

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26282193

研究課題名(和文) 睡眠・運動・代謝における相互的中枢 - 末梢連関

研究課題名(英文) Mutual central-peripheral interaction in cooperation among sleep, exercise and metabolism

研究代表者

勢井 宏義 (SEI, Hiroyoshi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授

研究者番号：40206602

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、中枢と肝臓におけるケトン体代謝が各々どのように睡眠調節に関わっているかについて探求した。siRNAオリゴを用いた中枢や肝臓のHMGCS2(ケトン体合成酵素)発現抑制実験やtetシステムを利用した神経細胞のHMGCS2やSCOT(ケトン体分解酵素)の発現調節マウスの確立などを実施した。その結果、中枢のHMGCS2がハンドリングによる断眠後の睡眠深度増大に、また、肝臓のHMGCS2がトレッドミル運動後の睡眠深度増大に関与している可能性が見えてきた。

研究成果の概要(英文)：The present study explored how ketone body metabolism in the central and liver (peripheral) respectively relates to sleep regulation. Experiments on suppression of HMGCS2 (ketone synthase) expression in the central and liver using siRNA oligos and establishment of HMGCS2 and SCOT (ketone degrading enzyme) expression regulating mice of neurons using the tet system were carried out. As a result, the possibility that the central HMGCS 2 is involved in the sleep-depth rebound after deprivation by handling and HMGCS 2 in the liver is involved in the sleep-depth rebound after treadmill exercise has come to light.

研究分野：環境生理学

キーワード：睡眠 運動 代謝 ケトン体 脳 肝臓

1. 研究開始当初の背景

少なくとも哺乳動物は、睡眠なくして生存できない。睡眠を奪われ続けたマウスは死に至る。しかし、このように生命の維持に直結している睡眠の意義や役割について、いまだ科学的に解明されたとは言えない。不眠症に代表される睡眠障害の多くもその病態メカニズムの解明が急がれる。

近年、不眠症を含む睡眠障害はその罹患率の高さ(4~5人に1人)や睡眠薬の安易な処方による医療費の圧迫など、大きな社会問題となっている。睡眠障害は生活習慣病の原因となり、逆に、生活習慣病が睡眠障害を引き起こすことがよく議論されている。たとえば、実験的に深い睡眠を3晩奪うだけで、耐糖能やインスリン感受性が低下するという報告があり、また、糖尿病の未治療患者において、睡眠薬によって睡眠を整えただけで糖尿病が改善したという報告もある。一方、糖尿病に代表される生活習慣病において、不眠症などの睡眠障害が多く併発することもよく知られている。

生活習慣病の主要原因のひとつには運動不足があり、代謝に関わる運動の重要性が明らかになっている。肝臓や骨格筋は代謝や運動において極めて重要な関連臓器である。はたして、脳が中心と考えられる睡眠調節機構は、肝臓や骨格筋を中心とした末梢(全身)代謝機構と、どのように関連し合っているのだろうか? 摂食行動の調節には、グレリンやレプチンなど、末梢からのシグナル分子が重要な役割を担っている。このような中枢と末梢(特に消化管)との協同したシステムは脳・腸関連とも呼ばれている。睡眠調節機構にも中枢-末梢関連は存在するのだろうか?

我々は最近、科研費のサポートを受け、脂質代謝、特にケトン体が睡眠調節機構に関与していることを明らかにしている(Neuropharmacology, 2014;79:399-404)。断眠によって末梢血液中のケトン体濃度が上昇すること、脳室内にケトン体、特にアセト酢酸を投与するとノンレム睡眠期のデルタ波が増強すること、アセト酢酸の脳室内投与によって、皮質のグルタミン酸放出量が低下することが分かった。デルタ波は睡眠の深さ、あるいは、睡眠への要求度(睡眠圧)の指標であり、先行する覚醒の長さや運動量に比例して増強する。これを、睡眠のホメオスタシスと呼んでいる。ケトン体は生理的なレベルで睡眠のホメオスタシスに関与していることが示唆される。ケトン体の産生は脳においても報告されているが、肝臓においてその能力が最も高い。運動や絶食、糖欠乏などによって脂肪の酸化が亢進し、その結果、ケトン体が産生される。

グルコース欠乏時に脳や筋はケトン体をエネルギー源として代用することが知られている。我々は、上記データから、長い覚醒や運動はケトン体産生を促進し、そのケトン体によって興奮性神経伝達物質であるグル

タミン酸の放出が抑制され、その結果、睡眠が深くなるのではないかと仮説した。

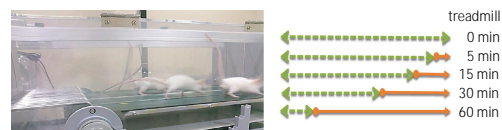
2. 研究の目的

睡眠機構に関わるケトン体はどこで産生されたものなのか? 肝臓で産生されたものであるなら、脳と末梢臓器との連関が睡眠ホメオスタシスの一員となっていることになる。我々は試験的に、6時間の断眠が骨格筋におけるケトン体代謝関連遺伝子発現におよぼす影響をマウスで観察した。その結果、ケトン体を代謝しTCAサイクルへ導く酵素SCOTと、ケトン体や乳酸の輸送体MCTのmRNA発現が増加していた。このことは、睡眠を奪うことが、末梢の骨格筋のケトン体代謝(利用)に影響を与える可能性を示している。本研究は、我々のケトン体に関するデータを出発点とし、睡眠のホメオスタシスにおける中枢と末梢、特に骨格筋・肝臓との相互関連性について詳細に検討し、その役割およびメカニズムを明らかにすることを目的とする。その結果から、睡眠障害の予防・治療における全身機能の重要性について科学的エビデンスを呈示し、また、骨格筋機能・代謝機能における睡眠の役割と重要性を明示する。

3. 研究の方法

本研究のほとんどの実験は、B6マウスを用いた動物実験である。

(1)トレッドミルを用いて短時間運動をマウスに負荷し、血中ケトン体濃度および運動に続く睡眠の深度への影響を関係した。運動を含む覚醒時間を制御するため、覚醒時間を1時間と設定し、運動時間以外は、音や振動などでマウスの覚醒を維持した。そうすることによって、運動を伴うか伴わないかの違いによる影響が観察できる。



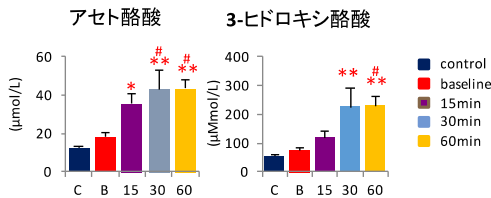
(2)ケトン体を脳室内あるいは腹腔内に投与し、睡眠への影響を比較検討した。末梢で増加したケトン体が脳へ到達し、睡眠に影響を与えうるかを見たものである。アセト酢酸とβ-ヒドロキシ酪酸の両方を検討した。

(3)siRNAを用いて、ケトン体の合成酵素であるHMGCS2活性を、脳あるいは肝臓において選択的に抑制し、睡眠への影響を見た。

(4)神経細胞のHMGCS2あるいはSCOTの発現を人為的に調節できるtetシステムを応用したマウスの系を確立し睡眠実験を行った。本研究内に確立したマウスは、神経細胞におけるSCOTが過剰発現するマウスである。

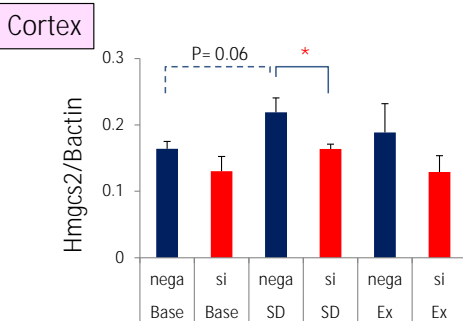
4. 研究成果

(1) 5~60分のトレッドミル運動負荷は、血中の乳酸値を上昇させないが、時間依存的に血中ケトン体濃度を上昇させ、運動に引き続く睡眠の深度を増大させた。血中グルコース濃度は30分以上の運動で上昇した。一方、中性脂肪は30分以上の運動で減少した。



(2) 末梢(腹腔内)へのケトン体(アセト酪酸)の投与は、脳室内投与同様、濃度依存的に睡眠深度を増大させた。腹腔内に投与されたケトン体でも、それが脳へ到達し睡眠深度に影響を与えることが明らかとなった。

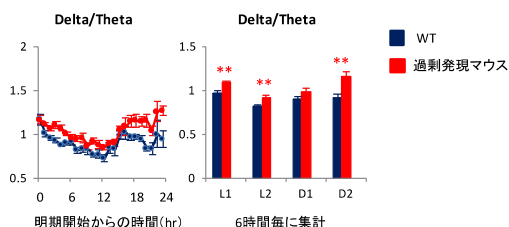
(3) HMGS2のsiRNAを脳室内あるいは門脈に投与することで、脳内あるいは肝臓のHMGS2活性を抑制したマウスが作成できた。



脳内のHMGS2活性の抑制は、ハンドリングによる断眠に対して、睡眠深度の増大を抑制したが、運動負荷による睡眠深度の変化は逆に増強された。一方、肝臓のHMGS2活性の抑制は、運動による睡眠深度の増大を抑制した。

(4) 脳神経に特異的にSCOTを過剰発現させたマウスで睡眠実験を行った。その結果、過剰発現させるとベースラインやハンドリングによる断眠後のデルタ波が増強されることが分かった。SCOTはケトン体分解(利用)を促進する酵素であるので、ケトン体の分解

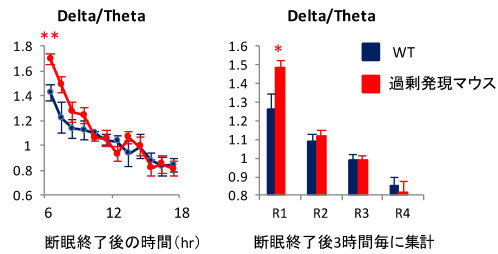
ベースラインの睡眠深度



が睡眠深度と関連することを示している。現

在、運動負荷による変化を検討中である。

6時間断眠後の睡眠深度



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 4件)

1: Chikahisa S, Harada S, Shimizu N, Shiuchi T, Otsuka A, Nishino S, Séi H. Mast cell involvement in glucose tolerance impairment caused by chronic mild stress with sleep disturbance. Sci Rep.2017;7(1):13640. 査読有

2: Oura K, Otsuka A, Shiuchi T, Chikahisa S, Shimizu N, Séi H. Late feeding in the active period decreases slow-wave activity. Life Sci. 2016;160:18-26. 査読有

3: Kanda T, Tsujino N, Kuramoto E, Koyama Y, Susaki EA, Chikahisa S, Funato H. Sleep as a biological problem: an overview of frontiers in sleep research. J Physiol Sci. 2016;66(1):1-13. 査読有

4: Otsuka A, Shiuchi T, Chikahisa S, Shimizu N, Séi H. Voluntary exercise and increased food intake after mild chronic stress improve social avoidance behavior in mice. Physiol Behav. 2015;151:264-271. 査読有

[学会発表](計 2件)

1: 勢井宏義、「睡眠と生理機能」, 日本睡眠学会提起学術集会(横浜), 2017年

2: 近久幸子, 勢井宏義, 「睡眠ホメオスタシス機構におけるPPARsおよびケトン体代謝の関与」, 日本生理学会大会(神戸), 2015年

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況（計 0件）

取得状況（計 0件）

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

勢井 宏義（SEI, Hiroyoshi）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：40206602

(2)研究分担者

近久 幸子（CHIKAHISA, Sachiko）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・講師

研究者番号：00452649