

【トピックス】

運動によるインスリン抵抗性の改善に関与する新たな分子メカニズム

都築 孝允<sup>1\*</sup>、篠崎 昇平<sup>2</sup>、金木 正夫<sup>3</sup>、内藤 久士<sup>1</sup>

<sup>1</sup>順天堂大学、<sup>2</sup>東京医科歯科大学、<sup>3</sup>ハーバード大学

1. はじめに

日常生活の利便化に伴う身体活動量の低下や運動不足は、肥満や2型糖尿病などの生活習慣病を引き起こす主要な要因の1つである。日常的な運動や身体活動の増加は、生活習慣病に加えて、がんや認知症など、様々な老化関連疾患の予防もしくは改善に効果的であると広く認識されている [1-3]。特に2型糖尿病に対しては、アメリカスポーツ医学会 (ACSM) とアメリカ糖尿病学会 (ADA) の共同声明により、少なくとも週3日、週あたり150分の有酸素運動や週2-3日のレジスタンス運動 (筋力トレーニング) を行うことが推奨されている [4]。これらのガイドラインはヒトを対象にしたランダム化比較試験などのエビデンスに基づいて作成されている。運動が糖尿病をはじめこれらの疾患を予防・改善する分子生物学的メカニズムについては不明な点が多いが、これまでの研究は主に運動器である骨格筋に焦点が当てられており、運動による骨格筋への糖取り込みの亢進などが明らかにされてきた [5]。しかしながら、運動は骨格筋のみならず全身に影響を与えるため、運動の効果を多角的に捉え、様々な視点から研究を行う必要がある。

そこで本稿では、近年注目されているタンパク質のS-ニトロソ化修飾とインスリン抵抗性との関連性および、運動によるインスリン抵抗性の改善におけるこれらのメカニズムの関与について、我々の研究結果を踏まえて紹介する。

2. タンパク質のS-ニトロソ化修飾とインスリン抵抗性

近年、リン酸化やアセチル化、ユビキチン化などに加えて、S-ニトロソ化という翻訳後修飾反応が注目されている [6]。S-ニトロソ化とは、タンパク質のシステイン残基 (-SH) と一酸化窒素 (NO) が結合し、S-ニトロソチオール (-SNO) を形成する可逆的な翻訳後修飾反応である (図1)。このS-ニトロソ化の調節不良は様々なヒト疾患と関連していると言われている [7]。これまで、*in vitro* および *in vivo* の研究において1000種類以上のタンパク質がS-ニトロソ化修飾を受けることが知られている [8]。哺乳類の細胞において、NOは一酸化

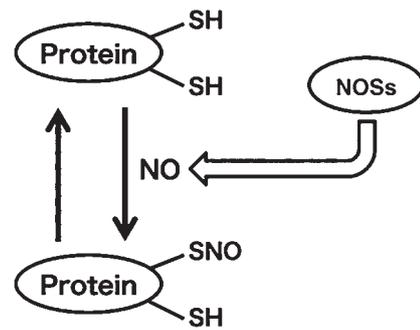


図1. タンパク質のS-ニトロソ化翻訳後修飾反応

窒素合成酵素 (NOS) により産生されるが、NOSには神経型 (nNOS)、内皮型 (eNOS) および誘導型 (iNOS) の3つの種類が存在する。特にiNOSは、eNOSおよびnNOSと比べて100-1000倍以上のNOを産生することができる [9]。過剰に産生されたNOはタンパク質のS-ニトロソ化を亢進させ、機能的な変化を引き起こすと考えられている [6]。

近年、世界中で問題となっている肥満や2型糖尿病においても、タンパク質のS-ニトロソ化が関与していることが報告されている [10]。共通する基盤病態として「慢性炎症」が注目されており [11,12]、炎症反応などにより生成されたNOにより、血糖の恒常性の維持に重要なインスリンシグナル経路のタンパク質であるインスリン受容体 (IR)、インスリン受容体基質-1/2 (IRS-1/2) およびAktがS-ニトロソ化修飾を受け、シグナルが減弱することで、インスリン抵抗性が引き起こされると考えられる [8, 13, 14] (図2A)。実際にインスリン抵抗性を示す肥満/糖尿病のモデル動物である*ob/ob* および*db/db* マウスや高脂肪食を摂取させたラットでは、骨格筋や肝臓におけるiNOS発現がコントロール動物と比較して有意に高く、IR、IRS-1/2およびAktにおけるS-ニトロソ化が亢進していることが示されている [8, 15, 16]。また、骨格筋培養細胞を用いた先行研究では、NOがAktをS-ニトロソ化することで、Aktの活性を低下させることを報告している [8]。また、肝臓特異的なiNOS過剰発現マウスを用いた研究では、S-ニトロソ化IR、IRS-1/2およびAktが増加し、インスリン受容体より下流のシグナルのリン酸化の低下によりインスリン抵抗性が惹起され高血糖を示すことを報告している [13]。対照的に、iNOSノックアウトマウスでは、

連絡先：〒270-1695

千葉県印西市平賀学園台1-1

TEL：0476-98-1001 (内線312)

FAX：0476-98-1030

E-mail：takamasa425@gmail.com

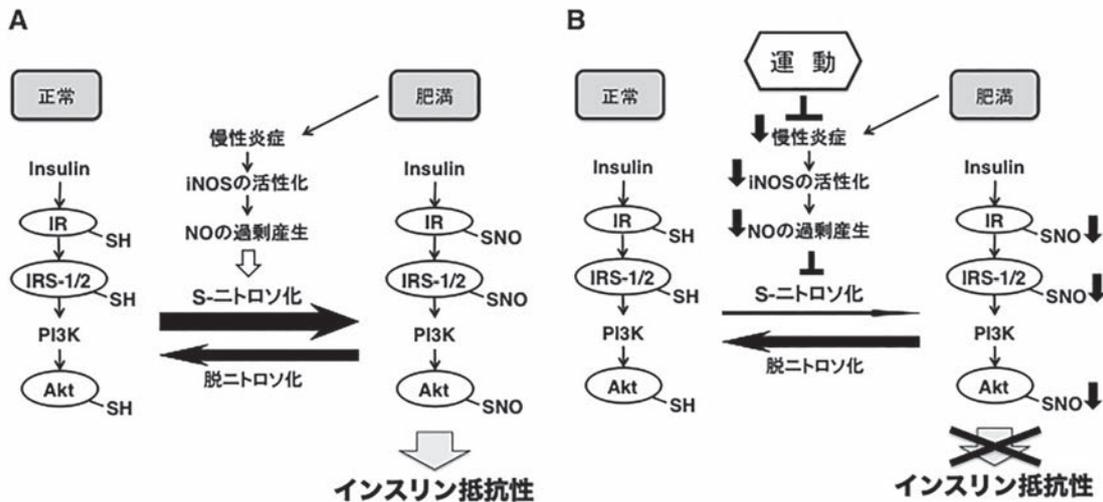


図2. S-ニトロソ化を介したインスリン低抗性の発症 (A) および運動による改善効果 (B)

高脂肪食摂取による肥満に関連したインスリン抵抗性を防ぐことが報告されている [17]。また、iNOS 阻害剤を用いた研究では、IR、IRS-1/2 および Akt の S-ニトロソ化が低下し、インスリン抵抗性が改善されることが示されている [15, 16]。さらに、骨格筋培養細胞を用いた研究において、還元剤である DTT を *in vitro* で作用させることで S-ニトロソ化 Akt を還元 (脱ニトロソ化) すると、抑制されていた Akt の活性が元のレベルに回復することが示されている [8]。これらの研究結果から、iNOS 発現およびインスリンシグナルに関わるタンパク質の S-ニトロソ化の増加がインスリン抵抗性に関与するという考えが支持されている。

### 3. S-ニトロソ化の軽減を介した運動のインスリン抵抗性の改善効果

上述したように、iNOS 発現およびインスリンシグナルに関わるタンパク質の S-ニトロソ化がインスリン抵抗性に関与する重要な分子生物学的メカニズムであることが明らかにされつつある。すなわち、このようなタンパク質の S-ニトロソ化を軽減させることが、インスリン抵抗性を改善する新たな標的となる可能性が考えられる。しかしながら、運動によるインスリン抵抗性の改善に S-ニトロソ化の変化が関与しているか否かを示した研究は少ない。

我々の知る限り、インスリン抵抗性の改善に対する運動の効果をタンパク質の S-ニトロソ化の観点から検討した研究は、我々の研究を含めて 3 編のみである。Pauli ら [18] は、高脂肪食の摂取によりインスリン抵抗性を誘導した肥満ラットに対して、一過性の水泳運動を負荷したところ、肥満ラットの骨格筋においてインスリン抵抗性が改善し、この改善は iNOS 発現およびインスリンシグナルのタンパク質である IR、IRS-1 および Akt の S-ニトロソ化の減少と一致したことを報告している。運動は骨格筋における AMP-activated protein

kinase (AMPK) を活性化させ、この AMPK の活性化は iNOS の誘導および iNOS による NO 産生を減少させることが知られている [19]。肥満ラットの骨格筋においても、運動による iNOS 発現の減少は AMPK の活性化と一致していた。

さらに、我々は 2 型糖尿病のモデル動物である Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットに対して、回転ホイールを用いた自発走運動を 20 週間行わせ、肝臓における iNOS 発現および IRS-1、Akt の S-ニトロソ化を分析した。OLETF ラットは過食を呈し、肥満・2 型糖尿病になるが、20 週間の自発走運動により、肥満は抑制され、インスリン抵抗性も改善された [20]。また、OLETF ラットの肝臓において、20 週間の自発走運動により、iNOS 発現および IRS-1 および Akt の S-ニトロソ化が減少した (図 3)。さらに、OLETF ラットの肝臓において肝 TG 量の著しい増加とともに c-jun-N-terminal kinase (JNK) が活性化していたが、20 週間の自発走運動により肝 TG 量が減少し、JNK 活性が低下することを、我々は今回の研究で明らかにした。

インスリン抵抗性は肥満のみならず加齢によっても引き起こされるが、運動は加齢に伴うインスリン抵抗性を改善することが明らかにされている。Ropelle ら [14] は、老齢マウスに対して一過性の水泳運動を負荷し、インスリン抵抗性が改善したことを示しており、この改善においても、骨格筋における iNOS 発現および IR、IRS-1、Akt の S-ニトロソ化の減少が関与することを示している。このように、運動は iNOS 発現およびインスリンシグナルのタンパク質における S-ニトロソ化を軽減するのに十分な刺激となり得る可能性を示しており、運動がインスリン抵抗性を改善する新たなメカニズムとして、タンパク質の S-ニトロソ化の軽減が重要であることが示唆される (図 2B)。

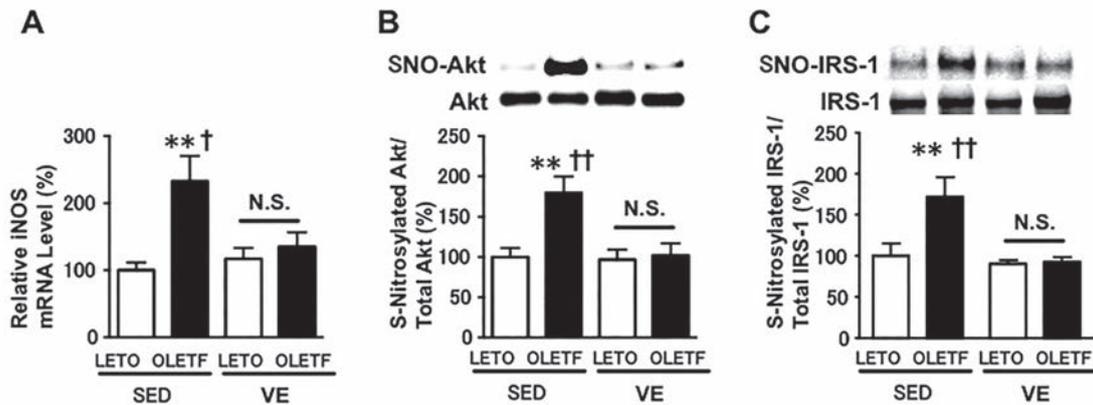


図3. 自発走運動が OLETF ラットの肝臓における iNOS mRNA 発現 (A) および Akt (B), IRS-1 (C) の S - ニトロソ化に与える影響

\*\* $p < 0.01$  versus sedentary LETO, † $p < 0.05$ ; †† $p < 0.01$  versus voluntary exercise OLETF. N.S.: not significant, LETO : Long-Evans Tokushima Otsuka. OLETF : Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty, SED : sedentary, VE: voluntary exercise (文献 20 より引用)

#### 4. 今後の展望

運動がインスリン抵抗性を主徴とする肥満や2型糖尿病などの生活習慣病の予防・改善に効果的であることが多くの研究により明らかにされてきた。本稿では、そのメカニズムの一部として、インスリンシグナルのタンパク質におけるS-ニトロソ化の軽減が関与する可能性について紹介してきた。しかしながら、運動は全身的な影響を有しており、筋収縮のみならず細胞内のエネルギーバランスの変化、血流の増加、酸化ストレスなど様々な要素を含んでいるため、運動により変化するどういった因子がこのような影響をもたらすのかを明らかにしていくことが重要である。また、我々は、iNOSがSirt1のS-ニトロソ化を介して炎症反応を増悪させることを明らかにした [21]。運動が慢性炎症を低下させるメカニズムとして、運動によるSirt1のS-ニトロソ化の減少が関与している可能性があり、今後の課題であると考えられる。さらに、前節で示した先行研究において、用いられている運動様式や強度、期間などが多岐にわたっているため、タンパク質のS-ニトロソ化の軽減にはどのような運動が効果的であるのかについてエビデンスを蓄積していきたい。さらに、運動は肥満や2型糖尿病だけでなく、がんや認知症にも効果的であると言われているため、他の疾患に対しても、運動の効果がタンパク質のS-ニトロソ化の変化を介するか否かについて検討していくことが重要であると考えられる。

#### 参考文献

- Blair SN, Kohl HW, 3rd, Paffenbarger RS, et al. Physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy men and women. *JAMA* 262: 2395-2401, 1989.
- Inoue M, Group JS. Impact of lifestyle on overall cancer risk among Japanese: the Japan Public

Health Center-based Prospective Study (JPHC Study). *J Epidemiol* 20: 90-96, 2010.

- Ohman H, Savikko N, Strandberg TE, et al. Effect of physical exercise on cognitive performance in older adults with mild cognitive impairment or dementia: a systematic review. *Dement Geriatr Cogn Disord* 38: 347-365, 2014.
- Colberg SR, Albright AL, Blissmer BJ, et al. Exercise and type 2 diabetes: American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Exercise and type 2 diabetes. Med Sci Sports Exerc* 42: 2282-2303, 2010.
- Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med* 49: 235-261, 1998.
- Benhar M, Forrester MT, Stamler JS. Protein denitrosylation: enzymatic mechanisms and cellular functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10: 721-732, 2009.
- Foster MW, Hess DT, Stamler JS. Protein S-nitrosylation in health and disease: a current perspective. *Trends Mol Med* 15: 391-404, 2009.
- Yasukawa T, Tokunaga E, Ota H, et al. S-nitrosylation-dependent inactivation of Akt/protein kinase B in insulin resistance. *J Biol Chem* 280: 7511-7518, 2005.
- Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 221: 220-235, 1995.
- Kaneki M, Shimizu N, Yamada D, et al. Nitrosative stress and pathogenesis of insulin resistance. *Antioxid Redox Signal* 9: 319-329, 2007.
- Minamino T, Orimo M, Shimizu I, et al. A crucial

- role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat Med* 15:1082-1087, 2009.
12. Martyn JA, Kaneki M, Yasuhara S. Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms. *Anesthesiology* 109:137-148, 2008.
  13. Shinozaki S, Choi CS, Shimizu N, et al. Liver-specific inducible nitric-oxide synthase expression is sufficient to cause hepatic insulin resistance and mild hyperglycemia in mice. *J Biol Chem* 286:34959-34975, 2011.
  14. Ropelle ER, Pauli JR, Cintra DE, et al. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against aging, S-nitrosation, and insulin resistance in muscle of male mice. *Diabetes* 62:466-470, 2013.
  15. Fujimoto M, Shimizu N, Kunii K, et al. A role for iNOS in fasting hyperglycemia and impaired insulin signaling in the liver of obese diabetic mice. *Diabetes* 54:1340-1348, 2005.
  16. Carvalho-Filho MA, Ropelle ER, Pauli RJ, et al. Aspirin attenuates insulin resistance in muscle of diet-induced obese rats by inhibiting inducible nitric oxide synthase production and S-nitrosylation of IRbeta/IRS-1 and Akt. *Diabetologia* 52:2425-2434, 2009.
  17. Perreault M, Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nat Med* 7:1138-1143, 2001.
  18. Pauli JR, Ropelle ER, Cintra DE, et al. Acute physical exercise reverses S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1 and protein kinase B/Akt in diet-induced obese Wistar rats. *J Physiol* 586:659-671, 2008.
  19. Pilon G, Dallaire P, Marette A. Inhibition of inducible nitric-oxide synthase by activators of AMP-activated protein kinase: a new mechanism of action of insulin-sensitizing drugs. *J Biol Chem* 279:20767-20774, 2004.
  20. Tsuzuki T, Shinozaki S, Nakamoto H, et al. Voluntary exercise can ameliorate insulin resistance by reducing iNOS-mediated S-nitrosylation of Akt in the liver in obese rats. *PLoS One* 10:e0132029, 2015.
  21. Shinozaki S, Chang K, Sakai M, et al. Inflammatory stimuli induce inhibitory S-nitrosylation of the deacetylase SIRT1 to increase acetylation and activation of p53 and p65. *Sci Signal* 7:ra106, 2014.