

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17877

研究課題名（和文）生活習慣病における自律神経活動の特徴とそれに関連する因子の検討

研究課題名（英文）Characteristics of autonomic nervous activity and related factors in metabolic syndrome.

研究代表者

岩田 慎平（Iwata, Shimpei）

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：10749526

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：2型糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウスは食欲抑制ホルモンであるレプチンの作用が得られず、食行動異常をきたす。レプチンは自律神経にも関連しており、今回、我々はdb/dbマウスの行動やエネルギー代謝に対する運動の効果を観察した。通常マウスにおいては明期で脂質を、暗期で糖質をエネルギー基質としていたのに対し、db/dbマウスのエネルギー代謝は明期、暗期ともに糖質を基質としていた。明期最後にdb/dbマウスへ運動介入を行ったところ呼吸商が低下し、さらに活動パターンにも変化が生じており、運動療法が糖尿病患者の生活リズムを改善させることにつながることを示唆する結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病や肥満といった生活習慣病は近年増加傾向にあり、生活リズムの乱れにより自律神経活動の乱れを生じている。食事療法に加えて運動療法は生活習慣病の予防や治療の基本となるが、運動の実践率は十分ではなく、その原因として社会生活を営む上で時間の余裕がないことが挙げられる。今回、限られた時間で効率の良い運動を見出すべく、糖尿病マウスに対して時間を決めて運動を行わせることでエネルギー代謝の効率を改善させた。今回は明期の最後、人の生活における明け方に運動を行っており、早朝の運動が生活習慣病の予防および治療に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The db/db mouse is a leptin receptor knockout mouse and is used as animal model for type 2 diabetes. Leptin, the appetite-suppressing hormone, does not work, causing abnormal eating behavior. Leptin is also involved in the autonomic nerves and causes abnormal activity. We observed the effects of exercise on behavior and energy metabolism to db/db mouse. In the control mouse, fatty acid was used as an energy substrate in the light period, and glucose was used as an energy substrate in the dark period. However, db/db mouse always used glucose for energy metabolism. Exercise in light phase reduced respiratory quotients and changed activity patterns. This suggests that exercise may improve the rhythm of life in type 2 diabetes.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：運動 概日リズム 糖代謝 肥満

1. 研究開始当初の背景

近年、糖尿病や肥満などの生活習慣病が急増し、それを原因とした心血管疾患の増加が社会的問題として大きく取り上げられている。平成 28 年国民健康・栄養調査では「糖尿病が強く疑われる者」が約 1,000 万人と推計され、肥満者(BMI \geq 25kg/m²)は男性 31.3%、女性 20.6%に認められる。肥満糖尿病の予防・治療において、運動は食事と並んで重要な役割を果たすが、運動習慣のある者の割合は男性で 35.1%、女性で 27.4%に留まり、1 日歩数の平均値は男性で 6,984 歩、女性で 6,029 歩と、いずれもこの 10 年間で増加は認めていない。これらの結果は、現在の社会において運動の習慣化が容易でないことを表している。また、睡眠による休養が十分にとれていない者の割合が 19.7%と 10 年前に比較し有意に増加していることも指摘されている。コンビニエンスストアや交代制勤務(いわゆる Shift worker)などにより、夜間でも活動をするような生活環境の多様化は、「社会的時差ボケ(Social jet lag)」の原因となる。この社会的時差ボケは慢性的な睡眠障害を引き起こし、交感神経の持続的な緊張状態が惹起され、その結果血糖値を上昇させ、さらに食欲増加にもつながることで糖尿病や肥満などの生活習慣病の重要な原因となる。

最近の研究では、肥満や糖尿病の発症に Bmal1 や Clock などの時計遺伝子が関与しているとする報告がなされた。2 型糖尿病患者では末梢白血球における時計遺伝子 mRNA 発現量やそのリズムが非糖尿病患者と異なるという報告がなされ、概日リズム異常と糖代謝異常や肥満の間に密接な関係が存在することが明らかとなった。従って、肥満や糖尿病の治療において、食事パターンを含めた生活リズム異常を改善させることが病態の根本的な改善につながる可能性が示唆されている。しかしながらこれまでの研究においては、生活習慣病における生活リズム異常の重要性およびそれに対する適切な生活介入に関する報告はほとんどない。

2. 研究の目的

生活習慣病患者や肥満者で自律神経リズムの異常が認められるか否か、生活習慣介入、特に運動介入によりこれらの異常が是正されるか否か、さらにそのメカニズムとして時計遺伝子の関与を解明し、新たな生活習慣病治療法開発の分子基盤を確立することが本研究の目的である。我々のこれまでの結果より、生活習慣病患者で自律神経活動異常や睡眠障害が認められ、運動介入による改善効果が期待できる。しかしながら、これまで生活習慣病患者における自律神経活動の変容メカニズムを詳細に解析した研究はなく、運動介入による改善の分子メカニズムは不明である。

3. 研究の方法

本研究は生活習慣病患者や肥満者における自律神経リズム異常と運動介入による変化を観察することを目的としたが、それらは生活環境や年齢、性別など様々な要因で変化するため、同一患者においても再現性のある自律神経リズムを観察することが容易ではなく、介入の効果まで観察することは困難であった。そのため、モデル動物を用いて行うことが本研究を進める上で有効であると考えた。

自律神経活動に影響を与えるホルモンとしてレプチンがあり、レプチン受容体欠損マウスである db/db マウスは 2 型糖尿病モデルマウスとして広く用いられている。db/db マウスは、本来マウスで観察される明暗の活動リズムが消失している。そこで今回我々は db/db マウスに対する運動介入がエネルギー代謝や活動に与える影響を検討した。

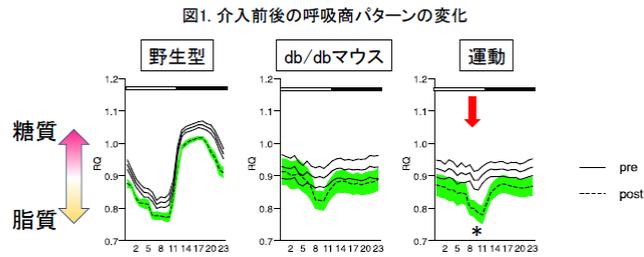
8 週齢の db/db マウスを対象群と運動群にわけ、2 週間の観察期間の後に 4 週間の介入を行った。また、野生型マウスとして db/+マウスを用いた。運動介入はトレッドミル運動を週 5 日行い、10~15m/分の速度で行った。12 時間毎の明暗サイクルで飼育を行い、午前 7 時から午後 7 時を明期と設定し、人の生活における早朝運動を観察することを目的として、明期の最後にあたる午後 6 時に運動介入を行った。観察期間および介入期間中はエネルギー代謝測定用チャンバー(アルコシステム)内で飼育を行い、観察期間にあたる 9 週齢と介入期間にあたる 13 週齢において、3 日間の摂餌量、活動量および呼気ガス分析による呼吸商測定を行い、それらを時間毎に平均化し、エネルギー代謝および活動についての 24 時間のパターンを観察した。

4. 研究成果

(1) エネルギー代謝への影響

エネルギー代謝の観察には呼吸商を用いた。糖質がエネルギー基質として用いられる場合、呼吸商は 1.0 に近づき、脂質がエネルギー基質として用いられる場合は呼吸商が 0.7 に近づく。本来、マウスは夜行性であるため、暗期に摂餌することからその間は糖質代謝が促進される。反対に明期では摂餌行動がみられないことから脂質代謝が促進する。すなわち、呼吸商にもリズムが形成される。野生型マウスでは明期に呼吸商が徐々に低下し、明期後半には 0.8 を下回り、暗期に入ると速やかに呼吸商が上昇した。しかしながら、db/db マウスは明期でも呼吸商が高い状態

で持続し、エネルギー代謝のパターンに変化がみられなかった。これは db/db マウスが明期でも暗期と同様に摂餌行動を起こし、糖質代謝が24時間にわたって促進されていたことを示唆していると考えられる。それに対し、db/db マウスに対する運動介入は介入後に呼吸商を有意に減少させ(図1)、運動介入によりエネルギー代謝に影響を与えたことが示された。すなわち、運動介入は生体におけるエネルギー基質として脂質の利用を促進することが示された。



(2) 摂餌量への影響

上記の通り、エネルギー代謝に運動は影響を与え、生体内で利用されるエネルギー基質を変化させたと考えられた。しかしながら、この結果については運動によりエネルギー消費が亢進したことによる影響とも解釈できる。運動が自律神経活動や生体リズムに影響を与えているとすれば摂餌行動にも影響を与えていることが示されるべきである。今回用いたチャンバーは餌箱の重量を24時間測定することで摂餌量だけでなく、摂餌の時間やパターンの測定が可能であり、その機能を用いて摂餌量の観察を行った。図2に各群1個体の介入期間における摂餌パターンを示す。野生型では明期にはほとんど摂餌行動がなく、暗期に摂餌行動が認められている。それに対しdb/db マウスでは暗期の摂餌量が増加していることに加えて、明期の摂餌量の増加も見られている。そこに運動介入を行うことで明期の摂餌量が減少し、摂餌行動のパターンが生じている。図3に各群4個体ずつの摂餌量を3時間毎に分けて平均化したものを示す。db/db マウスでは明期と暗期でパターンを形成せず常に摂餌行動を認めているのに対し、運動介入を行った db/db マウスでは明期の摂餌量が減少し、暗期の摂餌量が増加した。すなわち、呼吸商の変化は単に運動による消費だけでなく、摂餌行動のパターンが変化したことによるエネルギー基質の変化により生じたことが示された。

図2 介入後半における摂餌量

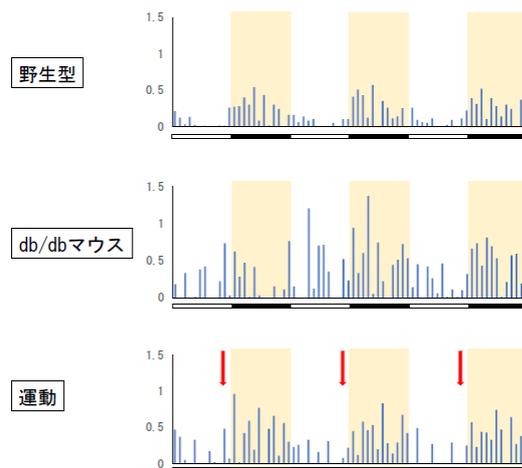
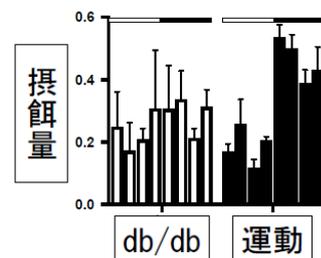


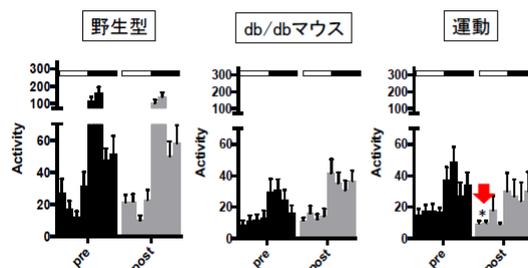
図3 摂餌パターンの比較



(3) 活動パターンへの影響

これまでの結果から、運動は糖尿病モデルマウスに対してエネルギー代謝に影響を与えるだけでなく、摂餌行動にも影響を与えることが示された。前述の通り、db/db マウスは活動パターンの明暗リズムが消失していることが特徴の1つであり、その要因は摂餌行動の乱れであると考えられている。すなわち、運動により摂餌行動のパターンが是正されたことから活動パターンにも変化がみられる可能性が考えられた。本研究では赤外線を用いてマウスの活動を観察し、そのパターンが介入によりどのような変化をきたすかどうかを検証した。その結果を図4に示す。野生型マウスでは明期で活動量が低下し、暗期に活発に動くパターンを示した。それに対し db/db マウスは明期の活動量は野生型と同程度であるが、暗期の活動が減少し、結果として活動の明暗リズムが消失していた。そこに運動介入を行ったところ、明期の活動量が減少し、暗期の活動量は変化しなかった。この結果より運動介入により活動の明暗リズムが生じたと考えた。

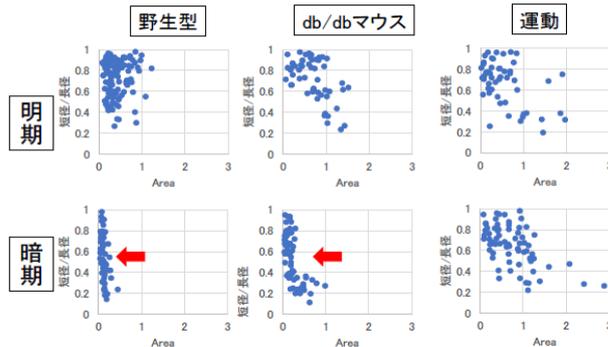
図4 活動パターンの変化



(4) エネルギー代謝とミトコンドリアの形態変化

ミトコンドリアは細胞内でエネルギー(ATP)を産生する重要な細胞内小器官である。正常の細胞において、ミトコンドリアは糖利用が促進すると分裂し小型化し、飢餓状態となるとそれらが融合して大型化する。小型化したミトコンドリアが融合する際に機能不全に陥ったミトコンドリアは分解され、それによりミトコンドリアの機能維持が行われている。この変化には時計遺伝子が関与していることがわかっており、概日リズム異常がこの変化を妨げる可能性が考えられている。今回の検討では運動がエネルギー基質の利用に変化を及ぼしたことから、ミトコンドリアの形態にも変化が生じている可能性が考えられた。今回介入を行ったマウスをそれぞれ明期、暗期に各群 1 個体ずつ解剖を行い、肝細胞におけるミトコンドリアの形態について電子顕微鏡を用いて観察した。観察されたミトコンドリアについて面積および短径/長径比を測定し、各群における 1 細胞内のミトコンドリアについてパターンを評価した(図 5)。

図5 ミトコンドリアの形態変化



野生型では明期のミトコンドリアが暗期に比較して大型化しており、暗期には摂餌により糖代謝が促進され分裂していることが示された。db/dbマウスにおいても同様に明期で大型化し、暗期で小型化するパターンは維持されていたが、運動介入を行った群では暗期のミトコンドリアが小型化しておらず、ミトコンドリアの分裂が認められなかった。この結果は運動介入により概日リズムが是正されることを期待した当初の目的と反した結果であった。

我々はこの結果について、今回行った介入のタイミングの影響を考えた。呼吸商におけるエネルギー代謝のパターンでは野生型において、明期の始めに呼吸商が下降し、暗期では呼吸商が上昇するパターンを示したのに対し、運動介入では運動介入を行ったタイミングで下降していた。すなわち、エネルギー代謝を脂質代謝にシフトするタイミングのずれが生じていたため、ミトコンドリアの形態にもずれが生じたと考えられた。今回の検討は人の生活における早朝運動を想定して運動介入を行ったが、概日リズムの是正という点においては好ましくない時間帯である可能性がある。今後、運動介入のタイミングを変えた介入や介入方法を変えた試験を行うことで概日リズムとの関連を明らかにし、生活習慣病の予防および治療に有効な運動療法を確立させたいと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩田 慎平
2. 発表標題 db/dbマウスのエネルギー代謝に対する運動およびSGLT2阻害薬の影響
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------