

短期間のカロリー制限と運動の併用が健常ラットの インスリン作用に及ぼす影響

大学院医学系研究科

健康社会医学専攻 健康増進医学講座 健康・スポーツ医学分野

博士課程 4年 姜 海英

指導教員 押田 芳治

【目的】

身体活動量の減少や食生活の変化に伴い、糖尿病患者数は世界的に増加しており、運動や栄養介入による糖尿病発症予防は喫緊の課題である。必須栄養素を維持した状態で摂取エネルギーを30-40%減らすことは「カロリー制限」と呼ばれ、様々な生物種において寿命延長効果が知られている。近年、ヒトにおいても、カロリー制限による動脈硬化、癌、糖尿病などの生活習慣病の発症抑制が認められた。その原因の一つとして、インスリン感受性の増加が推測されている。カロリー制限と有酸素運動の併用効果は、肥満症や糖尿病などを罹患したヒトや動物においてよく研究されているが、非肥満健常レベルでの研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、健常ラットにおける短期間のカロリー制限単独、または有酸素運動との併用がインスリン感受性に及ぼす影響をインスリンクランプ法で検討し、さらに骨格筋における効果発現メカニズムについても検討を加えた。

【対象及び方法】

F344/NSlc 雄性ラットを1)自由摂餌/安静群、2)自由摂餌/運動負荷群、3)カロリー制限/安静群、4)カロリー制限/運動負荷群の4群に分けて8週間飼育した。カロリー制限群は、摂食・絶食を隔日に行った。運動負荷群はトレッドミルを週5日行った(速度:15 m/min、傾斜:6度、時間:60 min)。

カロリー制限と運動がインスリン感受性に及ぼす影響は、経口ブドウ糖負荷試験と高濃度インスリンクランプ法により評価した。ブドウ糖負荷試験では、14時間絶食させたラットに50%D-グルコース溶液(2 g/kg BW)を経口投与した。投与前および投与15、30、60、120分後に尻尾より採血し、バイオセンサ BF-5血糖測定機で血糖値を測定した。血漿インスリン濃度と高分子アディポネクチン濃度は、ELISA キットを用いて測定した。経口

ブドウ糖負荷試験3日後に、ラットをベントバルビタールで麻酔し、右頸静脈および左頸動脈にカテーテルを挿入した。右頸静脈に挿入したカテーテルは、インスリンおよび20%グルコース溶液注入用に、左頸動脈のカテーテルは採血に用いた。カテーテル挿入後回復期間を経て、無麻酔の覚醒状態でインスリン注入率が75 mU/kg BW/minの高濃度インスリン正常血糖クランプ法を120分間にわたり実施した。10分ごとに血糖値を測定し、血糖値が空腹時レベルに維持されるようにグルコース溶液の注入速度を調節した。血糖値が安定したクランプの後半30分間の平均グルコース注入率(glucose infusion rate: GIR)を算出し、インスリン感受性の指標とした。非生理的な高濃度のインスリン下では、肝臓での糖新生が完全に抑制されるため、骨格筋でのインスリン作用の指標になる。さらにヒラメ筋を用いて、骨格筋で主要な糖輸送体である GLUT-4 タンパク発現量をウエスタンブロット法で解析した。

【結果】

運動群では、副睾丸周囲脂肪量は、自由摂餌とカロリー制限下ともに各安静群と比較して有意に低下したが、体重には差を認めなかった。一方、安静群では、カロリー制限により体重と副睾丸周囲脂肪量が有意に減少したが、体重当たりの脂肪量では差を認めなかった。各群の空腹時血糖値、インスリン値と高分子アディポネクチン濃度には有意差を認めなかった。

経口ブドウ糖負荷試験では、負荷後の血糖値はカロリー制限と運動によってそれぞれに低値を示し、負荷後の30分と60分に自由摂餌/安静群と比べ統計的な有意差が認められたが、その併用による一層の低値は認められなかった。インスリンクランプ法から得られた GIR (mg/kg BW/min) は、自由摂餌/安静群:34.14±0.98;カロリー制限/安静群:39.87±1.57;自由摂餌/運動負荷群:44.96±2.53;カロリー制限/運動負荷群:48.8±1.13

であり、カロリー制限および運動で明らかに増加し、その併用によりさらなる増大がみられた。一方、GLUT-4タンパク発現量は運動によって明らかに増加したが、カロリー制限による変化は認めなかった。

【考察】

高分子アディポネクチンは、他のアディポネクチンコンプレックスに比べその受容体との結合性が高く、BMIや体重減少の影響をより明確に反映すると言われている。しかしながら、健常ラットを用いた本研究では、短期間のカロリー制限と運動は高分子アディポネクチン濃度に変化をおよぼさなかった。健常生体ではホルモン変化が生じにくい可能性もあり、実験条件を変えてさ

らなる検討が必要と考える。

カロリー制限と運動は各々単独でインスリン感受性を増加させ、併用により加算的になりうるという結果が得られた。一方、運動の継続はヒラメ筋の GLUT- 4 タンパク発現量を有意に増加させたが、カロリー制限による変化は認められなかった。以上の知見は、カロリー制限と運動が異なるシグナルメカニズムにより骨格筋のインスリン感受性を増加させる可能性を示唆している。本研究では、カロリー制限によるインスリン感受性改善のメカニズムを明らかにできなかったが、カロリー制限によるシグナル変化は、筋肉の種類やインスリン濃度により異なるとの報告もあり、条件を変えてさらに研究を進展させる必要がある。