

主論文

**Down-regulation of hepatic AMP-activated protein kinase and up-regulation of CREB coactivator CRTC2 for gluconeogenesis under calorie-restricted conditions at a young age**

若年時カロリー制限状態における肝臓AMP-activated protein kinaseの抑制的調節と糖新生にかかわる CREB coactivator CRTC2 の増加的調節

Lucas S. Trindade、Seong-Joon Park、小松利光、山座治義、林洋子、森亮一、千葉卓哉、倉本和直、下川功

Acta Medica Nagasakiensia 2010 in press

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(指導教授：下川功教授)

緒言

AMP-activated protein kinase (AMPK)は、細胞内のATPの低下に即座に反応して、ATPの産生を促す細胞のエネルギーセンサーとして発見されたが、最近では、アディポネクチンやレプチンなどのホルモンの変化を通して、体内のエネルギー代謝を長期的に制御する分子であることが、理解されてきた。AMPKは肝臓の糖新生の抑制、骨格筋におけるグルコースの取り込みやβ酸化の促進、脂肪細胞における脂肪酸合成と脂肪分解の抑制を誘導する。加えてAMPKは、mammalian TOR (target of rapamycin)を抑制する。このような機能はカロリー制限(CR)の効果と類似している。よって、AMPKの活性化がCRによる老化や寿命の制御に関連すると仮定された。しかしながら、AMPKに対するCRの影響は、報告によって異なる。我々は、活性型AMPKがラット肝臓においては、CRによって減少することを報告した。本研究は、AMPKの下流に存在し、AMPKによって負に制御される分子、transducer of regulated CREB activity 2 (CRTC2)とmTORに対するCRの影響を検討することによって、CRの代謝調節の特徴の1つを明らかにすることを試みた。

材料と方法

自由摂食下で生後10週、18ヶ月まで飼育したオスF344ラットを、さらに自由摂食(AL)群(自由摂食を継続する)と30%カロリー制限(CR)群に分け、4.5ヶ月飼育した。グルコース負荷後インスリンシグナル活性化状態におけるシグナル分子の変化を評価するために、グルコース負荷試験と同じように一晩絶食後、生理食塩水もしくはグルコー

スを腹腔内投与 (1.0 g/Kg) し、15分後屠殺し、血液、肝臓などの組織を採取した。肝臓における AMPK, CRTC2, CREB, mTOR など蛋白質 (リン酸化型を含む) レベルを Western blot にて定量化した。CRTC2 と CREB の結合を免疫沈降法にて検討した。CRTC2-CREB の糖新生遺伝子発現への影響を確認するために、PGC1 $\alpha$ , PEPCK-mRNA の発現レベルを RT-PCR 法にて定量化した。

## 結果

AMPK の活性化型である Thr172-phosphorylated (p) AMPK レベルは、特に若年時において AL 群に比べ、CR 群で減少していた。核蛋白質における CRTC2 レベルは、逆に、CR 群において増加していた。特に若齢群において有意であった。CRTC2 と CREB の複合体形成を免疫沈降法によって確認した。これと平行して、糖新生を誘導する PGC1 $\alpha$ , PEPCK-mRNA の発現量も CR 群において増加していた。リン酸化型 mTOR は、グルコース投与群 (つまり血中インスリン増加状態) で低下していたが、AL, CR 群間で差はなかった。

## 考察

本研究は、若年時 CR が肝臓の AMPK 活性を抑制することによって、CRTC2-CREB を正に制御し、摂取エネルギーが制限された場合、糖新生を効率的に誘導することを示唆した。AMPK は脂肪合成も抑制することが知られている。AMPK の CR による抑制は、エネルギーが摂取された場合、迅速に脂肪合成を行い、白色脂肪としてエネルギー源を蓄えることを効率化することも示唆している。以前の研究から、白色脂肪では、AMPK の活性型が CR によって増加することを示した。白色脂肪組織では、AMPK は、脂肪分解を抑制する。よって、我々の結果は、CR は組織特異的に AMPK の活性を制御する。肝臓における AMPK の活性低下、脂肪組織における AMPK の活性上昇は、CR 条件下における肝臓から脂肪へのエネルギーの分配と蓄積を効率的に行っていることを示唆している。一方、本研究は、肝臓における mTOR には CR の影響がないことを示した。mTOR の抑制は寿命延長につながることを示されているので、AMPK-mTOR 系については、さらに検討が必要である。