

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：17501  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2017～2020  
課題番号：17K01854  
研究課題名(和文) 肥満症における新たな認知機能関連脳内因子の解析

研究課題名(英文) Examination of cognitive factor in obesity

## 研究代表者

正木 孝幸 (Masaki, Takayuki)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：00423715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究で肥満症により変化する因子と認知機能との関係の解析を行い、肥満において認知機能を変化させる機序について解析した。研究概要として肥満症と通常食群のモデルを用いて記憶能について解析した。通常食群と肥満症群をY字迷路へ挿入して空間作業記憶の解析した所、肥満症群において通常食群と比較して記憶能の低下を認めた。また受動的回避検査で肥満症群において受動的回避解析装置の暗室に入る潜時の短縮所見を認めた。併せて肥満症群では視床下部内のTNF-alphaの上昇所見を認めた。これらの結果より肥満症マウスでは視床下部TNF-alphaの上昇と認知機能が低下する可能性が示唆された。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国では中高年男性を中心に肥満症は増加している。またアルツハイマー型認知症など認知症が増加している。近年の研究では認知症において、肥満が一因となり認知機能の低下へ繋がる可能性が報告されている。今回の研究では肥満症により変化する因子と認知機能との関係の解析を行い、肥満において認知機能を変化させる因子について解析することである。今回の研究により、認知症における肥満の関連について、特に脳内の視床下部因子についての知見を調べるところに学術的意義や社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Dementia including Alzheimer's dementia increases in Japan. Obesity contributes for dementia and leads to the cognitive dysfunction has been reported. I analyzed a factor and the relation with the cognitive function in the obesity. I made an obesity mouse and a mouse of the normal meal group and 60% of high-fat meal group as an obese model. Y-shape maze inspection and the passive avoidance inspection were used to examine the cognitive function in those each model. The cognitive function assessed by Y-shaped maze was decreased in obesity group compared with normal groups. In addition, the passive avoidance inspection also revealed similar results. Furthermore, TNF-alpha level in the hypothalamus was increased in obesity models. In conclusion, the hypothalamic TNF-alpha might be related with cognitive dysfunction in obesity.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：肥満症 認知症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー型や脳血管性認知症など認知症が近年増加し医学的にも社会的にも問題になっている。また認知症においては肥満が一因となり認知機能の低下へ繋がる可能性が報告されている。我々は以前、肥満糖尿病患者においてインスリン抵抗性の指標の HOMA-R が大脳白室病変に関係していることを報告した(Diabetes Care. 2011;34:e132)。また大脳白室病変と脂肪由来因子のアディポネクチンが海馬萎縮とも関係していることも報告してきた(Metabolism. 2012;61:1197-200)。その後、他の報告でもアディポネクチンは脳へ作用し認知機能に影響を及ぼす可能性が示唆されている(J Alzheimers Dis. 2018;66:1255)。しかし肥満症がそのように認知機能を変化させるのか、またどのような因子が認知症と関連についての詳細な機序は未だ不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

今回の研究の目的は、肥満により変化する因子の解析を行うこと、特に認知機能の変化と併せて脳内の視床下部内の因子について調べることが目的である。まず肥満モデルとして代表的なモデルである 60%高脂肪食誘導性の肥満症マウスと併せて 1 日の食事量を制限して減量させた肥満マウスと通常食群のマウスを用いた。それらの各モデルにおいて認知機能生理学的検査である Y 字迷路検査と受動的回避検査併せて脳視床下部内の因子の解析を行う。Y 字迷路検査においては、マウスは一度入った Y 字迷路の同じ場所に入ることはなく違う所へ入る習性があることより、Y 字迷路ではマウスの自発行動量と空間作業記憶を測定することが可能になる。そして受動的回避解析では電気刺激回避の記憶によりマウスの短期・長期記憶能力を測定することが可能になる。併せて各モデルにおいて脳視床下部内の因子として腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )について解析する。

### 3. 研究の方法

肥満症モデルとして高脂肪食誘導性の肥満モデルを作成した。マウスを通常食群、市販されている 60%の高脂肪食(リサーチダイエツ社)を負荷した肥満症群、また制限給餌で肥満を一部改善した減量群の 3 群に分けて認知機能についてそれぞれ解析した。通常食は CE-2 を用いて、高脂肪食は 60%の高脂肪食を 4 週間投与して肥満症モデルとした。制限給餌は高脂肪食の 7 割の給餌で行った。

認知機能の解析方法としては認知機能検査の一つである Y 字迷路の解析を行った。Y 字迷路の解析は市販の装置を用いて行った。手前側のアーム、左奥のアーム、右奥のアームで手前のアームにマウスを置き自由に 10 分間移動させマウスのアームへの進入回数を記録した。マウスの後ろ足がアームに入った状態を進入とし総自発行動回数を 10 分間移動の中でのアームへの総進入回数から求めた。Y 字迷路による空間作業記憶は 10 分間移動の中で 3 回連続して異なるアームへ進入した回数をアームへの総進入回数からの割合で求めた。

次に受動的回避解析は以下の方法で行った。受動的回避解析装置を用いて明るい方のチャンパーの方へマウスを入れ、チャンパー内での探索行動をおこさせた。次に暗いところを好む習性を利用し暗いチャンパーに入って落ち着くようにした。上記を 3 日繰り返し暗いチャンパー内に入るまでの時間が一定に短くなるように馴れさせた。馴化した後にマウスが暗いチャンバ

ーに入ったタイミングで明暗チャンバーの間のシャッターを閉めて電気刺激を与えシャッターを再度開けるという実験を通して短期の記憶学習能力の評価をした。その1日後、1か月後と間を空けて同じマウスを同じ明るいチャンバーに入れてみて長期の記憶維持の評価とした。

最後に脳内の視床下部因子について解析を進めた。視床下部内因子の変化の解析では各モデルで視床下部内の TNF-alpha 等についての変動解析を組織の ELISA 法など用いて解析した。ELISA 法はキットを用いて解析した。視床下部内因子の変化の解析では各種モデルで通常モデル、制限給餌群と肥満モデル群の視床下部における抽出した凍結サンプルの蛋白の濃度割合として比較検討した。

#### 4. 研究成果

肥満モデルとして体重が通常食群の平均体重は 25 g、60%の高脂肪食を負荷した肥満群の平均体重は 34g、また制限給餌で肥満を一部改善した減量群の平均体重は 28g になった。

認知機能の解析方法として各モデルにおいて Y 字迷路の解析は手前側のアーム、左奥のアーム、右奥のアームで手前のアームにまずマウスを置き自由に 10 分間移動させマウスのアームへの進入回数を記録した。そして空間作業記憶として 10 分間移動の中で 3 回連続して異なるアームへ進入した回数をアームへの総進入回数からの割合で求めた所、通常食群は平均値 51.1%、60%の高脂肪食を負荷した肥満群の平均値は 37.4%、また制限給餌群の平均値は 49.1% であり、肥満群が通常食群、制限給餌群と比較して低い結果となった。

次に受動的回避解析は 3 日繰り返し暗いチャンバー内に入るまでの時間が一定に短くなるように馴れさせ馴化した後にマウスが暗いチャンバーに入ったタイミングで明暗チャンバーの間のシャッターを閉めて電気刺激を与えシャッターを再度開けるという記憶学習をさせその 1 日後と 1 か月後に間を空けて同じマウスを同じ明るいチャンバーに入れてみた時の潜時間で評価した。1 日後の潜時は通常食群は平均値 94 秒であり、肥満群が 89 秒、制限給餌群が 90 秒で、そして 1 ヶ月後の潜時は通常食群は平均値 75 秒であり、肥満群が 67 秒、制限給餌群が 70 秒であった。肥満群が 1 日後の潜時は通常食群、制限給餌群と比較して 5 秒、1 秒短く、1 ヶ月後は 8 秒、3 秒短かい結果となった。

最後に各モデルで視床下部内の TNF-alpha についての変動を解析した。ELISA 法で視床下部内因子 TNF-alpha の変化の解析では通常食群が 1.33r.a.u、肥満群の視床下部内因子 TNF-alpha が 2.18r.a.u、制限給餌群の視床下部内因子 TNF-alpha が 1.73r.a.u であった。肥満群の視床下部内因子 TNF-alpha は通常食群、制限給餌群の視床下部内因子 TNF-alpha と比較しておよそ 64%、24%増加した。

今回、通常食群、肥満群また制限給餌群を Y 字迷路へ挿入して空間作業記憶について、受動的回避装置へ挿入して刺激後の暗室に入る潜時について解析した。Y 字迷路検査では空間作業記憶は肥満群において通常食群、制限給餌群の間で低下方向であった。受動的回避検査では肥満群において通常食群、制限給餌群の間で潜時の短縮方向を認めた。肥満群と通常食群、制限給餌群の間で脳内の炎症マーカーである TNF-alpha の測定では、肥満群と通常食群、制限給餌群と比較して視床下部内の TNF-alpha の上昇所見を認めた。以上をまとめると、肥満群は通常食群、制限給餌群と比較して認知機能の低下を認め視床下部内の TNF-alpha 上昇が関係している可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ozeki Y, Masaki T, Yoshida Y, Okamoto M, Anai M, Gotoh K, Endo Y, Ohta M, Inomata M, Shibata H.	4. 巻 66
2. 論文標題 Relationships between computed tomography-assessed density, abdominal fat volume, and glucose metabolism after sleeve gastrectomy in Japanese patients with obesity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocr J	6. 最初と最後の頁 605-613
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1507/endocrj.EJ18-0543	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Y, Gotoh K, Masaki T, Ozeki Y, Tokoro M, Kudo A, Ozaki T, Okamoto M, Chiba S, Watanabe K, Ohta M, Inomata M, Shibata H.	4. 巻 27
2. 論文標題 Effects of Sleeve Gastrectomy on Blood Pressure and the Renal Renin-Angiotensin System in Rats with Diet-Induced Obesity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Obesity (Silver Spring)	6. 最初と最後の頁 785-792
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/oby.22443	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ozeki Y, Masaki T, Yoshida Y, Okamoto M, Anai M, Gotoh K, Endo Y, Ohta M, Inomata M, Shibata H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Bioelectrical Impedance Analysis Results for Estimating Body Composition Are Associated with Glucose Metabolism Following Laparoscopic Sleeve Gastrectomy in Obese Japanese Patients.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E1456-1460
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu10101456	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 正木孝幸、後藤孔郎、柴田洋孝
2. 発表標題 糖尿病における臓器連関 脳と消化管について：GLP-1 の作用を中心に
3. 学会等名 第57回糖尿病九州地方会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 正木 孝幸
2. 発表標題 GLP-1受容体作動薬-大規模臨床試験と糖尿病臨床における位置づけ
3. 学会等名 第56回日本糖尿病学会九州地方会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤孔郎、安藤久恵、吉田雄一、尾関良則、岡本将英、穴井学、岡本光弘、正木孝幸、加隈哲也、柴田洋孝
2. 発表標題 肥満による代償性膵島過形成に対するGLP-1の中樞神経を介した改善作用
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田雄一、後藤孔郎、正木孝幸、松田直樹、森優美、森田真智子、白石賢太郎、尾関良則、穴井学、岡本光弘、渡辺公紀、太田正之、柴田洋孝
2. 発表標題 袖状胃切除術による高血圧改善機序の解明
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤孔郎、吉田雄一、尾関良則、岡本将英、岡本光弘、正木孝幸、加隈哲也、柴田洋孝
2. 発表標題 グルカゴン分泌調節におけるGLP-1と脳由来神経栄養因子との関連
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 後藤孔郎、吉田雄一、尾関良則、岡本将英、岡本光弘、正木孝幸、柴田洋孝
2. 発表標題 臓器間ネットワークを介したグルカゴンの分泌制御
3. 学会等名 第27 回日本病態生理学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	後藤 孔郎 (Gotoh Koro)  (10457624)	大分大学・医学部・講師  (17501)	
研究分担者	柴田 洋孝 (Shibata Hirotaka)  (20245484)	大分大学・医学部・教授  (17501)	
研究分担者	加隈 哲也 (Kakuma Tetsuya)  (80343359)	大分大学・保健管理センター・准教授  (17501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------