

論文内容の要旨

Low-protein diet enhances adiponectin secretion in rats.

ラットにおいて低タンパク食給餌はアディポネクチン分泌を促進する

日本医科大学大学院医学研究科 生体機能制御学分野

研究生 八木孝

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry (2019年掲載予定)

【背景】

食餌から摂取するタンパク質の量の違いは生体にさまざまな変化を引き起こす。糖・脂質代謝においてはタンパク質栄養状態の悪化したラットにおいてインスリン感受性の亢進による耐糖能改善が報告されている。我々はこれまで低タンパク食給餌ラットにおいてインスリン標的臓器である肝臓や筋肉でインスリンシグナルが増強していることを報告してきた。一方、アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるホルモンであり糖・脂質代謝を制御しインスリン感受性を亢進させる作用が知られており、インスリン抵抗性に対する治療標的として注目されているがその分泌メカニズムは不明な点も多い。今回、低タンパク食給餌におけるインスリン感受性のメカニズムとしてアディポネクチンに着目し測定したところ増加を認めたことから、分泌メカニズム解明を期待し検討を重ねた。

【方法】

5週齢の雄 wistar ラットを5日間の慣らし飼育の後に2群に分け、14日間にわたりコントロール食である15%カゼイン含有食および低タンパク食として5%カゼイン含有食を摂取カロリーが同等になるようにペアフィーディング法で給餌した。

本負荷モデルにおいてインスリン感受性試験を行った。14日間の負荷後に解剖を行い血液および各種臓器を採取した。採取した血液を用いて血中アディポネクチン濃度の測定およびアディポネクチン分画のWesternblot法による解析を行った。また、肝臓から中性脂肪を抽出して測定を行った。精巣上体白色脂肪組織を用いてアディポネクチンのqPCR法による遺伝子発現およびWesternblot法による蛋白定量を行うとともに、アディポネクチン合成・多量体化・分泌に関連する小胞体シャペロン群をWesternblot法により定量した。精巣上体白色脂肪組織よりコラゲナーゼを用いて脂肪細胞を単離・培養し脂肪細胞から培養液へのアディポネクチン分泌の測定およびアディポネクチン分画のWesternblot法による測定を行った。

【結果】

低タンパク食給餌群ではコントロール群と比べて空腹時血糖に有意な差は認めなかったが、インスリン負荷後の血糖値は低くインスリン感受性の亢進を認めた。また、低タンパク食給餌ではコントロール群に比べ体長および体重、肝臓・腓腹筋の重量は有意に低値であったが、精巣上体脂肪組織の重量に差はみられなかった。肝臓脂肪含量は有意に増加していた。低タンパク食給餌群では、コントロール群に比べて血中アディポネクチンレベルは有意に増加しており、インスリン感受性の亢進に最も影響の大きい高分子量型 (high - molecular - weight : HMW) の割合が増加していた。

血中アディポネクチンは主に脂肪組織で合成されることから精巣上体脂肪組織におけるアディポネクチンの遺伝子発現および蛋白レベルを測定したところ2群間に有意な差は認めなかった。さらにアディポネクチンの分画も2群間で変わらなかった。

脂肪細胞におけるアディポネクチンの多量化および分泌調整に関与する小胞体シャペロン (ERp44 や DsbA-L, Ero1-La) およびすでにアディポネクチン増加因子として知られている PPAR γ を精巣上体脂肪組織で測定した。PPAR γ や Ero1-L は変化していなかったが、ERp44 お

よび DsbA-L は有意に減少していた。

精巢上体脂肪組織から脂肪細胞を単離・培養して培養液中のアディポネクチン量を測定したところ、低タンパク食給餌群とコントロール群ではアディポネクチン分画には差がないものの4時間培養後のアディポネクチン分泌量は低タンパク食群で有意に増加していた。培養後の細胞内アディポネクチン量に差は認めなかった。

【考察】

低タンパク食給餌ではインスリン感受性の亢進と血中の総アディポネクチン量の増加および高分子量型の割合増加、脂肪細胞からの分泌亢進を認めた。しかし、脂肪細胞におけるアディポネクチンの遺伝子発現や蛋白レベルでの増加を認めなかった。これまで脂肪細胞サイズに反応して PPAR γ が活性化され、ERp44、DsbA-L、Ero-La といった ER シャペロンが増減しアディポネクチン合成や多量体化が亢進するメカニズムが報告されてきた。本研究から低タンパク食給餌では異なる経路によるアディポネクチン分泌の亢進によって血中アディポネクチンレベルの上昇をもたらされていると考えられた。また、インスリン感受性の亢進にも関わらず、低タンパク食給餌は脂肪肝を誘発する。脂肪肝は NASH や肝硬変、肝がんのリスクになりうるが、アディポネクチンは炎症の進展や脂肪合成に抑制的に働くことから、血中アディポネクチンレベルの上昇はタンパク欠乏の状況で脂肪肝に関連する疾患の抑制に寄与する可能性が示唆された。

【結論】

今回の我々の検討から、低タンパク食負荷は脂肪細胞内でのアディポネクチン合成や多量体化の亢進を伴わない一方で、分泌を促進することによって血中アディポネクチンを増加させることが明らかとなった。これは低タンパク質摂取におけるインスリン感受性亢進の一因となることが示唆された。