

平成 22年 5 月 14 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20591040
 研究課題名 (和文) 代謝の老化反応と制御機構
 研究課題名 (英文) Age-associated changes in metabolic responses and the regulatory system.
 研究代表者 野々垣 勝則 (NONOGAKI KATUNORI)
 東北大学・未来医工学治療開発センター・教授
 研究者番号：60370988

研究成果の概要 (和文)：

C57BL6Jマウスに絶食状態で急性Social isolationストレスを負荷すると血中活性型グレリン濃度の上昇と内臓脂肪量の低下を伴う体重の減少を認めたが、これらの反応は加齢に伴い消失した。この年齢依存的代謝反応の制御には視床下部SGK1とレプチン依存性自律神経系が関与する。絶食後、re-feedingによる体重の戻り反応は加齢により増加するが、 β -endorphin欠損は抗加齢反応を呈した。5-HT_{2C}受容体機能は加齢に伴い変化し、中年期以降にはSocial isolationによる体重減少を増強した。

研究成果の概要 (英文)：

Social isolation enhanced fasting-induced weight loss and suppressed weight gain induced by re-feeding for 6 days following a 24-h fast in prepubertal wild-type mice. Under the same housing condition, genetic deletion of beta-endorphin reduced the fasting-induced weight loss and enhanced the re-feeding-induced weight gain in prepubertal mice. These effects of social isolation or genetic deletion of beta-endorphin on these weight changes were attenuated and reversed in postpubertal mice. Moreover, genetic deletion of beta-endorphin attenuated these effects of social isolation on the catch-up weight gain in prepubertal mice and reversed them in postpubertal mice. Thus, social isolation, endogenous beta-endorphin, and age can be novel modulators for body weight changes induced by fasting and re-feeding in mice. Despite no changes in plasma des-acyl ghrelin and the expression of hypothalamic neuropeptide Y and proopiomelanocortin, plasma active ghrelin levels and the expression of hypothalamic SGK-1 were increased in the acute-isolated C57BL6J mice. Injection of SGK-1 small interfering RNA oligonucleotide into the third cerebral ventricle suppressed the acute social isolation-induced decreases in body weight and increases in plasma active ghrelin levels. Pretreatment with phentolamine significantly suppressed the decreases in body weight. These findings suggest that hypothalamic SGK-1 contributes to the isolation stress-induced body weight reductions and increases in plasma active ghrelin levels via, at least partly, altered central autonomic outflow in mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：代謝学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：(1)代謝 (2)加齢 (3)絶食 (4)体重 (5)脂肪 (6) Social Isolation (7)グレリン (8)エンドルフィン

1. 研究開始当初の背景

国民の健康問題として重視されているメタボリックシンドローム (MS) は加齢に伴い増加傾向にあるため、遺伝素因に加え環境因子の影響が大きい。寿命や健康に大きな影響を及ぼす環境因子として一人暮らしがある。高齢化が進む日本社会では一人暮らしが増えつつある。しかし、一人暮らしと MS との関係は未だ不明である。両者の関係から加齢による MS 発症のメカニズムの背景に潜む代謝の老化反応とその制御機構を見出すことは、MS を減少させる新たな医療の創生につながる事が期待される。

平成 14 年の内閣府の調査によると、65 歳以上の男性の約 15-16% が自分の問題に関して相談相手が不在、または、近所づきあいが無いといった孤立状態にある。米国でも Social Isolation は増加傾向にあり、4 人に 1 人の米国人は自分の問題を相談できる相手が不在と答えている。

これは 1985 年に比べ 2 倍以上に及ぶ。こうした Social Isolation や Social support の欠如が死亡率や心疾患、高血圧、脳卒中、慢性関節リウマチなどの健康障害に関連があることが知られている。一方、加齢に伴う生体现象としてエネルギー代謝の変化がある。近年、問題視されているメタボリックシンドロームは加齢と共に増加傾向にあり、中年期からの過体重は血管障害のリスクを高め、寿命や QOL に影響を及ぼす。

申請者らは Social Isolation と加齢によって誘発されるストレス性肥満・2 型糖尿病モデルマウスおよびその作成法を世界で初めて見出した (特願 2007-015631、Endocrinology 2007)。

5 週齢の雄性 C57BL6J マウスと KK マウス、KK A^y マウスを 3-4 匹の集団飼育にした場合と 1 匹の個別飼育にした場合とで 3 週間に渡り発育経過を観察したところ、C57BL6J マウスは 6 日までは個別飼育群は集団飼育群に比べ体重が減少したが、1 週間後-3 週間後には体重差はなかった。一方、KK マウスや KK A^y マウスでは 1 週間後には両飼育群間で体重差がなかったが、2 週間と 3 週間後には個別飼育群の方が集団飼育群よりも体重が有意に増加し、内臓脂肪量の増加を伴っていた。更に、個別飼育した KK A^y マウスでは肝糖新生の亢進を伴う高血糖状態になったが、集団飼育群では血糖は正常に保たれた (Endocrinology 2007)。両群の摂食量は 2 週間まで差はなく、3 週目にやや個別飼育群で摂食量が増加する。よってこの肥満はエネルギー消費の低下が原因で生じ始め、後に

軽度の過食が加わり誘発されると判明した。

このような KK 系統マウスにおける Social Isolation-induced Obesity (SIO) は、高レプチン血症を伴い視床下部でレプチン受容体の遺伝子発現が軽度低下するものの、血中インスリン濃度は正常で、活性型グレリン濃度の低下を伴う。集団飼育で肥満になった 9-10 週齢のレプチン受容体変異マウス (db/db) を個別飼育化すると、摂食量と体重が減少することから、SIO はレプチン非依存性肥満であり、代償的に視床下部でレプチン受容体遺伝子発現が増加しているものと思われる。

2. 研究の目的

本研究課題では Social isolation によるエネルギー代謝の老化反応とその制御機構の解明を目的とする。更に、新たな Social isolation ストレス感受性候補遺伝子を探索し、末梢グレリンの変化との関係、レプチン依存性経路との関係、加齢による代謝応答の変化との関係について検討することを目的とする。

3. 研究の方法

摂食の影響を除外するために (1) 絶食にして Social isolation ストレスのエネルギー代謝に対する急性効果とその機序を同定し、(2) 次に餌を与えて 1 週間、体重の変化と摂食量を若いマウスと加齢したマウスで観察する。

(3) 前記 (1) (2) における代謝反応においてレプチンシグナル伝達の要となる視床下部弓状核 POMC ニューロンに入出力するシグナルとして、POMC ニューロンから産生される μ -endorphin と POMC ニューロンにシグナル伝達されるセロトニン 5-HT_{2C} 受容体の役割を同定する目的で、 μ -endorphin 欠損マウスと 5-HT_{2C} 受容体欠損マウスを産生させ、野生群と比較して Social Isolation に対する急性代謝反応を解析する。

4. 研究成果

(1) Social Isolation と絶食ストレスによる代謝反応の年齢依存性変化と μ -endorphin の役割

24 時間絶食による体重の変化における Social isolation、加齢、 μ -endorphin の役割を検討した。5 週齢の C57BL6J 雄性マウスでは急性 Social isolation ストレスにより血中活性型グレリン濃度の上昇と内臓脂肪量の低下を伴う体重の減少を認めたが、10 週齢の同マウスでは活性型グレリンの変化、

体重と内臓脂肪量の変化が消失した。

POMCから分泌される \cdot -endorphinの欠損マウスでも急性 Social isolation ストレスによる体重減少反応は5週齢で同様に認められ、10週齢で消失したことより、この代謝反応は \cdot -endorphinを介していないことが示唆された。但し、野生群と比べると \cdot -endorphin欠損マウスでは飼育環境に関係なく24時間絶食後の体重減少反応が有意に低下した。

(2) Social Isolation と絶食ストレス後 re-feeding による代謝反応の年齢依存性変化と \cdot -endorphinの役割

24時間絶食後、re-feedingによる体重の戻り反応 (Catch-up weight gain) における Social isolation、加齢、 \cdot -endorphinの役割を検討した。“Catch-up weight gain”は加齢により増加する。また、Social isolationはこの“Catch-up weight gain”に対して5週齢では抑制し、10週齢では反対に増強する。 \cdot -endorphin欠損マウスではこの Social isolationの“Catch-up weight gain”に対する効果が5週齢では消失し、10週齢では反対に抑制する。これらの結果から、 \cdot -endorphin欠損は“Catch-up weight gain”に対して抗加齢反応を呈することが示唆された。

(3) Social isolationによる急性代謝反応と Catch-up weight gain におけるレプチン非依存的中枢性制御機構

5週齢のC57BL6J雄性マウスでは絶食状態で急性 Social isolation ストレス負荷により視床下部 SGK1 遺伝子発現の2倍以上の増加を認めたが、10週齢の同マウスではこれらの反応はすべて認められなかった。この脳内制御機構を解明するため、視床下部における遺伝子発現を RT-PCR で定量したが、レプチンシグナル伝達に関わるペプチド群の遺伝子発現やセロトニン受容体の発現には変化が認められなかった。

次に、5-HT2C受容体欠損マウスで同ストレス負荷試験を施行した結果、急性 Social isolationによる代謝反応は5-HT2C受容体を介していないことが示唆された。

そこで SGK-1siRNA oligonucleotide を第三脳室に注入後、同ストレス負荷試験を施行した結果、Social isolation ストレスによる体重減少、内臓脂肪量低下、活性型グレリン濃度上昇等の急性反応の抑制が認められた。これらの結果より脳内 SGK1 が Social isolation ストレス反応に関与することが示唆された。

更に、この体重減少反応は α -ノルアドレナリン受容体拮抗薬であるフェントラミンノ前投与で減弱することから、交感神経系 α -ノルアドレナリン受容体が関与していることが示唆された。従って脳内 SGK1

が自律神経系を変調させている可能性がある。このように年齢依存的代謝反応の制御には視床下部 SGK1 と自律神経系が関与しているが、この制御は“レプチン非依存性神経伝達経路”によることが示唆された。

肥満のない若い 5-HT2C 受容体欠損マウスと野生群の間では Social isolation による体重減少と re-feeding による体重増加に有意な差は認められなかったが、肥満を伴った6カ月以降の 5-HT2C 受容体欠損マウスや MC4 受容体欠損マウスでは Social isolation による体重減少が増強し、re-feeding による体重増加も野生群よりも有意に抑制された。以上のことから、加齢により 5-HT2C 受容体と MC4 受容体機能は変化して、中年期以降には Social isolation による体重減少を増強することが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Kaji T, Nonogaki K. Contribution of central SGK-1 to the acute phase responses of mice to social isolation. *Frontiers in Bioscience* 2010 in press. 査読有

2. Nonogaki K, Kaji T. Hypothalamic orexin and proopiomelanocortin activities are essential for the anorexic effects of m-chlorophenylpiperazine in mice. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2010 in press. 査読有

3. Nonogaki K, Ohba Y, Sumii M, Wakameda M, Tamari T Novel Modulators for body weight changes induced by fasting and re-feeding in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 378: 249-254, 2009 査読有

4. Nonogaki K, Ohba Y, Sumii M, Oka Y. Serotonin 5-HT2C receptor-independent expression of hypothalamic NOR1, a novel modulator of food intake and energy balance, in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 386: 311-315, 2009 査読有

5. Nonogaki K, Ohba Y, wakameda M, Tamari T Fluvoxamine exerts anorexic effect in 5-Ht2C receptor mutant mice with heterozygous mutation of beta-endorphin gene. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 12: 547-552, 2009 査読有

6. Nonogaki K, Ohba Y, Wakameda M, Tamari T Fluvoxamine exerts anorexic effect in

5-HT2C receptor mutant mice with heterozygous mutation of beta-endorphin gene. Int J Neuropsychopharmacol. 12: 547-552, 2008 査読有

7. Nonogaki K, Ohba Y, Sumii M, Oka Y. Serotonin systems upregulate the expression of hypothalamic NUCB2 via 5-HT2C receptors and induce anorexia via a leptin-independent pathway in mice. Biochem Biophys Res Commun. 372:186-190, 2008 査読有

8. Nonogaki K Ghrelin and feedback systems. Vitam Horm. 77:149-170, 2008 査読有

9. Nonogaki K Serotonin and noradrenalin uptake inhibitors and appetite regulation: The role of the central 5-HT network. Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry 8: 303-310, 2008 査読有

[学会発表] (計 3 件)

1. 野々垣勝則 中高年肥満・2型糖尿病患者に対するフォーミュラ食の介入効果日本肥満症治療学会学術集会平成21年7月10日東京
2. 野々垣勝則 Social isolationと加齢によるエネルギー代謝の変化臨床フリーラジカル会議 平成21年4月4日 京都

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称: 超音波照射装置
発明者: 野々垣勝則
権利者: 同上
種類: 特願
番号: 2010-083953
出願年月日: 2010年3月31日
国内外の別: 国内

2. 名称: 超音波発生装置
発明者: 野々垣勝則
権利者: 野々垣勝則・(有) 三輪サイエンス研究所
種類: 特願
番号: 2009-246917
出願年月日: 2009年10月27日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野々垣勝則 (Nonogaki Katsunori)

東北大学・未来医工学治療開発センター・教授

研究者番号: 60370988

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: