスケードは骨格筋ミトコンドリア合成を増加させ、脂質燃焼を亢進させることで、過栄養に拮抗する細胞代謝変化をもたらすと考えられた。血管拡張ホルモンである NP がミトコンドリアを介して細胞代謝を制御することにより、代謝疾患や加齢現象の発症に関与する可能性が示唆された。

要 約

細胞ミトコンドリアの量的減少ないしは機能低下に伴う細胞代謝の変化が、代謝疾患と加齢現象の基盤メカニズムを担う可能性が注目されている。そこで本研究では現代の過栄養食を模倣する細胞モデルならびに動物モデルにおけるミトコンドリア機能を評価した。また血管拡張ホルモンである NP/cGMP/cGK カスケードの細胞代謝に与える作用を検討した。

過栄養を模倣する高グルコース高インスリン条件下で骨格筋細胞を培養するとミトコンドリア量は減少し ROS 産生は増加した。その状態で cGMP を添加することによりミトコンドリア制御に関与する PGC1 α 、ATP synthase、UCP2、SOD2 の発現が増加してミトコンドリア量が回復し ROS 産生が減少した。高脂肪食負荷 BNP-Tg マウスは野生型マウスと比較して骨格筋ミトコンドリア量が増加し、酸素消費量が有意に増加していた。cGK-Tg マウスは標準食下においても体重が減少し、耐糖能良好であった。呼気ガス分析では、cGK-Tg マウス

大腿直筋電顕像 (× 10000)



Wt



cGK-Tg

図3 cGK-Tg マウスにおける骨格筋ミトコンドリアの増加

電子顕微鏡を用いた観察では、cGK-Tg マウス骨格筋において、巨大なミトコンドリアを高密度で認めた。

において酸素消費と脂質燃焼の亢進を認めた。cGK-Tg マウス骨格筋においては、ミトコンドリア生合成と脂質燃焼に関与する分子である PGC1 α 、PPAR δ の発現が増加していた。

これらの検討より血管拡張ホルモンである NP がミトコンドリアを介して細胞代謝を制御することにより過栄養に拮抗する作用をもたらし、代謝疾患や加齢現象の発症に関与する可能性が示唆された。

謝 辞

本研究にご支援賜りました財団法人三島海雲記念財団に限りなき感謝を申し上げます。研究遂行に多大なるご助言を頂いた、慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

教授 伊藤裕先生に深く感謝を申し上げます。加えまして研究をサポートしてくださいました慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科三石正憲先生、村木絢子先生、入江潤一郎先生、中江淳先生、渡辺光博先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Mitsuishi M et al. cGMP rescues mitochondrial dysfunction induced by glucose and insulin in myocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* (2008) 367:840-845.
- 2) Miyashita K et al. Natriuretic peptides/ cGMP/ cGMP dependent-protein kinase cascades promote muscle mitochondrial biogenesis and prevent obesity. *Diabetes.* (2009) 58:2880-2892.