

## 【総 説】

# カロリー制限による白色脂肪組織を中心とした脂質代謝の活性化

藤井 波木、沖田 直之、樋上 賀一  
東京理科大学薬学部分子病理・代謝学研究室

### 要約

カロリー制限 (CR) の抗老化・寿命延伸効果の分子メカニズムとして、成長ホルモン (GH) /IGF-1シグナルやSirtuinの重要性が指摘されているが、未だ不明な点も多い。また、脂肪細胞やアディポカイン分泌の遺伝的修飾により、寿命制御が可能であることが報告されている。そこで我々は、CRがげっ歯類の白色脂肪組織 (WAT) に及ぼす影響について解析した。その結果、CRはWATにおいてミトコンドリアを活性化し、炎症を抑制した。また、脂質合成/分解系酵素やピルビン酸/リンゴ酸回路関連酵素の発現亢進を介して、生体内の脂質緩衝能を増強させることが示唆された。このようなCRによるWATのリモデリングは、摂取エネルギー不足に対して脂質を有効に利用するための適応現象であると考えられる。さらに、このCRによる脂質の有効利用には、脂質合成系の主要な制御因子であるSrebp-1cが重要な役割を果たすことが示唆された。

キーワード: caloric restriction (CR), white adipose tissue (WAT), lipid metabolism, pyruvate/malate cycle, sterol regulatory element binding protein-1c (Srebp-1c)

### 1. はじめに

近年、我が国を含む先進諸国では、ライフスタイルの欧米化に伴い、糖尿病や脂質代謝異常症などに代表される生活習慣病の罹患者が増加している[1]。また、肥満症に高血糖、高血圧や脂質異常症などの生活習慣病を合併すると、動脈硬化性疾患発症のリスクが高くなることが知られている。このような疾患概念は「メタボリックシンドローム」と呼ばれ、国民の間で広く認知されるようになってきた。加えて、先進諸国では高齢化が急速に進行している。特に我が国では、2050年には国民の2.5人に1人が65歳以上という超高齢化社会と同時に、総人口が1億人を切るという人口減少社会が到来すると推計されており、高齢者医療費のさらなる増大や労働人口の減少が危惧され、大きな社会問題となっている。このような社会背景から、肥満症やそれに付随する疾患の予防は現代社会に課せられた重要な課題である。特に近年、高齢者の生活の質的向上が重要視されるようになり、「平均寿命の延伸だけでなく、健康寿命の延伸」に対する関心が高まっている。現状では、我が国における平均寿命と健康寿命の間には約10年のギャップがある[2]。このギャップ期間を短縮し健康に生活することは、一人のヒトとしても社会的にも大きな意義があると考えられる。そのギャップを埋めるべく注目されているのがカロリー

制限 (CR; caloric restriction) に関する研究である。

### 2. カロリー制限 (CR) の効果とそのメカニズム、脂肪組織の重要性

CRは適度な摂取カロリーの制限であり、特にげっ歯類などの実験動物においては、摂取カロリーを自由摂食群 (AL; ad libitum) 群の70%程度に制限されることが多い。CRは、酵母や線虫からげっ歯類を中心とした哺乳類に至るまで幅広い生物種において、平均および最大寿命を延長する。また哺乳類においては、加齢に伴う生理的バイオマーカーの変化や慢性疾患の発症、その他の病理学的変化を抑制する[3-7]。2009年、Colmanらはサルを用いた研究から、CRは外見を若く保ち、糖尿病や心臓疾患、脳萎縮、さらにはがんの罹患率を抑制することを報告した[8]。このことは、CRがヒトにおいても加齢に伴って発症する疾患を抑制し、ヒトにおける健康寿命の延伸を可能にすることを示唆する。

CRを行うと、摂取エネルギーの不足に対応するために全身の代謝が変化し、白色脂肪組織 (WAT; white adipose tissue) の重量減少や白色脂肪細胞の小型化、低体温、インスリン感受性の増強など多くの生理的適応反応が誘導される[6,7,9]。近年、成長ホルモン (GH; growth hormone) およびGH刺激により肝臓などから分泌されるインスリン様成長因子1 (IGF-1; insulin-like growth factor-1) のCRへの関与が指摘されている。CRは、GHの分泌や血漿中GH濃度[10]、血漿中IGF-1濃度を減少させる[11]。また、GH、プロラクチンおよび甲状腺刺激ホルモンの分泌不全を呈するAmes矮小マウス (Prop-1<sup>fl/fl</sup>) [12]やSnell矮小マウス (Pit-1<sup>dn/dn</sup>) [13]は、

〒278-8510

千葉県野田市山崎2641

Phone: 04-7124-1501(代) 内線 6535・6537

Phone/Fax: 04-7121-3678 (直通)

E-mail: higami@rs.noda.tus.ac.jp

野生型に比べ20-50%の長寿を示す。さらに、GHR/BP (Growth hormone receptor/binding protein) ノックアウト (KO) マウス[14]やIGF-1 receptor KOマウス[15]、さらにアンチセンスGH遺伝子の導入によりGH発現を抑制したラット[16]も野生型に比べて長寿であることが報告されている。

これら長寿を示すマウスやラットにCRを行ったところ、GHR/BP KOマウスではCRによる寿命延伸が認められなかった[17]。一方、Ames矮小マウス[18]やアンチセンスGHトランスジェニックラット[19]では、CRによりさらに寿命が延長した。これらの知見は、CRの寿命延伸効果がGH/IGF-1依存的なメカニズムによってのみ制御されているわけではなく、GH/IGF-1非依存的メカニズムによっても制御されていることを示唆するものである。

さらに、WATも寿命の制御に重要な役割を担っていることが明らかになってきた。脂肪組織特異的にインスリン受容体をノックアウトしたマウスでは、WAT重量が減少し、寿命が延長する[20]。肝臓においてアディポサイトカインの一つであるアディポネクチンの発現を亢進させたトランスジェニックマウス[21]や脂肪細胞の分化に必須な転写因子であるC/EBP (CCAAT/enhancer-binding proteins)  $\alpha$  遺伝子座に同様の作用を有する転写因子であるC/EBP  $\beta$  をノックインしたC/EBP  $\beta/\beta$  マウス[22]も長寿であることが報告されている。また、外科的に内臓脂肪を切除したマウスではインスリン抵抗性が改善し、寿命が延長する[23, 24]。加えて、野生型マウスでは内臓脂肪の外科的切除により骨格筋における脂質蓄積の抑制や体温の低下、呼吸商の低下が観察されるが、長寿を示すGHR/BP KO マウスでの外科的な内臓脂肪の切除は、野生型と正反対の悪影響を及ぼすことが報告されている[25]。このことはWAT自体に個体にとって良いWATと悪いWATがあることを示している。それゆえ、CRに伴うWATの質的变化、さらにWATの質的变化が他臓器に与える影響の解明が、CRにおける抗老化・寿命延伸効果の分子メカニズムの解明、さらにヒトにおける健康寿命の延伸に極めて重要な研究課題であると考えられる。

### 3. CRが白色脂肪組織 (WAT) に与える影響

WATの主要な構成細胞は、細胞質中に単一の大きな脂肪滴を有する白色脂肪細胞である。白色脂肪細胞は、余剰なエネルギーを中性脂肪 (TG; triglyceride) として細胞内に蓄え、必要に応じて脂肪酸の形で細胞外へと放出する[26]。そのため、WATは単なるエネルギーの貯蔵組織と捉えられてきた。しかし現在では、アディポサイトカインを分泌する内分泌組織としても注目されている[27]。アディポサイトカインは、エネルギー恒常性やインスリン抵抗性、炎症などに関与している[28, 29]。例えば、炎症関連因子でもあるTNF- $\alpha$  は肥満やインスリン抵抗性の増悪と関連しており[30]、アディポネクチンはインスリン感受性の亢進に関連すること[31]が報告されている。白色脂肪細胞は大きさによりその形質を変化

させる。大型白色脂肪細胞はTGを多量に含有し、アディポネクチンの分泌が低下、炎症性サイトカインの分泌が増加する。一方、小型白色脂肪細胞は少量しかTGを含まず、アディポネクチンの分泌が増加、炎症性サイトカインの分泌が低下することに加え、インスリン感受性が高い[32]。さらに、小型白色脂肪細胞は生体内での脂質の合成と貯蔵、消費を調節する能力、つまり脂質に対する緩衝作用が高い。脂肪組織が有する脂質に対する緩衝作用が障害されると、脂質が肝臓や骨格筋などの非脂肪組織に蓄積される。このような異所性脂質の蓄積はインスリン抵抗性に関連する[33]。

CRはSirt1やSirt3、PGC-1 (PPAR  $\gamma$  coactivator 1)  $\alpha$  の発現亢進を介してWATにおけるミトコンドリアバイオジェネシスを亢進させることが報告されている[34-36]。そこで、我々は、CRによるWATのリモデリングの詳細を明らかにするために、3ヶ月齢からCRを開始し9ヶ月齢で屠殺したラットとそのコントロールである自由摂食させたラットの精巣周囲脂肪を用いてプロテオーム解析を行った[37]。そして、二次元電気泳動において、CRによって発現が増加する5つのスポット (ACLY; ATP-citrate synthase, MAOX; NADP-dependent malic enzyme, PYC; Pyruvate carboxylase, mitochondrial, ODPB; pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial, ACADL; long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial) を同定した。そのうち3つ (ACADL, ODPB, PYC) はミトコンドリアに局在する酵素であった。そこで、CRがWATのミトコンドリアに及ぼす影響に着目し、ミトコンドリアに局在する酵素としてCS (citrate synthase) 活性およびCOX (cytochrome c oxidase) 活性を測定した。CSはTCA回路の最初のステップに関与する酵素であり、ミトコンドリアマトリックスに存在する。COX は呼吸鎖複合体のComplex IVとして知られ、ミトコンドリア内膜に局在する酵素である。CRにより、CS活性およびCOX活性は上昇した (図1)。また、CRにより発現が増加する5つスポットのうち4つ (ACLY, MAOX, PYC, ODPB) はピルビン酸/リンゴ酸回路関連酵素であった。ピルビン酸/リンゴ酸回路はミトコンドリアからサイトゾルへのアセチルCoAの供給や

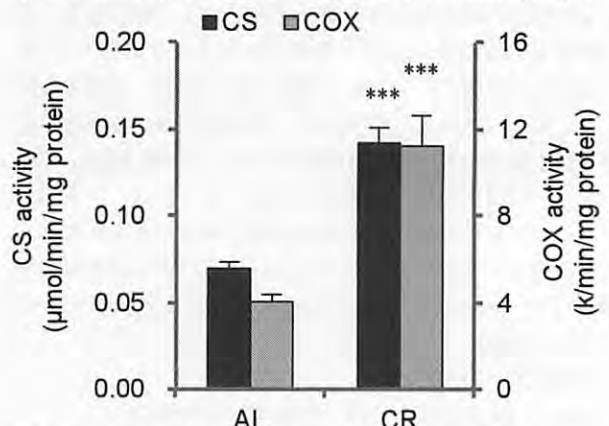


図1. 白色脂肪組織 (WAT) でのミトコンドリア活性  
CRはWATにおいてCSおよびCOX活性を上昇させた。

NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) の産生を司っており、これらは脂質合成に重要な役割を果たしている。この経路では、ピルビン酸が ODPB、PYC によりそれぞれアセチルCoA とオキサロ酢酸となり、この2分子からミトコンドリア内のCSによりクエン酸が生成された後、サイトゾルで ACLY によりアセチルCoA が供給される。同時に、ACLY によりオキサロ酢酸が供給され、これはリンゴ酸を経て、サイトゾルで MAOX によりピルビン酸へと変換される。この際に産生される NADPH は、脂肪酸合成の際の還元反応に必須の因子である。これら酵素の発現量の増加から、WAT では CR によってピルビン酸/リンゴ酸回路が活発化し、脂質合成が亢進していると考えられる。そこで、脂肪酸合成酵素など脂質合成関連酵素のタンパク質発現を解析したところ、CR によりこれらタンパク質発現は有意に亢進していた (図2)。また同時に、CR により脂肪細胞が小型化していたことから、脂質分解系酵素のタンパク質発現を解析した。ホルモン感受性リパーゼ (HSL; hormone-sensitive lipase) および脂肪細胞トリグリセリドリパーゼ (ATGL; adipose triglyceride lipase) は、WAT における TG 分解の90%以上を担う酵素として知られている [38]。CR はこれら脂質分解系酵素の発現を亢進させた (図2)。

以上より、CR による WAT リモデリングの1つの特徴は脂質合成系と分解系がともに活性化されていること、すなわち脂質緩衝能の増強であると考えられた [37]。

#### 4. CR による脂肪組織リモデリングにおける GH/IGF-1 非依存的メカニズム

CR における GH/IGF-1 非依存的メカニズムの解明を目的として、野生型 Wistar ラット (Wd) とアンチセンス

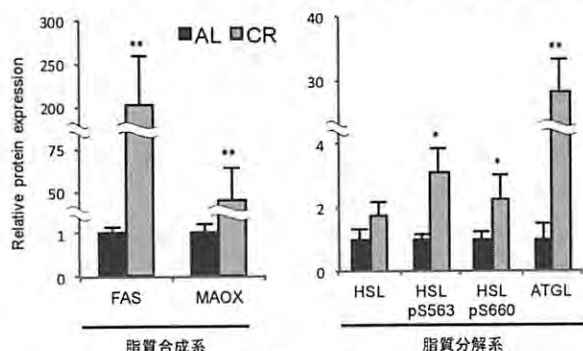


図2. 白色脂肪組織 (WAT) でのタンパク質発現

CR は脂質合成関連遺伝子および脂質分解系遺伝子のタンパク質発現を亢進した。各タンパク質の発現量は Western blot 法により定量し、CBB 染色により補正し、AL における発現量を1とした相対比で示している。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , vs AL ( $n=4$ , means  $\pm$  S.E.)

GHヘテロトランスジェニック (Tg) ラットに CR を行い、精巢周囲脂肪を解析した [39]。Wd および Tg ラットをそれぞれ AL 群 および CR 群に分け、WdAL, WdCR, TgAL, TgCR の計4群を作製し、6ヶ月齢で屠殺した。以前、我々はマウスにおいて CR により白色脂肪細胞のサイズが減少し、代謝関連遺伝子群の発現が増加することを報告しているが [40]、今回のラットにおける検討でも、CR によって白色脂肪細胞のサイズは顕著に減少した。自由摂食群では小型から大型までの様々なサイズの脂肪細胞が観察されたのに対して、CR 群では小型の脂肪細胞が多く存在した。一方、GH 発現が抑制されている Tg ラットにおける脂肪細胞サイズの減少はわずかであった (表1)。以上より、WAT の形態学的リモデリングには GH 依存的よりむしろ非依存的メカニズムが重要ではないかと考えられた。

そこで、WdAL, WdCR, TgAL の3群の WAT を用いて DNA マイクロアレイを行い、CR と Tg により発現変動する遺伝子を網羅的に解析した。その発現プロファイルをもとに有意な変動があった6641遺伝子について主成分分析 (PCA; principal component analysis) [41] を行った。6641遺伝子の WdAL 群における発現レベルを原点として、WdCR 群の発現量を X 軸に、TgAL 群の発現量を Y 軸にプロットした。すると WdCR 群で高発現を示し、かつ TgAL 群で発現変化の少ない遺伝子として脂質合成関連遺伝子群が同定された。その中でも、Horton ら [42] が Srebp-1 (sterol regulatory element binding protein-1) が発現を制御する遺伝子群として報告している FAS (fatty acid synthase) や ACC1 (acetyl-CoA carboxylase 1)、ACLY、SCD1 (stearoyl coenzyme-A desaturase1) などの遺伝子発現が、WdCR 群で有意に増加した (図3) [39]。

Srebp は脂質代謝や脂肪細胞分化におけるマスターレギュレーターとして知られており、1a, 1c, 2 の3つのアイソフォームが存在する [43]。Srebp-1a と 1c は同一の遺伝子から異なるスプライシングを受けて発現し [44]、脂肪酸合成関連遺伝子の発現を正に制御する。また、Srebp-1 アイソフォームの発現分布は組織によって異なり、Srebp-1c が肝臓や脂肪組織、筋肉などのインスリン感受性臓器で優位に発現しているのに対し、Srebp-1a は脾臓や骨髄由来マクロファージ、骨髄樹状細胞などの免疫や炎症に関連する臓器および細胞で優位に発現している [45]。Srebp-1c は主として摂食にตอบสนองして発現が亢進し脂肪酸合成系を活性化するが [46, 47]、Srebp-1a は摂食に対する応答は小さく、細胞増殖の抑制 [48] や免疫応答 [45] にも関与する。また Srebp-2 は各組織で一様に発現し、コレステロール合成関連遺伝子の発現を正に制御す

表1. 白色脂肪細胞のサイズ

Group	Wd		Tg	
	AL	CR	AL	CR
Median adipocyte size ( $\mu\text{m}^2$ )	4321 $\pm$ 138	2712 $\pm$ 210 ***	3258 $\pm$ 308 *	2445 $\pm$ 211
% adipocytes $>5000 \mu\text{m}^2$	41.58 $\pm$ 1.73	13.90 $\pm$ 4.50 ***	26.05 $\pm$ 4.43 *	13.04 $\pm$ 2.66

\*: $p < 0.05$ , \*\*\*: $p < 0.001$ , vs WdAL ( $n=4$ , means  $\pm$  S.E.) (文献39より改変)

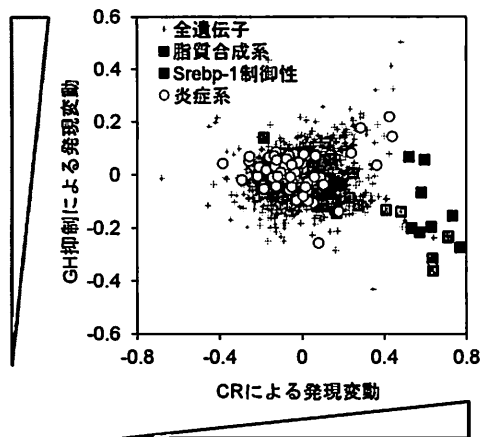


図3. 主成分分析を用いたDNAマイクロアレイによる白色脂肪組織 (WAT) での網羅的遺伝子発現解析

6466個の遺伝子の野生型自由摂食(WdAL)群に対する野生型CR(WdCR)群の値およびアンチセンスGHヘテロトランスジェニックラット自由摂食 (TgAL) 群の値をそれぞれX軸、Y軸に表している。CRによる脂質合成関連遺伝子群の発現上昇と炎症関連遺伝子群の発現減少が観察されたが、これらの遺伝子群の発現にGH抑制の影響は見られなかった (文献39より改変)。

る[49]。Real-time RT-PCR法による定量的な解析により、CRはSrebp-1特にSrebp-1c及びその下流遺伝子群の発現を顕著に上昇させるが、GH抑制による影響はないことが示された。また、Srebp-2及びその下流遺伝子群の発現に変化を及ぼさなかった[39]。よって、CRはGH/IGF-1非依存的にSrebp-1c下流遺伝子の発現を上昇させると考えられた。

一方、CRで発現が減少するが、GH抑制の影響を受けない遺伝子として炎症関連遺伝子群が同定された。炎症関連遺伝子群の中でも、肥満動物のWATにおいてマクロファージの浸潤が観察されることや、体重の減少によりその浸潤が抑制されることから[50, 51]、マクロファージ関連遺伝子に注目した。マクロファージマーカーとしてF4/80が知られており[52]、MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1) とその主要な受容体であるCCL2 (Chemokine (C-C motif) ligand 2) は、脂肪組織へのマクロファージ浸潤に中心的な役割を担っている[53]。脂肪組織が形質変化すると、性質の異なる2種類のM1およびM2マクロファージの分布が変化すると報告されている [52]。肥満に伴い増加する活性型M1マクロファージは多くの炎症性サイトカインを分泌して脂肪組織における炎症性変化を誘導する。一方で、非肥満の脂肪組織では、非活性型M2マクロファージが炎症性変化を抑制する。CRによりF4/80やMCP-1などマクロファージ浸潤マーカーの発現は減少したが、アンチセンスによりGH発現が抑制されたTgラットでは影響が観察されなかった。また、CRによりM1マクロファージマーカーであるCD11c発現は減少したが、M2マクロファージマーカーであるCD163は減少しなかった。一方、これらマクロファージの浸潤やそのサブタイプの変化はGHのアンチセンスTgによる影響を認めなかった[39]。

また、GHを抑制されているTgラットのWATにおいて高発現する遺伝子には特定な機能を有する遺伝子群は検

出されず、低発現となる遺伝子にはホルモン応答に関連する遺伝子群がわずかに検出されるのみであった。以上より、CRによるWATリモデリングにおけるGH/IGF-1非依存的メカニズムとして、1) Srebp-1cに調節される*de novo*脂質合成の活性化、2) マクロファージ浸潤の抑制が重要であると考えられた[39]。

## 5. CRにおけるSrebp-1cの重要性

Srebp-1の中でも主要なアイソフォームでありCRに対する影響の大きいSrebp-1cのKOマウスにCRを行い、CRに対する影響の変化を検討した。野生型 (Wd) マウスのWATにおいては、CRにより脂質合成関連タンパク質の発現が増加していたが、KOマウスではそのようなCRに伴う変化は抑制されていた。さらに、CRを行ったWdマウスは、摂食前後に主要諸臓器での脂質蓄積量を変化させて効率的に脂質を利用しているようであったが、KOマウスではこのような変化に乏しく、CRによるWATの脂質緩衝作用増強が観察されなかった[unpublished data]。加えて、WdマウスはCRにより寿命が延長したものの、KOマウスではCRによる寿命延伸効果が観察されなかった[unpublished data]。よって、Srebp-1cはCRによるWATのリモデリングや効率的な脂質の利用に不可欠な因子であり、CRによる寿命延伸効果にも影響を及ぼすことが示唆された。

一般に、CRは活性酸素種 (ROS) 産生を減少させ、酸化ストレスを抑制すると考えられている。しかし一方で、CRはROSの主要な産生源であるミトコンドリアを活性化する。この矛盾は未解決であるが、それに対して斬新な仮説が提唱された。CRにより脂質利用が亢進すると、NADH産生に比べ、脂肪酸 $\beta$ 酸化において産生されるFADH<sub>2</sub>が優位となる。よって、CR条件下においては、ROS産生が多いと考えられているcomplex Iがバイパスされ、complex IIの利用が増加し、ROS産生が減少するというものである[54]。しかし、この仮説を証明するための適当なモデル動物が存在しないことから、個体レベルでの証明は未だなされていない。CR条件下で脂質を効率的に利用できないSrebp-1c KOマウスは、上記の仮説を検証するための有力なモデル動物となる可能性を秘めている。

## 6. おわりに

我々は、WATにおいてCRがGH/IGF-1非依存的に、Srebp-1cによって制御される脂質合成関連遺伝子群の発現増加と炎症関連遺伝子群の発現抑制を伴って、白色脂肪細胞を小型化することを見出した。その際、ミトコンドリアの活性化やピルビン酸/リンゴ酸回路、脂質分解の活性化も伴っており、脂質合成に不可欠であるNADPH産生が増強されているようであった。このようなCRによるWATリモデリングの特徴は、過去の知見から次の2点に集約されると考えられる。1つは脂質緩衝能の増強により非脂肪組織への脂質蓄積 (異所性脂質蓄積) を全身性に抑制することである。もう1つは脂肪細胞のサイズ増大を防ぎ、アディポサイトカインプロ

フィールを改善することで、炎症やROS産生を抑制することである。

現在、CR様効果を模倣する化合物の探索が世界中で行われており、レスベラトロールをはじめとする複数の化合物がその候補として報告されている[55]。しかし、今のところ、その有効性が広く認知されるにいたった化合物は見出されていない[56]。我々は、個体レベルでのCRにおけるWATを介した抗老化・寿命延伸効果の分子メカニズム、特に脂質の効率的な利用に関するメカニズムの解明から、老化や寿命の制御を目指している。この研究の進展は、単に実験動物における老化や寿命の制御だけでなく、代謝制御という観点からヒトの生活習慣病の治療や予防法の開発に繋がることで、少子高齢化が進む我が国をはじめとする先進諸国における「健康寿命の延伸」という社会的要請に貢献できるものと考えている。

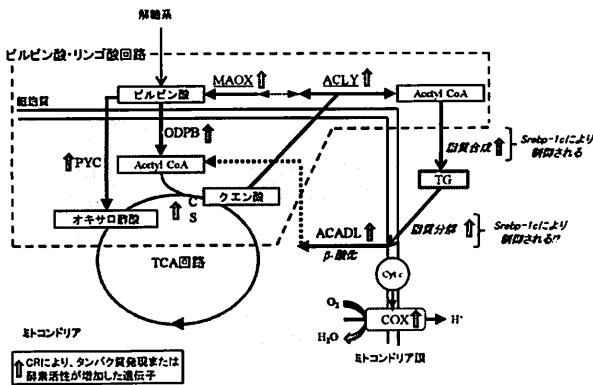


図4. 推定されるCRによるWATのリモデリング

CRは脂質合成関連酵素、脂質分解酵素、ピルビン酸/リンゴ酸回路系酵素、ミトコンドリア局在酵素の活性化を介して、脂質緩衝能を増強する。このようなWATの脂質代謝を中心としたリモデリングはCRの有益な効果の獲得に必要なと考えられる。なお、Srebp-1cにより制御される遺伝子を下線で示した。FAS: fatty acid synthase, MAOX: NADP-dependent malic enzyme, HSL: hormone-sensitive lipase, ATGL; adipose triglyceride lipase

引用文献

1. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet* 366:1640-1649, 2005.
2. 厚生労働省健康日本21（第2次）の推進に関する参考資料  
[http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/dl/kenkoun-ippon21\\_02.pdf](http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/dl/kenkoun-ippon21_02.pdf)
3. Higami Y, Barger JL, Page GP, et al. Energy restriction lowers the expression of genes linked to inflammation, the cytoskeleton, the extracellular matrix, and angiogenesis in mouse adipose tissue. *J Nutr* 136:343-352, 2006.
4. Masoro EJ. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev* 126:913-22, 2005.

5. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 273:59-63, 1996.
6. Weindruch R & Walford RL. The retardation of aging and disease by dietary restriction. Springfield, IL: Charles C Thomas, 1988.
7. Yu BP. Modulation of aging processes by dietary restriction. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994.
8. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 325:201-204, 2009.
9. Picard F, Kurtev M, Chung N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* 429:771-776, 2004.
10. Sonntag WE, Xu X, Ingram RL, et al. Moderate caloric restriction alters the subcellular distribution of somatostatin mRNA and increases growth hormone pulse amplitude in aged animals. *Neuroendocrinol* 61:601-608, 1995.
11. D'Costa AP, Lenham JE, Ingram RL, et al. Moderate caloric restriction increases type 1 IGF receptors and protein synthesis in aging rats. *Mech Ageing Dev* 71:59-71, 1993.
12. Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, et al. Dwarf mice and the ageing process. *Nature* 384:33, 1996.
13. Flurkey K, Papaconstantinou J, Harrison DE. The Snell dwarf mutation *Pit1<sup>dw</sup>* can increase life span in mice. *Mech Ageing Dev* 123:121-30, 2002.
14. Coschigano KT, Clemmons D, Bellush LL, et al. Assessment of growth parameters and life span of *ghr/bp* gene-disrupted mice. *Endocrinology* 141:2608-2613, 2000.
15. Holzenberger M, Dupont J, Ducos B et al. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 421:182-187, 2003.
16. Shimokawa I, Higami Y, Utsuyama M, et al. Life span extension by reduction in growth hormone-insulin-like growth factor-1 axis in a transgenic rat model. *Am J Pathol* 160:2259-2265, 2002.
17. Bonkowski MS, Rocha JS, Masternak MM, et al. Targeted disruption of growth hormone receptor interferes with the beneficial actions of calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:7901-7905, 2006.
18. Bartke A, Wright JC, Mattison JA, et al. Extending the lifespan of long-lived mice. *Nature*

- 414:412, 2001.
19. Shimokawa I, Higami Y, Tsuchiya T, et al. Life span extension by reduction of the growth hormone-insulin-like growth factor-1 axis: relation to caloric restriction. *FASEB J* 17:1108-1109, 2003.
  20. Blüher M, Kahn BB, Kahn CR. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. *Science* 299:572-574, 2003.
  21. Otabe S, Yuan X, Fukutani T, et al. Overexpression of human adiponectin in transgenic mice results in suppression of fat accumulation and prevention of premature death by high-calorie diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293:E210-218, 2007.
  22. Chiu CH, Lin WD, Huang SY, et al. Effect of a C/EBP gene replacement on mitochondrial biogenesis in fat cells. *Genes Dev* 18:1970-1975, 2004.
  23. Barzilai N, She L, Liu BQ, et al. Surgical removal of visceral fat reverses hepatic insulin resistance. *Diabetes* 48:94-98, 1999.
  24. Gabriely I, Ma XH, Yang XM, et al. Removal of visceral fat prevents insulin resistance and glucose intolerance of aging: an adipokine-mediated process? *Diabetes* 51:2951-2958, 2002.
  25. Masternak MM, Bartke A, Wang F, et al. Metabolic effects of intra-abdominal fat in GHRKO mice. *Aging Cell* 11:73-81, 2012.
  26. Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 73:9-15, 2005.
  27. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2548-2556, 2004.
  28. Gnacińska M, Małgorzewicz S, Stojek M, Łysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Role of adipokines in complications related to obesity: a review. *Adv Med Sci* 54:150-157, 2009.
  29. Torres-Leal FL, Fonseca-Alaniz MH, Rogero MM, et al. The role of inflamed adipose tissue in the insulin resistance. *Cell Biochem Funct* 28:623-631, 2010.
  30. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95: 2409-2415, 1995.
  31. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 11:1288-1295, 2002.
  32. DeClercq V, Taylor C, Zahradka P. Adipose tissue: the link between obesity and cardiovascular disease. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 8:228-237, 2008.
  33. Frayn KN. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. *Diabetologia* 45:1201-1210, 2002.
  34. Anderson R, Prolla T. PGC-1 $\alpha$  in aging and anti-aging interventions. *Biochim Biophys Acta* 1790:1059-1066, 2009.
  35. Nisoli E, Tonello C, Cardile A, et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science* 310: 314-317, 2005.
  36. Shi T, Wang F, Stieren E, et al. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem* 280:13560-13567, 2005.
  37. Okita N, Hayashida Y, Kojima Y, et al. Differential responses of white adipose tissue and brown adipose tissue to caloric restriction in rats. *Mech Ageing Dev* 133:255-266, 2012.
  38. Schweiger M, Schreiber R, Haemmerle G, et al. Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism. *J Biol Chem* 281:40236-40241, 2006.
  39. Chujo Y, Fujii N, Okita N, et al. Caloric restriction-associated remodeling of rat white adipose tissue: Effects on the growth hormone/insulin-like growth factor-1 axis, sterol regulatory element binding protein-1 and macrophage infiltration. *AGE Epub ahead of print*, 2012.
  40. Higami Y, Pugh TD, Page GP, et al. Adipose tissue energy metabolism: altered gene expression profile of mice subjected to long-term caloric restriction. *FASEB J* 18:415-417, 2004.
  41. Jackson JE. A user's guide to principal components. John Wiley & Sons, Inc, New York, 2005.
  42. Horton JD, Shah NA, Warrington JA, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:12027-12032, 2003.
  43. Osborne TF. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): key regulators of nutritional homeostasis and insulin action. *J Biol Chem* 275:32379-32382, 2000.
  44. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 89:331-340, 1997.

45. Im S-S, Yousef L, Blaschitz C et al. Linking lipid metabolism to the innate immune response in macrophages through sterol regulatory element binding protein-1a. *Cell Metab* 13:540-549, 2011.
46. Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I et al. Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refeed mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:5987-5992, 1998.
47. Sekiya M, Yahagi N, Matsuzaka T et al. SREBP-1-independent regulation of lipogenic gene expression in adipocytes. *J Lipid Res* 48:1581-1591, 2007.
48. Inoue N, Shimano H, Nakakuki M, et al. Lipid synthetic transcription factor srebp-1a activates p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, a universal cyclin-dependent kinase inhibitor. *Mol Cell Biol* 25:8938-8947, 2005.
49. Pai JT, Guryev O, Brown MS et al. Differential stimulation of cholesterol and unsaturated fatty acid biosynthesis in cells expressing individual nuclear sterol regulatory element-binding proteins. *J Biol Chem* 273:26138-26148, 1998.
50. Weisberg SP, McCann D, Desai M et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 112:1796-1808, 2003.
51. Clément K, Viguerie N, Poitou C et al. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J* 18:1657-1669, 2004.
52. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest* 117:175-184, 2007.
53. Kanda H, Tateya S, Tamori Y et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 116:1494-1505, 2006.
54. Guarente L. Mitochondria - a nexus for aging, calorie restriction, and sirtuins? *Cell* 132:171-176, 2008.
55. Anderson RM, Weindruch R. The caloric restriction paradigm: implications for healthy human aging. *Am J Hum Biol* 24:101-106, 2012.
56. Pacholec M, Bleasdale JE, Chrnyk B, et al. SRT1720, SRT2183, SRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J Biol Chem* 285:8340-8351, 2010.

# Caloric restriction activates lipid metabolism through the white adipose tissue remodeling.

NamikiFujii, Naoyuki Okita, Yoshikazu Higami

Molecular Pathology and Metabolic Disease, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo  
University of Science

## Summary

Caloric restriction (CR) slows the aging process and extends lifespan. It is known that the suppression of growth hormone (GH) /IGF-1 signal and activation of Sirtuin may be significant factors in the beneficial actions of CR, however, the exact underlying mechanisms are still debatable. It has been reported that genetically modified adipocytes and adipocytokines' secretion potentially regulated lifespan of rodents. Therefore, we analyzed CR-associated remodeling of white adipose tissue (WAT). As a consequence, in WAT, CR modulated adipokine profile, activated mitochondrial biogenesis, and suppressed inflammation. CR also increased the expression of proteins involved in lipogenesis, lipolysis and pyruvate/malate cycle, suggesting that CR activates lipid buffering activity of WAT. It is considered that the CR-mediated WAT remodeling could be adaptive phenomena to effectively utilize lipids against shortage of energy intake. Furthermore, it is suggested that sterol regulatory element binding protein-1c (Srebp-1c), which is a master regulator of lipid synthesis, plays an important role in the CR-associated effective utilization of lipids.

**Key words:** caloric restriction(CR), white adipose tissue (WAT), lipid metabolism, pyruvate/malate cycle, sterol regulatory element binding protein-1c (Srebp-1c)