

Nara Women's University

【内容の要旨及び審査の結果の要旨】 Protective effects of estrogen replacement on glucose metabolism via insulin-signaling pathway and the complementary effect of endurance running exercise in postmenopausal model rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-05-23 キーワード (Ja): インスリン, エストロゲン, 糖代謝障害, 閉経モデルラット キーワード (En): 作成者: 河上,瑞穂 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10935/5271

(別紙1)

論文の内容の要旨

氏名	河上 瑞穂		
論文題目	(外国語の場合は、日本語で訳文を()を付して記入すること。) Protective effects of estrogen replacement on glucose metabolism via insulin-signaling pathway and the complementary effect of endurance running exercise in postmenopausal model rats. (閉経モデルラットに対するエストロゲン補充のインスリン情報伝達系を介した糖代謝保護作用と持久走運動の補完的作用の解明)		
審査委員	区分	職名	氏名
	委員長		印
	委員		印
内容の要旨			
<p>女性では閉経後に糖・脂質代謝異常が起こりやすく、メタボリックシンドロームや脂質異常症の罹患率が上昇することが疫学的に実証されている。閉経後の卵巣機能の低下は、これら疾患のリスクファクターであると考えられるが、その詳細については不明な点も多い。そこで、本研究では、女性ホルモンであるエストロゲン (E₂) が閉経後の糖・脂質代謝に与える影響を明らかにするため、雌性ラットを用い、インスリン感受性とインスリン依存性および非依存性シグナル伝達における E₂ 補充の作用について検討した。さらに、閉経後の糖代謝障害における E₂ 補充の補完的アプローチとして持久走運動トレーニングの効果について検討を加えた。また、骨格筋・脂肪組織の脂質代謝に与える E₂ 補充の作用についても検討した。本研究では、卵巣摘出による閉経モデルラットを作成し、その4週間後に E₂ 作用の主体となる 17β-Estradiol 補充を行った E₂ 群と、偽薬を補充したプラセボ (Pla) 群の2群を用いて実験を行った。</p> <p>第1章では、閉経モデルラットに対する E₂ 補充がインスリン感受性に与える影響を検討した。17週齢で高インスリン正常血糖クランプ法および経静脈糖負荷試験を実施し、全身のインスリン感受性の指標としてグルコース注入速度、グルコース・インスリン指数を測定した。その結果、Pla 群に比べ E₂ 群でインスリン感受性が高いことを見出した。さらに、<i>in vivo</i> にて肝門脈インスリン投与後に摘出した腓腹筋では、インスリンシグナル経路におけるプロテインキナーゼ B (Akt) のサブタイプである Akt2 のリン酸化が E₂ 群では Pla 群よりも亢進していた。さらに、その下流に存在する分子量 160 kDa の Akt 基質 (AS160) のインスリンによるリン酸化は E₂ 群のみで観察された。また、AS160 タンパク質と mRNA レベルは、E₂ 群の腓腹筋では Pla 群よりも高値であった。これらの結果から、E₂ 補充は、卵巣摘出ラットの腓腹筋において Akt2/AS160 経路を活性化することによりインスリン感受性を改善することが示された。</p>			

第2章では、閉経モデルラットを用いて、持久走運動トレーニングの高血糖改善効果、および腓腹筋・腸間膜脂肪組織のグルコース取り込み関連シグナル分子への影響について検討を加えた。さらに、E₂補充群のラットと摂食量を同一にした Pair-feeding (PF) の作用との比較も行った。実験ではE₂群に加えて、Pla群、E₂群とのPF (Pla/PF) 群、Exercise(Pla/Ex)群の4群に分け、Pla/Ex群はトレッドミル走(17m/分、60分/日、5日/週)を5週間実施した。その結果、Pla/Ex群では、Pla群に比べ膵径部皮下組織が少なく、血漿グルコース濃度およびインスリン抵抗性の指標であるHOMA-IRが低かった。一方、E₂群・Pla/PF群では、Pla/Ex群の変化に加え、体重、内臓脂肪組織重量の低下が見られた。加えて、Ex群では、インスリン非依存性経路のAMP活性化タンパク質キナーゼ(AMPK)の下流にあるTBC1D1のリン酸化およびグルコース輸送担体4(GLUT4)のタンパク質がPla群より増加した。一方、E₂群では、Pla群に比べ、腓腹筋におけるAktおよびAkt2のリン酸化が亢進し、AS160タンパク質および遺伝子発現が増加した。また、Pla/PF群でもE₂群と同様に腓腹筋におけるAktおよびAkt2のリン酸化の亢進が見られた。したがって、閉経モデルラットに対するE₂補充が安静レベルの腓腹筋においてAkt2/AS160経路を活性化し、腸間膜脂肪組織においてもAS160を増加させることにより糖取り込みを改善させるのに対して、持久的走運動トレーニングは腓腹筋におけるGLUT4の増加やTBC1D1リン酸化の促進を介して血糖値を低下させる可能性が示された。

第3章では閉経モデルラットの腓腹筋および腸間膜脂肪組織における脂質代謝関連タンパク質におけるE₂補充の影響と持久走運動トレーニングの補完効果について検討した。なお、E₂補充群のラットと摂食量を同一にしたPFの作用との比較も行った。その結果、腓腹筋・腸間膜脂肪組織のアセチルCoAカルボキシラーゼ(ACC)およびカルニチンパルミトイル転移酵素(CPT1-M)はE₂補充で影響を受けず、持久走運動トレーニングでも同様であった。一方、PFによる摂食制限ではE₂補充に比べ腓腹筋の脂肪酸合成酵素(FAS)が増加することが判明した。

以上まとめると、閉経モデルラットにおいて、E₂補充は安静時およびインスリン刺激時に腓腹筋のインスリンシグナル伝達におけるAkt2/AS160経路を活性化することにより全身のインスリン感受性を亢進させることを見出した。また、閉経モデルラットにおける持久的走運動トレーニングは腓腹筋におけるTBC1D1/GLUT4経路を活性化することにより高血糖を改善する作用があることを明らかにし、E₂補充の代替・補完的アプローチとなり得ることを実証した。また、卵巣摘出ラットへのE₂補充および運動トレーニングは脂肪酸合成・β酸化関連タンパク質には影響を与えないことが示唆された。

本論文は閉経モデルラットに対するエストロゲン補充における糖代謝改善作用およびそのメカニズムを解明しただけでなく、エストロゲン補充の代替・補完的アプローチとしての持久走運動トレーニングの有用性とその学術的根拠に関して、新たな知見を付け加えた。

(別紙2)

論文審査の結果の要旨

氏名	河上 瑞穂		
論文題目	(外国語の場合は、日本語で訳文を()を付して記入すること。) Protective effects of estrogen replacement on glucose metabolism via insulin-signaling pathway and the complementary effect of endurance running exercise in postmenopausal model rats. (閉経モデルラットに対するエストロゲン補充のインスリン情報伝達系を介した糖代謝保護作用と持久走運動の補完的作用の解明) 介した糖代謝保護作用と持久走運動の補完的作用の解明)		
審査委員	区分	職名	氏名
	委員長		印
	委員		印
要旨			
<p>女性では閉経後に糖・脂質代謝異常が起りやすく、メタボリックシンドロームや脂質異常症の罹患率が上昇することが疫学的に実証されている。閉経後の卵巣機能の低下は、これら疾患のリスクファクターであると考えられるが、その詳細については不明な点も多い。そこで、本研究では女性ホルモンであるエストロゲン (E₂) が閉経後の糖代謝に与える影響を明らかにするため、卵巣摘出ラットへのE₂補充がインスリン依存性および非依存性の糖代謝に与える影響について検討している。さらに、閉経後のE₂欠乏による糖代謝障害においてE₂補充の代替・補完的アプローチとしての運動トレーニングの効果について検討を加えている。また、骨格筋・脂肪組織の脂質代謝に与えるE₂補充および運動トレーニングの作用についても検討している。なお、本研究では、卵巣摘出による閉経モデルラットに対して4週間後にE₂作用の主体となる17β-Estradiol補充を行ったE₂群と、偽薬(プラセボ)を補充したPla群の2群を作成し、両群を比較することによってエストロゲン補充の作用を検討している。本論文は3章からなる。</p> <p>第1章では、閉経モデルラットにおけるE₂補充がインスリン感受性に与える影響を検討している。実験は17週齢のPla群とE₂群を用い、無拘束・自由行動下での経静脈糖負荷試験、麻酔下での高インスリン正常血糖クランプ法を実施し、全身のインスリン感受性の指標としてグルコース注入速度、グルコース・インスリン指数を測定している。その結果、Pla群に比べE₂群でインスリン感受性が高いことを見出した。さらに、<i>in vivo</i>にて肝門脈内インスリン投与後に摘出した腓腹筋では、インスリンシグナル経路におけるプロテインキナーゼB (Akt) のサブタイプであるAkt2のリン酸化がE₂群ではPla群よりも亢進していた。さらに、その下流にある分子量160 kDaのAkt基質(AS160)のインスリンによるリン酸化はE₂群のみで確認できた。また、腓</p>			

腹筋の AS160 タンパク質と mRNA レベルは、E₂ 群では Pla 群よりも高値であることを見出した。これらの結果から、E₂ 補充は、卵巣摘出ラットの腓腹筋において Akt2/AS160 経路を活性化することによりインスリン感受性を改善することが明らかとなり、本知見はこれまでに報告のなかった新たなもので学術的価値が高いと言える。また、本研究は生体での生理実験から摘出サンプルの標的遺伝子発現解析までの幅広い方法を使って結果を導き出しており信頼性が高い。

第 2 章では、閉経モデルラットを用いて、持久的走運動トレーニングが E₂ 補充と同等に糖代謝改善効果をもつ可能性を検証し、そのメカニズムの差異を調べたものである。同時に E₂ 補充群のラットと摂食量を同一にした Pair-feeding (PF) の作用との比較も行った研究であり、E₂ の摂食抑制作用を除外した代謝改善作用を検証している。実験では E₂ 群に加えて、Pla 群、E₂ 群との PF (Pla/PF) 群、Exercise(Pla/Ex)群の 4 群に分けている。Pla/Ex 群はトレッドミル走 (17m/分、60 分/日、5 日/週) を 5 週間実施している。その結果、Pla/Ex 群では、Pla 群に比べ肩胛部皮下組織が少なく、血漿グルコース濃度およびインスリン抵抗性の指標 (HOMA-IR) が低くなることを確かめた。加えて、Pla/Ex 群では、インスリン非依存性経路の AMP 活性化タンパク質キナーゼ (AMPK) の下流にある TBC1D1 のリン酸化およびグルコース輸送担体 4 (GLUT4) のタンパク質レベルが Pla 群より増加したことを見出した。一方、E₂ 群では、Pla 群に比べ、腓腹筋における Akt および Akt2 のリン酸化が亢進し、AS160 タンパク質および mRNA レベルが増加することを確認した。したがって、閉経モデルラットに対する E₂ 補充が安静レベルの腓腹筋において Akt2/AS160 経路を活性化し、腸間膜脂肪組織においても AS160 を増加させるのに対して、持久的走運動トレーニングは腓腹筋における GLUT4 の増加や TBC1D1 リン酸化の促進を介して血糖値を低下させることを結論づけている。このような知見はこれまでに報告がなく、重要な結果と言える。

第 3 章では閉経モデルラットの腓腹筋および腸間膜脂肪組織における脂質代謝関連タンパク質における E₂ 補充の影響と持久走運動トレーニングの補完効果について検討したものである。なお、第 2 章と同様、PF との比較も行っている。その結果、腓腹筋・腸間膜脂肪組織のアセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) およびカルニチンパルミトイル転移酵素 (CPT1-M) は E₂ 補充で影響を受けず、持久走運動でも同様であることが分かった。一方、PF による摂食制限では E₂ 補充に比べ腓腹筋の脂肪酸合成酵素 (FAS) が増加することを見出した。

以上より、本研究は閉経モデルラットへの E₂ 補充は安静時およびインスリン刺激時に腓腹筋のインスリンシグナル伝達における Akt2/AS160 経路を活性化することにより全身のインスリン感受性を亢進させることを明らかにしている。また、持久的走運動トレーニングは E₂ 補充とは異なり、骨格筋における TBC1D1/GLUT4 経路を活性化することによって高血糖を改善する作用があることを解明し、E₂ 補充の代替・補完的アプローチとなり得ると提案するものである。すなわち本研究結果は、女性における閉経後の糖代謝異常発症リスクの軽減において有用な基礎データを提供できると考えられ、女性のホルモン環境を考慮した健康増進への貢献が期待できる。

(論文発表状況)

本論文の第 1 章は、生理学分野において国際的に高い評価を受けている米国生理学会の学術誌、*American Journal of Physiology –Endocrinology and Metabolism* (査読有) に原著論文 (筆頭著者) として掲載されている (2018 年 12 月)。また、第 2 章は *The Journal of Physiological Sciences* に原著論文 (筆頭著者) として投稿中である。なお、第 3 章についても投稿準備中である。

よって、本学位申請論文は、奈良女子大学博士 (生活環境学) の学位を授与されるに十分な内容を有していると判断した。