

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23500845

研究課題名(和文)肥満症、メタボリックシンドロームにおける食事のリズム調節因子の解析

研究課題名(英文)The investigation of feeding rhythm and obesity.

研究代表者

正木 孝幸 (TAKAYUKI, MASAKI)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：00423715

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：肥満症の発症に関しては夜食などいつ食べたのかという食事のリズムは重要な因子である。今回の研究では幾つかの食事のリズムと肥満との関係について検討した。摂食リズムの変化させたモデルとして、マウスへ高脂肪食を食べる時間帯により通常モデル群、摂食量はかえずに暗期のみ摂食する暗期摂食群、摂食量はかえずに明期のみ摂食する明期摂食群の3群に分けて解析した。明期に高脂肪食を摂取したとき群が、有意に通常モデル、暗期摂食群と比較して内臓脂肪量の増加所見を認めた。また血糖値や中性脂肪値の上昇所見を認めた。これらの結果よりマウスにおいては睡眠期である明期に高脂肪食をとると肥満や代謝異常を助長することが分かった。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we have examined that an altered circadian feeding rhythm in diet-induced obese (DIO) mice might affect their body adiposity and related metabolic factors. DIO mice were divided into the group of feeding ad libitum, feeding in dark period, and feeding in light period groups. After disruption of feeding rhythm, body adiposity, metabolic parameters, including leptin and tumor necrosis factor (TNF)-alpha levels in white adipose tissue (WAT) and histidine decarboxylase (HDC) in hypothalamus were assessed. The group of feeding in light period increased body adiposity compared to control groups. In addition, the feeding in light period also increased leptin and TNF-alpha levels in WAT. Furthermore, the group of feeding in light period decreased HDC levels in hypothalamus compared to controls. In conclusion, an abnormal feeding rhythm such as feeding only in light period appeared to regulate body adiposity, metabolic factors in DIO obese mice.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：リズム

1. 研究開始当初の背景

(1)肥満症やメタボリックシンドロームは、近年中高年の男性を中心に増加しており、医療的にも社会的にも重要な課題となっている。肥満は糖尿病や脂質異常症などの代謝異常を合併しやすく、またそれらの代謝異常を複数有するメタボリックシンドロームにつながることもある。メタボリックシンドロームは、日本人においても心血管イベントの発症因子でありその早期予防と早期治療の重要性が指摘されている。

(2)肥満症やメタボリックシンドロームは生活習慣病でもあり、特に食事の過剰摂取を原因として発症すると考えられており、今までに様々な食事の摂取を調節する因子の解析がされてきた。その中で調節する因子の解析は主に食事をどれ位食べるかという食事の量と肥満やメタボリックシンドロームについての関係の解析がされて来たのが現状である。

(3)一方で、食事と肥満やメタボリック症候群の関係については、どれ位食べたのかという食事の量とあわせて、夜食や間食など、いつ食べたのかという食事のリズムも重要な因子である。実際に食事を含めたリズム異常モデルである Clock 遺伝子欠損マウスが、リズムの異常と併せて肥満とメタボリックシンドロームを呈する事が報告されている。また同じ量の食事を食べても夜型の食事の方が太りやすい現象や、夜勤者や交代勤務者に肥満症やメタボリックシンドロームが多いことなどが報告されている。このことは食事のリズム変化自体が、肥満症またメタボリックシンドロームの発症にも関係していることを示唆する。

2. 研究の目的

(1)上記の背景は、食事のリズム変化が、肥

満症またメタボリックシンドローム発症にも関係していることを示唆する。しかし肥満症、メタボリックシンドロームの発症と食事のリズムとの関係については、未だ不明な点が多い。

(2)本研究の特色と独創的な点は肥満症とメタボリックシンドロームに合併することのある食事のリズム異常に焦点をあて、その病態生理を、食事のリズム因子の変化を通してから解析するという点である。当研究は中心課題に食事のリズム調節の脳内神経因子の抽出と機能解析においている。最終的には、食事のリズム調節因子の肥満症とメタボリックシンドロームへの治療応用に発展させることを当研究の目的としている。

3. 研究の方法

(1)今回の実験方法は、大きく3段階に分けて進めた。まずリズム異常による肥満メタボリックシンドロームモデルの作成のために、食事の量は一定化させ、摂食のリズムだけを朝型、夜型に変えたマウスを作り摂食のリズム変化の肥満症と糖脂質代謝調節に与える影響の解析を行った。次にリズム関連因子の抽出のために、それらの各群で摂食リズムを調節している脂肪細胞や脳内視床下部内の因子の変化について解析し、その肥満症、メタボリックシンドローム発症形成における役割を検討した。最後に上記リズム関連因子それらのリズム因子の中で実際の肥満症モデルに対して脳神経内で作用させ、それらの実際の治療効果について解析した。

(2)具体的な摂食リズム変化モデル動物の群分けて、マウスを摂食リズムにより、(A)通常モデル群、(B)摂食量はかえずに暗期のみ摂食する暗期摂食群、(C)摂食量はかえずに明期のみ摂食する明期摂食群の3群に分け

8週間解析した。次に食事量と体重の測定を経時的に自動摂食リズム解析装置を用いて測定し、その表現形を確認した。あわせてエネルギー消費量についてはコロンバス社の小動物用のエネルギー代謝箱を用いて評価した。さらに、内臓脂肪や脳を摘出し様々な因子の測定を行った。血中と末梢組織中の糖脂質代謝因子の解析も行った。それらはELISA法などで血中の血糖、インスリン、中性脂肪やレプチン、高分子アディポネクチンを測定した。白色脂肪内のレプチン、高分子アディポネクチン、腫瘍壊死因子の測定をwestern blottingやELISA法で実施した。

(3)さらに脳視床下部内の神経因子の解析では視床下部内のリズム調節因子のヒスチジン合成酵素とヒスタミンh1受容体とh2受容体などのリズム因子群を解析した。最後に各因子について各因子作動薬を食事のリズム異常に伴う肥満モデルの脳室内へ投与し肥満モデル動物の肥満症、糖脂質代謝の変化について解析した。

4. 研究成果

(1)通常の15%脂肪前後の餌では3群ともに副睾丸周囲の内臓脂肪量の変化は認めなかったが、60%高脂肪食を摂取したときは、明期中心に摂食する明期摂食群が、有意に通常モデル、摂食量はかえらずに暗期中心に摂食する暗期摂食群と比較して副睾丸周囲の内臓脂肪量の増加所見を認めた(図1)

(2)また明期中心に摂食する明期摂食群で、血糖と血中のインスリンと中性脂肪濃度の増加所見を認めた。

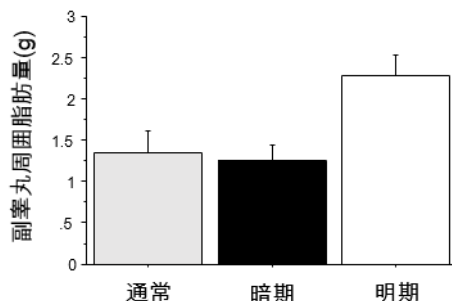


図1：各群の副睾丸周囲の内臓脂肪量

通常：通常摂食群、暗期：通常群と摂食量はかえらずに暗期中心に摂食する暗期摂食群；明期：通常群と摂食量はかえらずに明期中心に摂食する明期摂食群

(3)明期中心に摂食する明期摂食群で、肝臓内の中性脂肪含量の増加と白色脂肪内の高分子アディポネクチンの低下所見を認めた。逆に白色脂肪内レプチン、腫瘍壊死因子の増加所見を認めた(図2)。

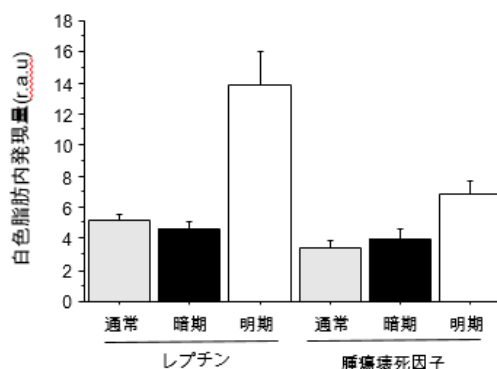


図2：白色脂肪組織内のレプチンと腫瘍壊死因子の発現量

通常：通常摂食群、暗期：通常群と摂食量はかえらずに暗期中心に摂食する暗期摂食群；明期：通常群と摂食量はかえらずに明期中心に摂食する明期摂食群

(4)エネルギー代謝箱の解析では、明期中心に摂食する明期摂食群で暗期の酸素消費量の低下所見を認めた。

(5)脳内の視床下部領域では、明期中心に摂食する明期摂食群のヒスチジン合成酵素含量との日内発現リズムがずれていた。具体的には暗期の視床下部内ヒスチジン合成酵素発現の上昇が対照群と比較して低下していた(図3)。一方で視床下部内ヒスタミンH1受容体とヒスタミンH2受容体の発現変化は各群間で著変認めなかった。

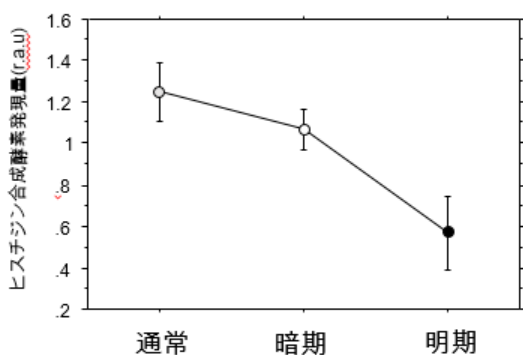


図3：視床下部内の暗期におけるヒスチジン合成酵素の発現量

通常：通常摂食群、暗期：通常群と摂食量とはかえりに暗期中心に摂食する暗期摂食群；明期：通常群と摂食量とはかえりに明期中心に摂食する明期摂食群

(6)最後にヒスチジン合成酵素作動薬としてのヒスチジンを脳内へ投与し、食事誘導性肥満モデルの肥満症、糖脂質代謝の影響を調べたところ、明期中心に高脂肪食を摂食する明期摂食群の副睾丸周囲の内臓脂肪量の低下所見を認めた。

(7)これらの結果よりマウスにおいては、活動期である暗期に高脂肪食をとっても肥満にならないが通常は食事をとらない時期である明期に高脂肪食をとると、活動期のエネルギー代謝の低下を引き起こし、肥満や糖脂質代謝異常を助長することが分かった。その関連因子としては、白色脂肪内のレプチンや腫瘍壊死因子が考えられた。また視床下部内の解析ではヒスチジン合成酵素関与が考えられた。特にヒスチジン合成酵素作動薬はリズム異常の肥満に有用である可能性が示唆された。以上の知見をヒトに置き換えると、通常の食事を取らない休息期である夜間優位に高脂肪な食事を摂取するとエネルギー代謝の変動を来たしが肥満やメタボリック症候群につながる可能性が考えられた。

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 12 件)

1. Masaki T, Yasuda T, Yoshimatsu H. Apelin-13 microinjection into the paraventricular nucleus increased sympathetic nerve activity innervating brown adipose tissue in rats. Brain Res Bull. 2012;10;87:540-3. (査読有)
2. Inoue M, Gotoh K, Seike M, Masaki T, Oribe J, Honda K, Kakuma T, Yoshimatsu H. Involvement of remnant spleen volume on the progression of steatohepatitis in diet-induced obese rats after a splenectomy. Hepatol Res. 2012; 42(2): 203-12. (査読有)
3. Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shimasaki T, Ando H, Fujiwara K, Katsuragi

I, Kakuma T, Seike M, Sakata T, Yoshimatsu H. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced hypothalamic inflammation. *J Neurochem.* 2012;120:752-64. (査読有)

4. Yasuda T, Masaki T, Gotoh K, Chiba S, Kakuma T, Yoshimatsu H.

Intracerebroventricular administration of urotensin II regulates food intake and sympathetic nerve activity in brown adipose tissue. *Peptides.* 2012;35:131-5. (査読有)

5. Gotoh K, Inoue M, Shiraishi K, Masaki T, Chiba S, Mitsutomi K, Shimasaki T, Ando H, Fujiwara K, Katsuragi I, Kakuma T, Seike M, Sakata T, Yoshimatsu H. Spleen-derived interleukin-10 downregulates the severity of high-fat diet-induced non-alcoholic fatty pancreas disease. *PLoS One.* 2012; 7:e53154. (査読有)

6. Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shimasaki T, Ando H, Fujiwara K, Katsuragi I, Kakuma T, Seike M, Sakata T, Yoshimatsu H. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced inflammation in white adipose tissue and liver. *Diabetes.* 2012; 61:1994-2003. (査読有)

7. Ueno D, Masaki T, Gotoh K, Chiba S, Kakuma T, Yoshimatsu H. Cilnidipine regulates glucose metabolism and levels of high-molecular adiponectin in diet-induced obese mice. *Hypertens Res.* 2013;36(3):196-201. (査読有)

8. Gotoh K, Masaki T, Chiba S, Ando H, Shimasaki T, Mitsutomi K, Fujiwara K,

Katsuragi I, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H. Nesfatin-1, corticotropin-releasing hormone, thyrotropin-releasing hormone, and neuronal histamine interact in the hypothalamus to regulate feeding behavior. *J Neurochem.* 2013;124:90-9. (査読有)

9. Gotoh K, Masaki T, Chiba S, Ando H, Fujiwara K, Shimasaki T, Mitsutomi K, Katsuragi I, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H. Hypothalamic brain-derived neurotrophic factor regulates glucagon secretion mediated by pancreatic efferent nerves. *J Neuroendocrinol.* 2013;25:302-11. (査読有)

10. Gotoh K, Masaki T, Chiba S, Ando H, Fujiwara K, Shimasaki T, Mitsutomi K, Katsuragi I, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H. Brain-derived neurotrophic factor, corticotropin-releasing factor, and hypothalamic neuronal histamine interact to regulate feeding behavior. *J Neurochem.* 2013;125(4):588-98. (査読有)

11. Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shiraishi K, Shimasaki T, Matsuoka K, Ando H, Fujiwara K, Fukunaga N, Aoki K, Nawata T, Katsuragi I, Kakuma T, Seike M, Yoshimatsu H. Obesity-related chronic kidney disease is associated with spleen-derived IL-10. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(5):1120-30. (査読有)

12. Shimasaki T, Masaki T, Mitsutomi K, Ueno D, Gotoh K, Chiba S, Kakuma T, Yoshimatsu H. The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor des-fluoro-sitagliptin regulates brown adipose tissue uncoupling

protein levels in mice with diet-induced obesity. PLoS One. 2013 16;8:e63626.
(査読有)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

正木 孝幸 (MASAKI, Takayuki)
大分大学・医学部内分泌代謝膠原病腎臓内
科・助教
研究者番号：00423715

(2)研究分担者

後藤 孔郎 (GOTO, Koro)
大分大学・医学部内分泌代謝膠原病腎臓内
科・助教
研究者番号：10457624

加隈 哲也 (KAKUMA, Tetsuya)
大分大学・医学部内分泌代謝膠原病腎臓内
科・講師
研究者番号：80343359

千葉 政一 (CHIBA, Seiichi)
大分大学・医学部分子解剖学・助教
研究者番号：20457633

清家 正隆 (SEIKE, Masataka)
大分大学・医学部消化器内科・講師
研究者番号：40253794