

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06316

研究課題名（和文）網膜光受容体メラノプシンの遺伝子破壊が代謝異常を招く分子メカニズム

研究課題名（英文）The potential role of melanopsin in metabolic regulation

研究代表者

孫 ユリ（SON, YOULEE）

北海道大学・遺伝子病制御研究所・講師

研究者番号：10605306

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：一日周期の生体リズムである概日リズムは概日時計という体内時計の自己発振システムにより制御されており、概日リズムの乱れは肥満やメタボリックシンドロームを起こしやすいことが示唆されている。目の網膜に発現する青色光受容体メラノプシンは光情報を脳内の中枢時計に伝達することで概日時計の制御を行っていることから、メラノプシン機能障害は概日時計を乱すことになり、代謝異常を引き起こすと考えられる。本研究ではメラノプシン遺伝子破壊マウスを用い、体重変化、体脂肪率、血糖値、高脂肪食による肥満誘導、活動量と体温のリズムなど様々な代謝状態を測定し、メラノプシン機能障害が生体の代謝機能維持に与える影響を調べた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

代謝異常から起こる網膜機能障害についてはよく知られているが、網膜機能障害が代謝異常を引き起こす原因になる可能性についてはほとんど検討されていない。また、非視覚応答は重要な生理的機能を果たしているにも関わらず、非視覚応答に関する研究は、視覚応答と比べて大幅に遅れていた。メラノプシンの遺伝子破壊マウスのさまざまな代謝状態を解析した本研究により、メラノプシンによる非視覚応答システムの機能障害は代謝異常をもたらす可能性が示唆され、代謝病態制御の理解に対する新たな視点を提示することになると期待される。

研究成果の概要（英文）：The circadian clock has an internally driven 24-hour rhythm. Circadian rhythms generated by central and peripheral clocks maintain homeostasis, including the regulation of metabolic processes. It has been well described that disorders of circadian rhythm promote systemic metabolic dysfunction associated with obesity or diabetes. Melanopsin photopigment expressed in intrinsically photosensitive retinal ganglion cells plays a crucial role in the circadian photoentrainment through the direct projection of melanopsin-expressing cells to the master clock located in the suprachiasmatic nuclei. Thus, disruption of the melanopsin gene impairs circadian photoentrainment, which may lead to metabolic dysfunction. To understand the involvement of melanopsin in metabolic regulation, I examined the phenotype of melanopsin-disrupting mice and measured several risk factors for obesity and metabolic syndrome, such as glucose/insulin tolerance and plasma free fatty acid levels.

研究分野：分子内分泌

キーワード：メラノプシン (Opn4) 概日時計 代謝 脂肪

1. 研究開始当初の背景

生体の恒常性は約 24 時間周期で自律振動する概日時計の働きによって維持される。概日時計は光の入力と日々決まった時間帯に食事をする食餌同期性リズムにより制御されるため、不規則な生活習慣は概日リズムを乱す原因となり、肥満やメタボリックシンドロームを起こしやすいことが示唆されている。概日時計の中樞は視床下部の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus; SCN) に存在し、外界の光に同調する。哺乳類の光受容感覚器である網膜には桿体、錐体に加え、メラノプシン (melanopsin; 別名 Opn4) という青色光受容体を発現する第三の光受容細胞が網膜神経節細胞 (retinal ganglion cell; RGC) に存在する (Panda *et al.*, Science 2002)。このメラノプシン発現網膜神経節細胞 (melanopsin-expressing RGC; mRGC) は全 RGC のごく一部 (約 1 - 2%) にすぎないが、mRGC はそれ自体が光受容能を保つとともに、桿体・錐体からの投射も受け、これらの光情報を統合して脳に伝達し、視覚以外の光応答である非視覚応答を担っている。mRGC は SCN をはじめ様々な脳部位に投射しており、mRGC の機能障害が起きると外界の光周期に同調できなくなり、生体リズムの乱れによる睡眠や代謝など様々な生体機能の異常を招くことが考えられる。光情報に同調する SCN 時計に対して、全身に存在する末梢時計は食餌同期性リズムにより強く影響されるため、SCN を壊しても食餌同期性の末梢時計のリズムは残る。また、同じ光環境であっても、何をいつ食べるかの摂食情報が概日時計に影響を与えることが知られている。マウスは高脂肪食を与えると活動時間帯である夜間のみならず昼夜の差なく食べ続け肥満になることが広く知られており、肥満誘導マウスでは概日時計遺伝子や代謝関連遺伝子の日内変動の振幅が減弱している。このように「非視覚光応答」と「摂食」の入力は概日時計を制御することにより代謝機能に影響を与えている。

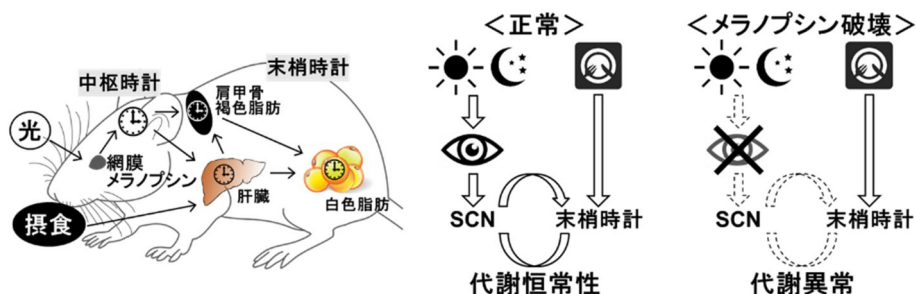


図. 概日時計のネットワークによる代謝恒常性維持の仕組みと本研究の仮説

2. 研究の目的

メラノプシン発現網膜神経節細胞は概日時計の光周期への同調を担っていることから、メラノプシン遺伝子の破壊は概日時計を乱すことになり、代謝異常を引き起こすであろうと考えられる。しかし、メラノプシンが担う非視覚光応答の破壊が生体機能に及ぼす影響についての詳細な解析はまだ行われていない。本研究では、メラノプシン遺伝子破壊マウスをモデル動物として用い、非視覚光応答の機能障害は概日リズムと代謝機能にどのような影響を与えるのかを明らかにする。

3. 研究の方法

8 週齢オスの野生型 (WT) とメラノプシン遺伝子破壊マウス ($Opn4^{Cre/Cre}$, Hatori *et al.*, PLoS ONE 2008) を用い、12 時間明期 : 12 時間暗期 (12L:12D) の光条件下で通常食もしくは高脂肪食に 24 時間アクセスできる環境におき、長期間 (16 週以上) にわたって飼育する。4 群のマウスにおける、摂取量、活動量、体重、体脂肪率、血糖値など様々な代謝状態を測定するとともに、肩甲骨の褐色脂肪 (brown adipose tissue; BAT) と皮下や内臓の白色脂肪 (white adipose tissue; WAT) を採取し、H&E 染色による脂肪組織の形態的变化の解析と qPCR による遺伝子発現の網羅的解析を行う。

4. 研究成果

通常食を与えた $Opn4^{Cre/Cre}$ マウスは摂取量と体重変化において WT との差はほとんど見られなかったが、glucose tolerance test (GTT) 検査では WT より血糖値が高く、遊離脂肪酸の血中濃度も高かった。さらに、 $Opn4^{Cre/Cre}$ マウスに高脂肪食を与えると WT に比べて体重増加が早く、GTT と insulin tolerance test の結果からも WT より肥満症になりやすい傾向があることを

確認した。一方、脂肪組織の H&E 染色による油滴サイズの計測などの形態的解析では、全ての脂肪組織において WT と *Opn4^{cre/cre}* マウス間の大きな差は見られなかった。ところが、CT 撮影により脂肪の分布を調べたところ、*Opn4^{cre/cre}* マウスは体脂肪率のほかにも、内臓脂肪レベルや皮下脂肪率も高いことが確認できた。また、BAT 造影 CT 検査 (eXIA 160XL の投与) により褐色脂肪の代謝活性度を比較したところ、肩甲骨の褐色脂肪では WT との差はなかったが、脊髄周辺の褐色脂肪においては *Opn4^{cre/cre}* の代謝活性が低い傾向が見られた。次に、褐色脂肪の代謝活性と密接に関係のある体温維持能と活動量の測定を行った。肩甲骨の褐色脂肪における温度変化と活動量のリズムを調べた結果、WT マウスが夜間に有意に体温が上昇し、活動量も高くなることに対して、*Opn4^{cre/cre}* マウスでは体温変化と活動量のリズムが弱くなっていた。さらに、寒冷刺激を与えると *Opn4^{cre/cre}* マウスは WT より大きく体温が低下し、体温維持能が弱化していることを確認した。これらの *in vivo* 評価の結果と一致して、*Opn4^{cre/cre}* では褐色脂肪の熱産生機能を担う *Ucp1* 遺伝子の発現レベルが弱くなっていた。以上の結果から、メラノプシンが担う非視覚光応答の破壊は脂肪組織の機能異常をもたらし、代謝異常を引き起こす可能性が示唆された。褐色脂肪や皮下と内臓の白色脂肪においてメラノプシンの mRNA が発現していることを確認しており、今後、メラノプシンが直接脂肪細胞を標的として働く可能性についての検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miller Simon, Son You Lee, Aikawa Yoshiki, Makino Eri, Nagai Yoshiko, Srivastava Ashutosh, Oshima Tsuyoshi, Sugiyama Akiko, Hara Aya, Abe Kazuhiro, Hirata Kunio, Oishi Shinya, Hagihara Shinya, Sato Ayato, Tama Florence, Itami Kenichiro, Kay Steve A., Hatori Megumi, Hirota Tsuyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Isoform-selective regulation of mammalian cryptochromes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 676-685
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41589-020-0505-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Son You Lee, Ubuka Takayoshi, Tsutsui Kazuyoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Molecular Mechanisms of Gonadotropin-Inhibitory Hormone (GnIH) Actions in Target Cells and Regulation of GnIH Expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fendo.2019.00110	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 You Lee Son
2. 発表標題 Circadian regulation in brown adipose tissue
3. 学会等名 BBRSC-JAPAN partnering workshop（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 孫ユリ、羽鳥恵
2. 発表標題 脂肪細胞の褐色化における概日時計の役割
3. 学会等名 第19回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 孫ユリ、羽鳥恵（編集：坪田 一男）	4. 発行年 2019年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 192
3. 書名 診療で役立つ！ 近視進行予防のサイエンス 第3章 「5. 近視とサーカディアンリズム p.141-148」	

〔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			
英国	University of Edinburgh	Roslin Institute		
米国	University of Southern California			