

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：14602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12355

研究課題名(和文) 光環境と摂食行動のリズムパターンの制御による閉経後女性の肥満予防法の開発

研究課題名(英文) Development of countermeasure against postmenopausal hyperphagia and obesity by controlling light environment and feeding rhythm pattern.

研究代表者

鷹股 亮 (Takamata, Akira)

奈良女子大学・生活環境科学系・教授

研究者番号：00264755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：エストロゲン(E2)欠乏による過食・肥満は、摂食行動リズムの乱れを伴う。また、E2が光依存性に摂食量を調節している可能性を我々は示してきた。本研究では、E2欠乏による過食・肥満が光環境と摂食行動リズムの調節により抑制できるかを検討した。

E2欠乏は光刺激による摂食・肥満抑制作用を減弱させる可能性が示された。さらに、強い光刺激曝露は、E2欠乏状態でも摂食量、体重増加を抑制した。また、強制的な摂食行動のリズム形成は、E2欠乏状態でも過食・肥満を抑制した。以上、生活環境である光環境の制御と摂食リズムを考慮した適切な生活習慣により、閉経後女性の過食・肥満を抑制できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Hyperphagia and obesity induced by estrogen (E2) deficiency accompanies disorder of circadian feeding rhythm. We have shown that E2 regulates food intake in light dependent manner. In this study, we investigated whether E2 deficiency-induced hyperphagia and obesity can be attenuated by adjusting light environment and feeding rhythm.

We found that E2 deficiency could weaken light-induced suppression of feeding and obesity. In addition, high intensity light stimulus suppressed food intake and body weight gain even in the E2 deficient state. We also found that forced feeding rhythm formation attenuated hyperphagia and obesity even in the E2 deficient state. Thus, appropriate lifestyle considering the light environment and feeding rhythm could be a countermeasure against postmenopausal hyperphagia and obesity.

研究分野：食行動学

キーワード：閉経 肥満 過食 光環境 日内リズム 摂食行動

### 1. 研究開始当初の背景

女性では閉経後肥満者の割合が増加することが知られている。エストロゲンには摂食抑制作用があることが知られており、エストロゲン欠乏による過食は肥満形成の原因の一つとなる。

最近の我々の研究から、エストロゲン欠乏はラットの休眠期である明期に選択的に摂食量を増加させ、生体リズム形成の中核である視交叉上核 (SCN) の神経活動を抑制することが明らかになった (Takamata, Brit J Nutr, 2011)。近年、摂食行動の乱れが過食・肥満を惹き起こすという報告がなされている。このことより、エストロゲン欠乏による過食は、摂食行動の日内リズムの乱れが原因となり、肥満形成を導いている可能性がある (図1)。

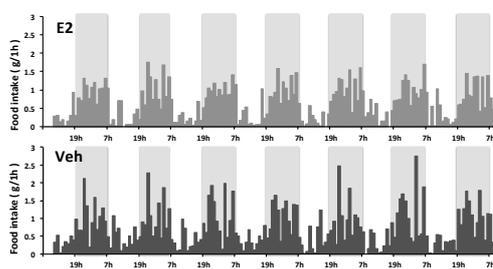


図1 卵巣摘出ラットにおけるエストロゲン補充群 (E2) と欠乏群 (Veh) の摂食行動の日内リズム

我々は、更に、エストロゲンによる休眠期の摂食抑制作用が光を与えない環境 (DD 環境) にラットを曝露すると消失することを明らかにした (図2)。しかし、この研究での DD 環境曝露期間は、2日と短期であり、長期飼育時の影響については未だに不明であった。

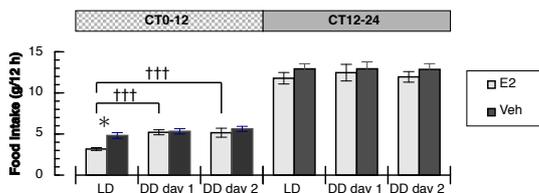


図2 摂食行動のリズムの及ぼす恒常暗環境 (DD) 曝露の影響  
E2: エストロゲン補充群、Veh: エストロゲン欠乏群  
CT0-12: 明期に相当する時間、CT12-24: 暗期の相当する時間  
E2群では、DD曝露によりCT0-12の摂食量の増加が起こり、Veh群の摂食量とはほぼ同じになった。

以上より、エストロゲン欠乏時には、光に対する感受性が低下して、摂食行動の日内リズムが乱れ、その結果として過食・肥満になるのではないかと考えた。近年、摂食行動の日内リズムの乱れが過食や肥満と関連しているという報告がされている。そこで、本研究では、エストロゲン欠乏による摂食行動のリズムの乱れを光環境の調整や摂食行動のリズムを強制的につくることにより修正することによって、エストロゲン欠乏による過食を防げるのではないかと仮説を立て、これを検証する実験を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究では、閉経後女性の過食と肥満が、摂食行動の乱れが原因であるという仮説を立て、リズム形成に大きな影響を及ぼす光環境と摂食行動リズムが、エストロゲン欠乏による過食・肥満に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、研究を行った。

### 3. 研究の方法

#### 実験1 長期の暗環境曝露と明期の照明の光色がエストロゲン欠乏ラットの摂食行動、体重調節に及ぼす影響とそのメカニズム

本実験では、エストロゲン欠乏時の過食・肥満に及ぼす長期恒常暗環境と明期の照明の色の影響について検討した。

7週齢の Wistar 雌ラットの卵巣を摘出し、エストロゲンとコレステロールの粉の混合したもの (1:4) を封入したシリコンチューブを皮下に埋め込み、エストロゲンを補充したエストロゲン補充群 (E2 群) とコレステロール (Vehicle) のみを封入したシリコンチューブを皮下に埋め込んだエストロゲン欠乏群 (Veh 群) の2群に分けた。その後ラットを1匹ずつ12時間/12時間の明暗サイクル (LD 条件; 約 250 ルクス) または恒常暗環境 (DD 条件; 10 ルクス以下) のいずれかの環境で12日間にわたって飼育し、摂食量を自動摂食量測定装置で連続的に測定した。また、実験終了日の明期の初期 (Circadian time 3 h; CT3) と暗期の初期 (CT15) に灌流固定を行ない、脳を取り出して切片を作成し、免疫組織化学染色により視交叉上核における c-Fos の発現細胞を同定し、活動したニューロンの数を定量化した。

また、明期の照明の光色が摂食行動に及ぼす影響を明らかにするために、卵巣摘出ラットを E2 群と Veh 群に分け、LD 条件 (約 250 ルクス) で、それぞれ昼白色の LED 照明または青色の強い LED 照明のいずれかで飼育し、摂食量の測定を行った。実験に用いた LED 照明のスペクトルを示す (図3)。

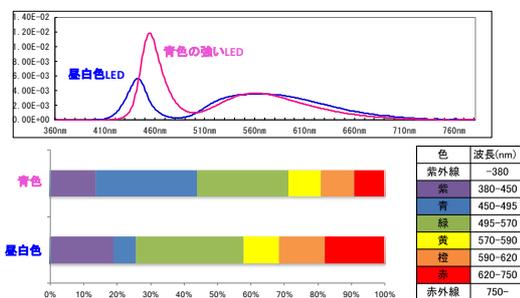


図3 エストロゲン欠乏ラットの摂食量に及ぼす明期照明の光色の影響の検討に用いた照明のスペクトル 青色の強いLED照明と昼白色LED照明のスペクトルを示す。

#### 実験2 明期の摂食制限がエストロゲン欠乏ラットの摂食行動と体重に及ぼす影響

本実験では、摂食行動のリズムの乱れが、エストロゲン欠乏ラットの過食の原因になっているかを検討した。

7週齢の Wistar 雌ラットの卵巣を摘出し、

エストロゲンとコレステロールの粉の混合したもの(1:4)を封入したシリコンチューブを皮下に埋め込み、エストロゲンを補充したエストロゲン補充群(E2群)とコレステロール(Vehicle)のみを封入したシリコンチューブを皮下に埋め込んだエストロゲン欠乏群(Veh群)の2群に分けた。これらのラットを明期に絶食させた摂食制限群と自由摂食群に分けた。摂食制限群では明期の開始と同時に餌入れから取り除いた。摂食量を明期の開始時と暗期の開始時に測定し、体重を測定した。全てのラットは、1匹ずつ12時間/12時間の明暗サイクル(LD条件;約250ルクス)で12日間にわたって飼育した。

また、実験終了日の明期の初期(Zeitgeber time 3 h; ZT3)と暗期の初期(ZT15)に灌流固定を行ない、脳を取り出して切片を作成し、免疫組織化学染色により視交叉上核におけるc-Fosの発現細胞を同定し、活動したニューロンの数を定量化した。

#### 4. 研究成果

##### 実験1 長期の暗環境曝露と明期の照明の光色がエストロゲン欠乏ラットの摂食行動、体重調節に及ぼす影響とそのメカニズム

LD環境下でE2群の明期の摂食量は、Veh群より有意に少なかったが、暗期の摂食量は両群間で差が見られなかった(図4左)。DD環境に曝露すると、E2群、Veh群のいずれにおいても明期に相当する時間の摂食量は増加し、一方暗期に相当する時間の摂食量は減少した(図4右)。

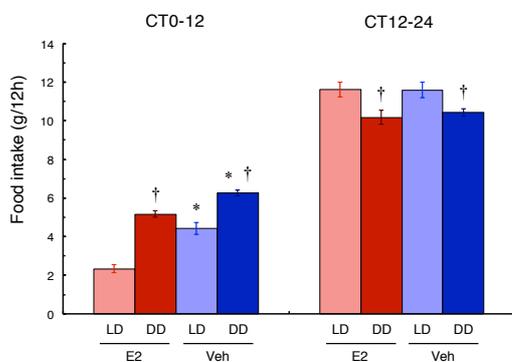


図4 DD環境曝露がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠乏ラット(Veh)における明期相当時間(CT0-12)と暗期相当時間(CT12-24)の摂食量に及ぼす影響 \* E2 vs Vehでの有意差、† LD vs DDでの有意差を示す。

明期に相当する時間の摂食量は、DD曝露によりE2群、Veh群のいずれにおいても増加し、DD環境曝露時でもVeh群の摂食量はE2群のそれよりも有意に多かった。しかし、E2群の方がDD曝露による明期相当時間の摂食量の増加率は有意に大きかった(E2群:121±7%、Veh群:42±4%)。

また、1日あたりの摂食量は、Veh群ではDD環境曝露により、有意な増加が見られなかったのに対し、E2群では有意に増加した。以上よりE2群の方が光刺激による摂食抑制効果が大きいことが示唆された。

LD環境下では、体重増加はVeh群においてE2群に比べて有意に大きかった。長期DD環境曝露は、E2群、Veh群のいずれにおいても体重増加を大きくした(図5)。DD環境曝露時もVeh群の体重増加はE2群よりも有意に大きかった。

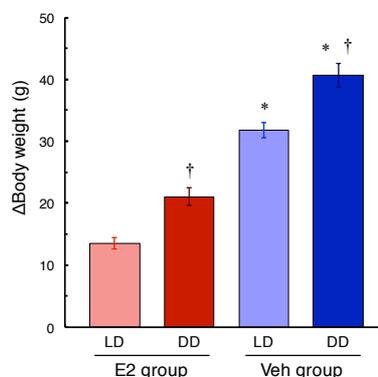


図5 DD環境曝露がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠乏ラット(Veh)における体重増加量に及ぼす影響 \* E2 vs Vehでの有意差、† LD vs DDでの有意差を示す。

DD環境曝露による体重の増加率を比較すると、E2群では55.5±10.7%、Veh群では28.0±6.0%でE2群の方がVeh群よりもDD曝露による影響を大きく受けた。

これら、摂食量、体重の結果より、エストロゲンが不足すると光刺激による摂食抑制作用が小さくなること、光刺激による摂食抑制作用の低下による過食がエストロゲン欠乏群の肥満の原因の一つである可能性が示唆された。

Veh群では、DD環境曝露が1日あたりの摂食量を増加させなかったにもかかわらず、体重の増加が見られた。今回の実験では、赤外線センサーを用いて活動量を測定したが、E2群ではDD環境曝露によりE2群では1日あたりの活動量が増加したのに対して、Veh群では1日あたりの活動量が変化しなかった。従って、DD環境曝露によるE2群、Veh群の体重増加は、活動量の減少が原因ではないと考えられる。以上より、今回の実験では測定することができなかったがVeh群での体重増加の主な原因は、代謝量の変化であると考えられる。

長期DD環境曝露が視交叉上核(SCN)における神経活動に及ぼす影響を明らかにするためSCNにおけるc-Fos陽性細胞数を明期と暗期に計測した。

LD環境下では、SCNにおけるc-Fos陽性細胞数は、明期にVeh群でE2群に比べて有意に少なかった、一方暗期は両群で有意な差は認められなかった(図6)。

長期DD環境曝露により、両群の明期に相当する時間、暗期に相当する時間のいずれにおいてもc-Fos発現は有意に抑制され、DD環境曝露時には明期に相当する時間のc-Fos発現数に両群間の差がなくなった(図6)。

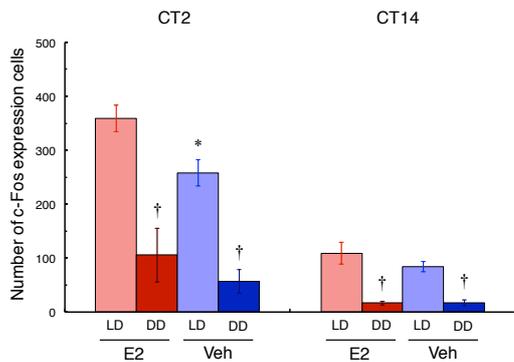


図6 DD環境曝露がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠ラット(Veh)における明期相当時間(CT0-12)と暗期相当時間(CT12-24)のSCNにおけるc-Fos免疫陽性細胞数に及ぼす影響 \* E2 vs Veh での有意差、† LD vs DD での有意差を示す。

これらの結果より、長期 DD 環境曝露により、SCN の神経活動が持続的に抑制される事が明らかになったが、摂食行動のリズムとの関連をこの変化から明確に説明することは困難であり、他の要因が DD 環境での摂食行動の変化に関与している可能性が示された。今後、そのメカニズムを解明する研究が必要である。

LD 環境下で明期の照明の光色が摂食行動に及ぼす影響を明らかにするために、卵巣摘出ラットを E2 群と Veh 群に分け、LD 条件(約 250 ルクス)で、それぞれ昼白色の LED 照明または青色の強い LED 照明のいずれかで飼育し、摂食量の測定を行った。

昼白色照明下では、明期の摂食量は Veh 群で E2 群に比べて有意に多く、暗期には差がなかった。これは、これまでの結果と同様であった(図7)。

ラットを青色の強い LED 照明下で飼育すると、E2 群、Veh 群のいずれにおいても明期の摂食量は有意に減少し、両群の差が消失した。一方、暗期は Veh 群のみで有意な摂食量の増加がみられた(図7)。

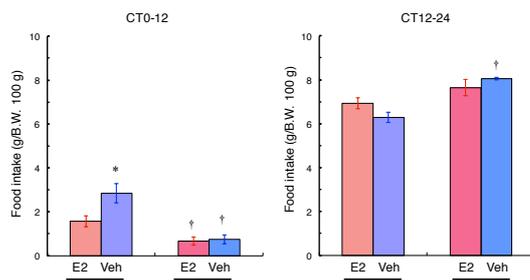


図7 青色の強い照明がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠ラット(Veh)における体重増加量に及ぼす影響 \* E2 vs Veh での有意差、† 青色の強いLED vs 昼白色LED での有意差を示す。

以上の結果は、青色の強い照明は昼白色の照明に比べて、強い光刺激であるため、明期の摂食量が減少したと考えられる。また、青色の強い照明下でラットを飼育すると昼白色の照明下で飼育した時にみられた E2 群と Veh 群の間の明期の摂食量の差が消失した。

この結果は、エストロゲン欠乏時でも十分に強い光刺激を受けると明期の摂食量が減

少することを明らかにした。エストロゲン欠乏状態でも明期に十分に強い光刺激を受けることで、明期の摂食量が減少することが示されたことより、光環境をコントロールすることにより、閉経後の過食、肥満を抑制できる可能性が示された。

## 実験2 明期の摂食制限がエストロゲン欠乏ラットの摂食行動と体重に及ぼす影響

明期の摂食量は、自由摂食時には Veh 群で E2 群よりも有意に多く、暗期には差がなかった。明期に摂食制限を行うと、E2 群、Veh 群の両群で暗期の摂食量が有意に増加した(図7)。

摂食制限による暗期の摂食量の増加は、E2 群では、自由摂食時の明期の摂食量とほぼ同量であったが、Veh 群では自由摂食時の明期の摂食量よりも有意に少なかった(図8)。

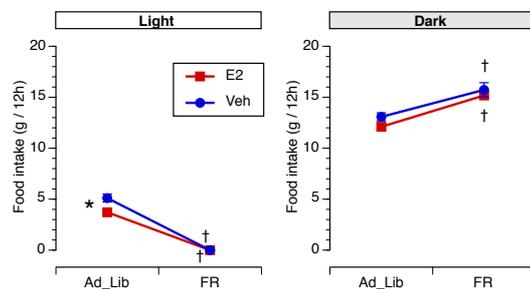


図8 明期摂食制限(FR)がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠乏ラット(Veh)における明期と暗期の摂食量に及ぼす影響 \* E2 vs Veh での有意差、† Ad\_Lib vs FR での有意差を示す。

実験期間中の累積摂食量は、自由摂食時には、Veh 群で E2 群と比較して有意に多かった。明期摂食制限により、Veh 群では累積摂食量は有意に減少したが、E2 群では有意な差は見られなかった(図9)。

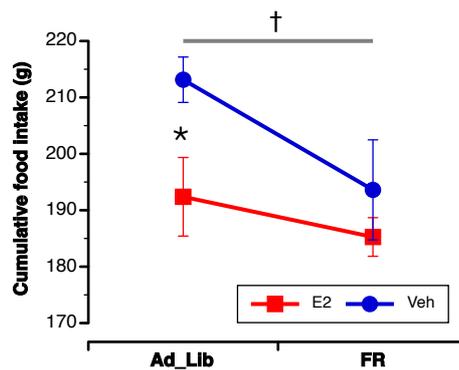


図9 明期摂食制限(FR)がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠乏ラット(Veh)における実験期間中の累積摂食量に及ぼす影響 \* E2 vs Veh での有意差、† Ad\_Lib vs FR での有意差を示す。

以上の結果より、明期摂食制限を行うことにより、Veh 群では明期の過食が原因の摂食量の増加を抑制できる事が明らかになった。すなわち、エストロゲン欠乏による過食は、摂食行動のリズムの乱れが原因であり、摂食行

動リズムを強制的に作ることにより、エストロゲン欠乏による過食を抑制できる可能性が示唆された。

自由摂食時の体重増加は Veh 群で E2 群に比べて有意に大きかった。明期摂食制限により Veh 群では体重増加が有意に抑制されたのに対して、E2 群では体重増加の抑制は見られなかった。明期摂食制限により Veh 群の体重増加は抑制されたが、明期摂食制限をした E2 群の体重増加に比べて有意に大きかった (図 10)。

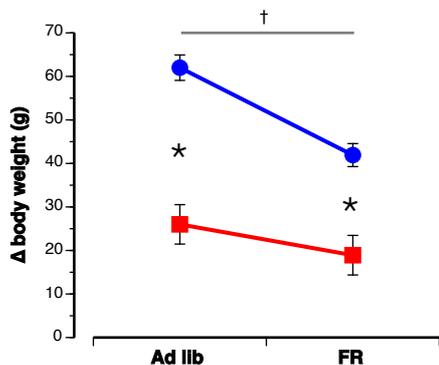


図10 明期摂食制限(FR)がエストロゲン補充ラット(E2)とエストロゲン欠乏ラット(Veh)における実験期間中の体重増加に及ぼす影響  
\* E2 vs Veh での有意差、† Ad\_Lib vs FR での有意差を示す。

明期摂食制限により、Veh 群の摂食量は E2 群と同程度になるまで抑制されたにもかかわらず、Veh 群の体重増加の抑制は摂食量の抑制程大きくなかった。体重は、摂取エネルギーと消費エネルギーのバランスで決定される。エストロゲン欠乏は摂食量の亢進と代謝量の減少を惹き起こすが、明期摂食制限は摂食量を減少させる効果は大きい代謝量の減少には影響が小さい可能性が考えられる。しかし、エストロゲン欠乏ラットの体重増加が明期摂食制限で減少したことから、摂食行動のリズムを明確にする生活習慣は、閉経後女性の過食を防ぎ、肥満を抑制することができる可能性が示された。

#### まとめ

光環境と摂食行動のリズム・パターンの制御による閉経後女性の肥満予防法を開発するために卵巣摘出ラットを用いて、異なる光環境への曝露の影響と摂食行動の強制的なリズム形成が摂食量と体重の及ぼす影響について検討し、以下の結果を得た。

- 1) DD 環境曝露が摂食量、体重増加に及ぼす影響は、E2 群の方が大きかったことから、エストロゲン欠乏は光刺激による摂食・肥満抑制作用が減弱している可能性が示された。
- 2) 明期に青色の強い光の照明を用いると Veh 群でも明期の摂食量が減少したことより、強い光刺激に曝露することにより、エストロゲン欠乏状態でも摂食量、体重増加を抑制できる可能性が示された。
- 3) 明期の摂食制限により Veh 群で摂食量と

体重増加が抑制されたことより、エストロゲン欠乏による過食は摂食行動リズムの乱れが原因であり、強制的にリズム形成をするとエストロゲン欠乏状態でも過食・肥満を抑制できる可能性が示された。

以上、生活環境である光環境の制御と摂食リズムを考慮した適切な生活習慣により、閉経後女性の過食・肥満を抑制できる可能性が示された。今後はそのメカニズムを更に明らかにするとともに、最適な光刺激、摂食行動パターンを明らかにしていきたい。

#### 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鷹股 亮, 森本恵子. 摂食調節における性差と性ホルモンの役割. 特集食欲と食嗜好のサイエンス 実験医学 35(6): 945-950, 2017.

(査読なし)

② Tazumi S, Yokota N, Kawakami M, Omoto S, Takamata A, Morimoto K. Effects of estrogen replacement on stress-induced cardiovascular responses via renin-angiotensin system in ovariectomized rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 311(5): R898-R905, 2016. (査読あり)

③ Handa S, Masuki S, Ohshio T, Kamijo Y, Takamata A, Nose H. Target intensity and interval walking training in water to enhance physical fitness in middle-aged and older women: a randomised controlled study. Eur J Appl Physiol. 116(1): 203-15, 2016. (査読あり)

④鷹股 亮. ヒトをはかる 16 話 (その 14) 循環機能をはかる. 繊維製品消費科学 56: 8, 2015. (査読あり)

[学会発表] (計 7 件)

①金森好美, 近藤沙也加, 森本恵子, 鷹股 亮. 卵巣摘出ラットにおけるエストロゲン補充が快樂姓甘味摂取とエネルギー調節に及ぼす影響. 第 94 回日本生理学会大会. 浜松. 2017 年 3 月.

②近藤沙也加, 金森好美, 森本恵子, 鷹股 亮. エストロゲンが誘発する快樂姓甘味摂取の増強における血漿グルコースの関与. 第 94 回日本生理学会大会. 浜松. 2017 年 3 月.

③川原真理子, 永友優, 並木直子, 西村美穂, 湖城祐美, 田積昇子, 内田有希, 鷹股 亮, 森本恵子. 卵巣摘出ラットへのエストラジオール補充は慢性精神的ストレス下において昇圧反応性を減弱させる. 第 94 回日本生理学会大会. 浜松. 2017 年 3 月.

④高橋春花, 佐藤 瞳, 土井菜々子, 横田直子, 内田有希, 鷹股 亮. 卵巣摘出ラットへのエストロゲン補充は高脂肪食摂取を口腔内脂肪センシング経路により抑制する. 第 94 回日本生理学会大会. 浜松. 2017 年 3 月.

⑤ Takamata A, Kawamoto M, Morimoto K, Stachefeld NS. Sex difference and female reproductive hormones in the regulation of muscle blood flow during sustained handgrip exercise. The 6<sup>th</sup> International Sports Science Network Forum in Nagano 2016. Matsumoto. 2016年11月.

⑥ Takamata A. Estrogen-induced hypophagia and circadian feeding rhythm regulation: effect of light environment, The John B. Pierce Laboratory Seminar Series, Yale School of Medicine. New Haven, 2016年5月.

⑦ 大村夏美、鷹股 亮. 女性ホルモンであるエストロゲンは浸透圧・アンギオテンシンII誘発性体液調節反応を抑制する. 第54回日本生気象学会大会. 名古屋. 2015年11月.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鷹股 亮 (TAKAMATA, Akira)

奈良女子大学・生活環境科学系・教授

研究者番号：00264755