

## 運動は骨格筋前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化を誘導するか： 肥満予防・治療への応用

小笠原 準 悦<sup>1</sup> 櫻井 拓也<sup>1</sup> 木崎 節子<sup>1</sup> 大野 秀樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>杏林大学医学部衛生学公衆衛生学教室

### 【背景と目的】

褐色脂肪細胞は熱転換によりエネルギー消費を行うが、胎児や新生児のみに観察されると考えられてきた褐色脂肪細胞は成人にも多く存在し、エネルギー代謝の調節に深く関与することが明らかとなり、褐色脂肪細胞の機能充進を介した新たな抗肥満療法の確立が期待されている。これまで、前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化機構についてはまったくわかっていなかったが、最近になり、*myf5*を発現する骨格筋前駆細胞では転写調節因子であるPRDM16、PPAR $\gamma$ およびC/EBP- $\beta$ 分子を中心としたメカニズムによって褐色脂肪細胞の形成が制御されることがわかってきた(図1)。

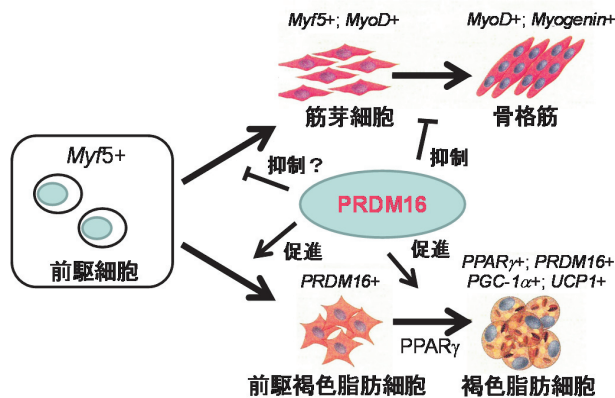


図1 骨格筋前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化過程の模式図  
PRDM16はPPAR $\gamma$ と共役して*myf5*を発現する骨格筋前駆細胞の褐色脂肪細胞化を誘導する。

しかし、こうした先行研究では、細胞株にいくつかの転写因子群を強制発現させることにより褐色脂肪細胞への分化を観察している。遺伝子治療が確立されていない

現在において、臨床的な応用を考えた場合には遺伝子操作を用いた抗肥満療法は現実的ではなかろう。興味深いことに、身体運動は非侵襲的に遺伝子の発現やタンパク質の機能変化などを介して細胞の応答性を変化させる特徴を持つ。事実、我々は、褐色脂肪細胞化に中心的な役割を果たすPPAR $\gamma$ の転写調節作用は、身体運動によって著しく変化することを報告している。身体運動は、薬物治療による副作用を憂慮することなく特別な装置を必要とせず手軽に行える。しかしながら、褐色脂肪細胞の分化機構へ及ぼす身体運動の効果についてはまったくわかっていない。本研究では、骨格筋前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化機構に及ぼす身体運動の効果について、背景となる現象の検討を中心に精査することを目的とした。

### 【方法】

C57BL/6Jマウスを無作為に以下の3群に分類した:1) コントロール群(25 $^{\circ}$ C, 非運動処置), 2) 寒冷曝露群(24時間4 $^{\circ}$ C曝露), 3) 水泳運動群(水温35 $^{\circ}$ C, 60分間)。寒冷曝露は褐色脂肪細胞機能を充進させる。そのため、ポジティブコントロールとして使用した。各群より、腓腹筋, ヒラメ筋, 前脛骨筋, 肩甲骨周囲骨格筋, 直腹筋, 広背筋の骨格筋組織を摘出しTotal RNAを調製後, RT-PCRやDNAアレイ解析に用いた。加えて, 各骨格筋組織よりライセートを調製し, タンパク質解析に用いた。

### 【結果】

褐色脂肪細胞のマーカーであるUCP-1 mRNAは、肩甲骨周囲骨格筋のみに発現し、コントロール群と比べて水泳運動群および寒冷曝露群では発現が著しく増加した。そこで、この変化に着眼し他の褐色脂肪細胞マ-

カーの発現について検討したところ、CideaとElovl3のmRNAの発現はUCP-1mRNA発現と同様に増加した。最近になり褐色脂肪細胞新たなマーカー分子としてZic-1が同定されている。Zic-1 mRNAの発現は、上記と同様の結果を示した(図2)。一過性の水泳運動は、肩甲骨周囲骨格筋内に発現する前駆細胞の褐色脂肪細胞化を促すことが明らかとなった。

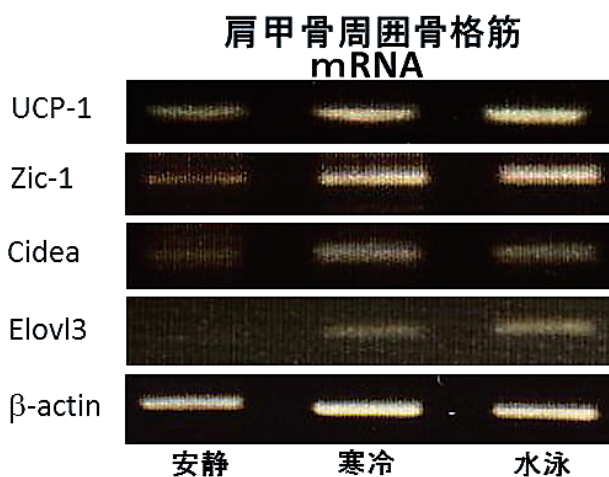


図2 肩甲骨周囲骨格筋における水泳運動による褐色脂肪細胞マーカーの発現変化  
水泳運動(寒冷曝露)により、肩甲骨周囲骨格筋における各種褐色脂肪細胞マーカー分子の発現は促進する。

PRDM16による褐色脂肪細胞の形成過程では、PPAR $\gamma$ 、C/EBP- $\beta$ とPRDM16との複合体がスイッチのon/off作用を制御する。そこで、肩甲骨周囲骨格筋におけるこれらの分子の発現について検討したところ、コントロール群と比べて水泳運動群と寒冷曝露群ではPPAR $\gamma$ とC/EBP- $\beta$ mRNA発現は顕著に増加し、この状況下では、PRDM16のスイッチング作用を動員するPRDM16タンパク質とC/EBP- $\beta$ タンパク質の複合体の形成も著しく増加することが明らかとなった。

上記の現象のメカニズムの一端を探るために、肩甲骨周囲骨格筋を試料としてDNAアレイ解析を行った。多くの分子が変化の中で、BMP7(born morphologic protein 7)の変化が著しいことを見出した。実際、ごく最近になり、骨格筋細胞株にある条件を設定しBMP7を添加すると褐色脂肪細胞様な細胞に分化することが報告されている。そこで、BMP7発現量について検討したところ、コントロール群と比べて水泳運動群と寒冷曝露群では肩甲骨周囲骨格筋内における内在型BMP7の発現量は有意に低下するが、血中分泌型BMP7量は有意に増加することが明らかとなった。一方、筋収縮によりリン酸化の亢進するp38MAPKタンパク質のリン酸化は、コントロール群と比べてむしろ水泳運動群で低下した。水泳運動によるBMP7の変化は、骨格筋収縮とは別の経路によって調節されるものと推察される。

### 【考 察】

急性の水泳運動は、少なくとも肩甲骨周囲骨格筋において、PRDM16とその補助因子によるスイッチング作用を正に調節し褐色脂肪細胞化シグナルを促進させることが示唆された。しかし、こうした変化がなぜ肩甲骨周囲骨格筋にのみ特異的に惹起されるかについてはよくわかっておらず、現在検討を進めている。加えて、DNAアレイ解析の結果より、寒冷曝露群と対峙して水泳運動特異的に変化する分子の存在も明らかとなった。こうした分子の一部が水泳運動によるBMP7の変化を修飾しているのかもしれない。今後の更なる検討が必要である。

### List of publications

- Ogasawara J, Ito T, Wakame K, Kitadate K, Sakurai T, Sato S, Ishibashi Y, Izawa T, Takahashi K, Ishida H, Takabatake I, Kizaki T & Ohno H: ETAS, an enzyme-treated asparagus extract, attenuates amyloid  $\beta$ -induced cellular disorder in PC12 cells. *Nat Prod Commun* 9: 561-564, 2014.
- Haga S, Sakurai T, Sato S, Sasahara M, Aita F, Esaki K, Toshinai K, Ueya E, Hashimoto N, Ogasawara J, Kizaki T, Yoshinaga I, Sakurai T, Oh-ishi S, Ohno H & Takakuwa E: The effects of long-term exercise on cerebral function and the maintenance of concentration in the elderly. *J Exer Sports Orthop* 1: 6-11, 2014.
- Sato S, Sakurai T, Ogasawara J, Takahashi M, Izawa T, Imaizumi K, Taniguchi N, Ohno H & Kizaki T: A circadian clock gene, Rev-erb $\alpha$ , modulates the inflammatory function of macrophages through the negative regulation of Ccl2 expression. *J Immunol* 192: 407-417, 2014.
- Sakurai T, Ito T, Wakame K, Kitadate K, Arai T, Ogasawara J, Kizaki T, Sato S, Ishibashi Y, Fujiwara T, Akagawa K, Ishida H & Ohno H: Enzyme-treated Asparagus officinalis extract shows neuroprotective effects and attenuates cognitive impairment in senescence-accelerated mice. *Nat Prod Commun* 9: 101-106, 2014.
- Sakurai T, Kitadate K, Nishioka H, Fujii H, Ogasawara J, Kizaki T, Sato S, Fujiwara T, Akagawa K, Izawa T & Ohno H: Oligomerised lychee fruit-derived polyphenol attenuates cognitive impairment in senescence-accelerated mice and endoplasmic reticulum stress in neuronal cells. *Br J Nutr* 110: 1549-1558, 2013.
- Haga S, Kizaki T, Sato S, Takemasa T, Ezaki K, Ueya K, Aita F, Hashimoto N, Ogasawara J, Sakurai T, Hamaoka T, Katsumura T, Sakurai T & Ohno H: Skeletal muscle oxygenation during the nagewaza kakari exercise in Judo. *Sport Sci Res* 10: 233-241, 2013.
- Sakurai T, Ogasawara J, Kizaki T, Sato S, Ishibashi Y, Takahashi M, Kobayashi O, Oh-Ishi S, Nagasawa J, Takahashi K, Ishida H, Izawa T & Ohno H: The Effects of Exercise Training on Obesity- Induced Dysregulated Expression of Adipokines in White Adipose Tissue. *Int J Endocrinol* 2013: 801743, 2013.
- Aita F, Haga S, Sato S, Sakurai T, Esaki K, Hamaoka T, Mizuno M, Toshinai K, Miyazaki H, Takamasa T, Hashimoto N, Ogasawara J, Katsumura T, Kizaki T & Ohno H: Effects of resistance exercise on intramuscular oxygenation and muscle

fiber composition. J Sports Med Doping Stud 3: 3-9, 2013.

#### 講演記録

1. 小笠原準悦, 櫻井拓也, 石橋義永, 木崎節子, 白土 健, 今泉和彦, 井澤鉄也, 大野秀樹: 運動と脂肪細胞の働き。第160回日本体力医学会関東地方会, 調布, 2014年3月8日。
2. 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木本紀代子, 木崎節子, 高橋和人, 住谷由計, 石田 均, 大野秀樹: 運動は骨格筋前駆細胞から褐色脂肪細胞への分化を誘導するか: 肥満予防・治療への応用。第42回杏林医学会総会, 三鷹, 2013年11月16日。
3. 長澤純一, 野口いづみ, 笹尾真美, 佐藤章悟, 小笠原準悦, 櫻井拓也, 石橋義永, 木崎節子, 芳賀脩光, 大野秀樹: 登山時の低酸素ストレス応答。第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月22日。
4. 佐藤章悟, 木崎節子, 櫻井拓也, 小笠原準悦, 石橋義永, 長澤純一, 桜井智野風, 井澤鉄也, 今泉和彦, 芳賀脩光, 大野秀樹: 時計遺伝子 Rev-erba は MCP1 遺伝子の発現を抑制しマクロファージ免疫機能を制御する。第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月21日。
5. 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木崎節子, 佐藤章悟, 石橋義永, 井澤鉄也, 宮崎裕美, 斎藤大蔵, 十枝内厚次, 大石修司, 芳賀脩光, 大野秀樹: 水泳運動は前駆細胞からの褐色脂肪細胞化を促す。第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月21日。
6. 加藤久詞, 増田慎也, 高倉久志, 佐藤章悟, 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木崎節子, 桜井智野風, 大野秀樹, 井澤鉄也: 脂肪組織および骨格筋組織における時計遺伝子と脂質代謝関連遺伝子の関連性。第68回日本体力医学会大会, 東京, 2013年9月21日。
7. Nagasawa J, Noguchi I, Sasao M, Sato S, Sakurai T, Ogasawara J, Ishibashi Y, Kizaki T & Ohno H: Effect of frequent antioxidant supplementation on oxidative stress when climbing Mt Fuji. 21st International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Jul 28, 2013.
8. Ogasawara J, Ito T, Takanari J, Sakurai T, Kizaki T, Sato S, Ishibashi Y, Nagasawa J, Saito D, Nakano N, Izawa T & Ohno H: Inhibitory effect of ETAS against amyloid beta-induced cellular disorder in PC12 cells. 21st International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Jul 27, 2013.
9. 櫻井拓也, 小笠原準悦, 木崎節子, 長澤純一, 芳賀脩光, 大野秀樹: 運動は肥満による脂肪組織の線維化関連因子の発現増加を減弱させる。第21回日本運動生理学会大会, 川越, 2013年7月27日。
10. 小笠原準悦, 櫻井拓也, 佐藤章悟, 石橋義永, 長澤純一, 大石修司, 芳賀脩光, 井澤鉄也, 木崎節子, 大野秀樹: 持久性走トレニングによる白色脂肪細胞の脂肪分解反応の亢進には ATGL の発現変化が関与する。第158回日本体力医学会関東地方会, 新座, 2013年7月13日。
11. 小笠原準悦, 櫻井拓也, 木崎節子, 佐藤章悟, 石橋義永, 井澤鉄也, 斎藤大蔵, 大石修司, 芳賀脩光, 大野秀樹: 水泳運動により誘導される肩甲骨周囲骨格筋群の褐色脂肪細胞化の検討。第83回日本衛生学会学術総会, 金沢, 2013年3月25日。
12. 櫻井拓也, 北館健太郎, 西岡 浩, 若命浩二, 藤井 創, 小笠原準悦, 木崎節子, 藤原智徳, 赤川公朗, 大野秀樹: 酸化処理アスバラガス抽出物は神経細胞において抗ストレス作用をもつ。第83回日本衛生学会学術総会, 金沢, 2013年3月25日。