

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：13901
研究種目：若手研究
研究期間：2021～2022
課題番号：21K16368
研究課題名（和文）自発運動が食事誘発性肥満マウスの視床下部炎症を抑える細胞・分子メカニズムの研究

研究課題名（英文）The mechanism of spontaneous exercise suppresses hypothalamic inflammation in diet-induced obese mice

研究代表者
杉山 摩利子（Sugiyama, Mariko）
名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70823540
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：高脂肪食(HFD)を摂取すると、体重増加に先行してグリア細胞の活性化が生じ、その結果炎症が惹起され、ニューロンに機能異常が生じることで肥満形成の起点となることが知られている。肥満治療に用いられる運動療法の、HFD摂取に伴う視床下部炎症に対して抑制的に働くことが示唆されているが、その詳細な機序は明らかではない。本研究では、HFD投与下でマウス用ホイールを用いた自発運動を行い、運動負荷が脳内炎症に与える影響を検討した。自発運動をHFD摂取と同時に開始すると、体重は増加せず、視床下部および中脳腹側被害野の炎症が減弱した。自発運動は脳内炎症の減弱を介してエネルギー代謝を改善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

日本肥満学会では、運動療法が減量体重の維持、肥満予防に有用であることをGrade Aで推奨している。日常の自発的な身体活動は消費されるエネルギー量は少ないものの様々な論文のメタ解析から減量に有用であることが報告されている。研究代表者は自発運動によるエネルギー消費とは別に、自発運動が中枢に影響を与えエネルギーバランスの調節機構に関与すると仮説を立てて検証し、自発運動は高脂肪食摂取に伴う脳内炎症がグリア細胞を介して抑制される可能性を見出した。本研究結果により得られた知見は継続的に実践可能な運動処方開発に寄与しグリア細胞に与える分子機序の解明により新たな創薬開発の一助となる可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：High-fat diet (HFD) is known to induce inflammation in both peripheral tissues and the hypothalamus. Hypothalamic inflammation occurs prior to substantial body weight gain, and glial cells can mediate hypothalamic inflammatory processes induced in response to a HFD. Recent studies suggest that Exercise suppress hypothalamic inflammation associated with HFD, but the detailed mechanism is unclear. In this study, we examined the effects of exercise load on inflammation in the brain by spontaneous exercise using a mouse wheel under HFD administration. When spontaneous exercise was started at the same time as HFD intake, body weight did not change between chow and HFD, and inflammation in the hypothalamus and ventral tegmental area was significantly decreased under HFD than no exercise. The results suggest that spontaneous exercise may improve energy metabolism through reduction of inflammation in the brain.

研究分野：肥満

キーワード：肥満 運動 高脂肪食 ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

本邦を含め世界における肥満人口は増加傾向である。肥満は2型糖尿病、動脈硬化症、悪性腫瘍など多くの慢性疾患の原因であるが、有効な薬物療法は確立されておらず、適応の限られた減量手術を除けば「食事、運動および行動療法」が治療の基本となっている。

研究代表者は、戦後日本で普及したファーストフードに着目しこれまでの研究でHFDを使用し、様々な遺伝子改変マウスを用いて肥満の病理機序の解明に取り組んできた。自験例および既報から「HFDを摂取すると実質的な体重増加に先行する形でグリア細胞の活性化が生じHFD摂取翌日から視床下部で炎症が生じる。その結果、体重調節を担う視床下部ニューロンに機能異常が生じて肥満形成の起点となる。」という機序が想定されている。

研究代表者は、magnetic-activated cell sorting (MACS) 法を用いて視床下部からミクログリアおよびアストロサイトの単離に成功しており、図1に示すようにHFD摂取に伴うミクログリアを起点とする視床下部炎症の惹起に対し、アストロサイトは早期であれば抗炎症作用を發揮することを世界に先駆けて報告した (Neurochem Int. 2020, 136:104733.論文1)。また運動療方はHFDに伴う視床下部炎症を抑制する効果のあることが近年報告されている。

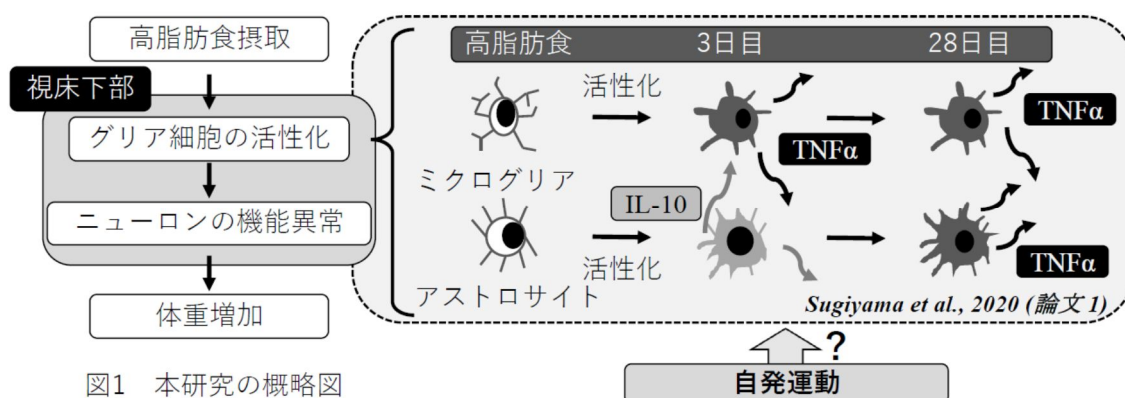


図1 本研究の概略図

また、そもそもなぜ高脂肪食を摂取するか、については報酬系とよばれる中脳辺縁系から側坐核に投射するドーパミンシグナルが重要であるとされている。報酬系の一部である中脳腹側被害野においてもHFD投与に伴い炎症が生じることが報告されており肥満治療を展開する上で報酬系の理解も重要であるとされる。

2. 研究の目的

自発運動による視床下部炎症についての既報がないため、研究代表者は高脂肪食(HFD)投与下のC57BL6雄性マウスに自発運動(Ex)を促すマウス用ホイールを4週間用いた予備実験を実施した。その結果、HFD摂取に伴う体重増加は運動群で有意に抑制され(図2A)、内臓脂肪の減少(図2B)および視床下部炎症の減弱を認めた(図2C: TNF mRNA発現定量で把握、図2A-Cはunpublished data)。

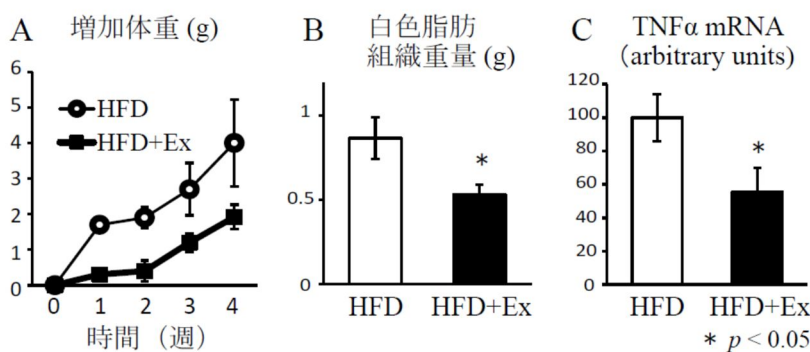


図2 高脂肪食投与下において自発運動は視床下部炎症を抑制する

そこで本研究では、HFD投与下で自発運動を促したマウスの視床下部および中脳腹側被害野からグリア細胞、グリア細胞活性化マーカーおよびミクログリアおよびアストロサイトの炎症関連マーカーおよびそれをそれぞれ経時的に評価する。今回の研究ではHFD投与下において自発運動による運動負荷が各グリア細胞に与える影響を解明する。

3. 研究の方法

(1) HFD投与下で運動の有無がグリア細胞に与える影響の評価

成獣後のC57BL6マウスを4群に分け、普通食運動なし群、普通食運動あり群、HFD運動なし群、

HFD 運動あり群を作成する。運動はマウス用回転ホイールを用いて行う自発運動とする。各群とも運動開始 4 週間後までに毎週体重測定、運動量測定を行い、4 週間後の脂肪重量、筋肉重量を評価する。

(2) HFD 投与下で運動の有無がグリア細胞に与える影響の評価

(1)と同様に振り分けたマウスを運動開始 4 週後に視床下部および中脳腹側被害野を取り出し、RNA を抽出し RT-PCR 法を用いて各グリア細胞における炎症関連サイトカイン (IL-1、IL-6、TNF、IL-10) および各グリア細胞活性化関連マーカー (ミクログリア: CD80、アストロサイト: GFAP、C3) の mRNA 発現について経時的に評価し、各群間で比較検討する。さらに各群の視床下部に免疫染色法を用いて各グリア細胞の数および形態を評価する。また、ミクログリアについては Iba-1 と TNF で共染色、アストロサイトについては GFAP と TNF で共染色する。

(3) HFD 投与下で運動の有無が糖代謝に与える影響の評価

(1)と同様にマウスを 4 群に振り分け、4 週間後にグルコース負荷試験 (GTT)、インスリン負荷試験 (ITT)、グルコースクランプ法を行い、各群間で比較検討する。

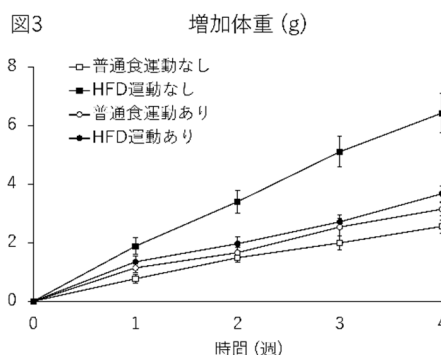
(4) HFD 投与下で運動の有無が中枢のインスリンシグナルに与える影響の評価

(1)と同様にマウスを 4 群に振り分け、4 週間後にインスリンを脳室内投与し、視床下部と中脳腹側被害野をとりだし AKT のリン酸化を各群間で比較検討する。

4. 研究成果

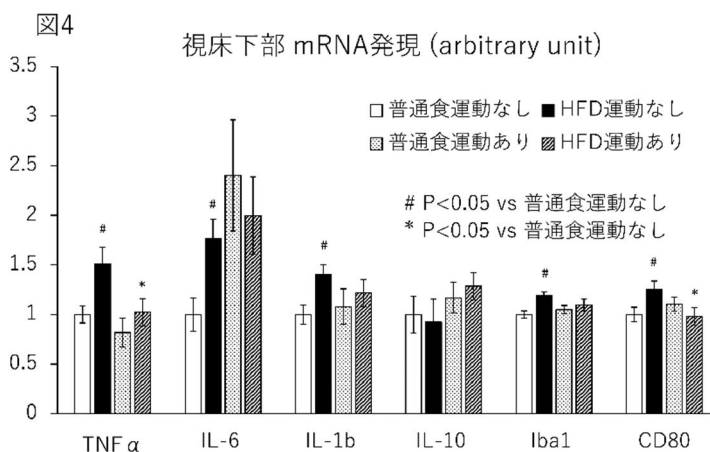
(1) HFD 投与下で運動の有無がグリア細胞に与える影響の評価

4 群間における体重変化を比較検討したところ、HFD 運動なし群は他の群と比較して有意に体重が増加し、HFD 運動あり群は普通食群と有意差を認めなかった (図 3)。運動量は 2 週目以降、普通食群と比較して HFD 群で有意に増加した。白色脂肪重量は HFD 運動なし群は他の群と比較して有意に体重が増加し、HFD 運動あり群は普通食群と有意差を認めなかった。腓腹筋、ヒラメ筋重量はいずれもすべての群で有意差を認めなかった。



(2) HFD 投与下で運動の有無がグリア細胞に与える影響の評価

視床下部弓状核の mRNA 評価では、TNF、IL6、IL1b はいずれも普通食運動なし群と比較して HFD 運動なし群で有意に上昇し、TNF は HFD 運動あり群で有意に低下した。IL10 は HFD 運動なし群と比較して HFD 運動あり群で上昇傾向だった。ミクログリアの活性化マーカーである Iba1 は普通食運動なし群と比較して HFD 運動なし群で上昇を認めた。運動による Iba1 の発現低下は傾向を認めるのみであったが、CD80 は、HFD 群において運動により有意に低下した (図 4)。GFAP は普通食運動なし群と比較して HFD 運動なしで有意に上昇し、C3 はいずれの群においても有意差を認めなかった。中脳腹側被害野の mRNA 発現の評価では、TNF は普通食運動なし群と比較して、HFD 運動なし群で有意に上昇、運動で有意に低下した。IL-6、IL-1b は 4 群間で有意差はなく、IL-10 は HFD で有意に上昇し、有意差はつかないものの、運動により上昇傾向であった。Iba1 は普通食運動なし群と比較して、HFD 運動なし群で上昇を認めた。運動による Iba1 の発現低下は傾向を認めるのみであったが、CD80 は、HFD 群において運動により有意に低下した。GFAP および C3 はいずれの群においても有意差を認めなかった。免疫染色の結果では、視床下部弓状核および中脳腹側被害野において、ミクログリアの TNF 陽性率は、普通食運動なし群と比較して HFD 運動なし群で有意に増加し、運動で有意に低下した。



(3) HFD 投与下で運動の有無が糖代謝に与える影響の評価

4 群間において GTT を比較検討したところ、普通食運動なし群と比較して HFD 運動なし群は有意に血糖が上昇し、高脂肪食運動あり群で有意に低下した。ITT を比較検討したところ、HFD 運

動なし群は普通食運動なし群と比較し高血糖を認めたが、HFD 投与群内における比較では運動による有意な低下が認められなかった。そこで、HFD 投与群において運動ありとなし群の2群でグルコースクランプ法により比較検討したところ、運動あり群で運動なし群と比較して有意なグルコース注入率の上昇を認めた。

(4) HFD 投与下で運動の有無が中枢のインスリンシグナルに与える影響の評価

4群間においてインスリンを中枢投与し AKT のリン酸化を比較検討したところ、視床下部弓状核において、普通食運動なし群と比較して HFD 運動なし群は AKT のリン酸化が有意に減弱し、HFD 運動あり群で改善を認めた。中脳腹側被害野においても同様の結果が得られ、視床下部弓状核および中脳腹側被害野では、HFD 摂取によりインスリン抵抗性が生じ、運動によって改善することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------