

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11047

研究課題名(和文)慢性不眠に起因する代謝異常発症の責任分子カスケードの同定と創薬基盤の構築

研究課題名(英文) Mechanism of metabolic disorders caused by chronic sleep disturbance

研究代表者

近久 幸子 (CHIKAHISA, Sachiko)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・講師

研究者番号：00452649

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)：本研究は、慢性不眠に伴う代謝異常のメカニズムについて検討を行った。野生型マウスを慢性的な睡眠不足にすると顕著な耐糖能異常が認められたが、全身のマスト細胞を欠損したマウスでは、慢性不眠に伴う耐糖能異常が減弱した。これらの結果から、慢性不眠に伴う代謝異常には、マスト細胞が関与する可能性が大きいことが示唆された。さらに、頭蓋内のマスト細胞は、セロトニン系を介して社会性行動などの行動調節にも関わることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本には慢性的な睡眠不足を抱えている人が多く、それに伴う肥満や糖尿病などのリスク増大が社会問題となっている。しかしながら、慢性不眠がどのように代謝性疾患を惹起するかについて、その分子メカニズムは明らかではない。本研究は、慢性不眠に伴う代謝性疾患の分子メカニズムを、マスト細胞との関連から解明しようと試みたものである。

また、近年、マスト細胞が情動行動などの行動調節に関与することが明らかとなっていることから、本研究結果は、これまで知られていない頭蓋内マスト細胞の役割を解明するものであり、代謝性疾患だけでなく、睡眠障害に併発する他の行動異常や精神疾患に関わる新たな治療法につながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the mechanism of metabolic disorders associated with chronic sleep disturbance. Chronic sleep disturbance induces impaired glucose tolerance in wild-type mice, but the impaired glucose tolerance induced by sleep loss was attenuated in mice lacking mast cells throughout the body. These results suggest that mast cells are likely to be involved in metabolic disorders associated with chronic sleep disturbance. Furthermore, we demonstrated that intracranial mast cells are also involved in behavioral regulation such as social behavior via the serotonin system.

研究分野：環境生理学

キーワード：慢性不眠 マスト細胞 行動調節

1. 研究開始当初の背景

慢性不眠が、糖尿病や肥満などの代謝性疾患のリスクを増大させることは古くから知られているが、そのメカニズムは未だ十分であるとは言いがたい。マスト細胞は、皮膚や粘膜組織におけるアレルギー反応の主役であるが、最近では脳や脂肪組織に存在するマスト細胞が、エネルギー代謝調節や行動調節に関与する事がわかってきた。申請者はこれまでに、不眠に伴う代謝異常の要因としてマスト細胞が関与することを見出したが、具体的な分子メカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

本研究では『睡眠不足によって惹起される代謝性疾患の分子メカニズムについて、マスト細胞との関連から明らかにすること』を目的とした。また、代謝性疾患だけでなく、情動行動や社会性行動などの行動異常におけるマスト細胞の役割についても明らかとすることを目的とした。

3. 研究の方法

研究代表者は、野生型マウス、およびジフテリア毒素 (Diphtheria toxin; DT) の腹腔内投与により全身のマスト細胞が消失できる、Mas-TRECK (Mast cell specific-toxin receptor mediated conditional cell knock out) マウス (理化学研究所・久保允人先生より譲渡) を用いて、以下の実験を行った。

(1) 慢性不眠モデルの作製

野生型マウスを慢性不眠にできる金網上で飼育し、慢性的に睡眠の量と質が障害されるマウスの作製を試みた。

(2) 耐糖能変化

グルコース負荷試験 (glucose tolerance test、GTT) およびインスリン負荷試験 (insulin tolerance test、ITT) を行い、慢性不眠モデルマウスの耐糖能異常の有無を検討した。

(3) マスト細胞数の変化

野生型マウスの慢性不眠モデルマウスを用いて、脳内と白色脂肪細胞のマスト細胞数をカウントした。

(4) 脳内分子変化

Mas-TRECK マウスを用いて肥満細胞を除去した条件下で、脳を採取し、リアルタイム RT-PCR や HPLC により、脳内分子変化の検討を行った。(慢性不眠モデルマウスを用いた脳内分子変化は、現在解析中である。)

(5) 行動変化

野生型マウスにマスト細胞の脱顆粒剤を脳室内投与し、網羅的行動解析を行った。また、Mas-TRECK マウスを用いて肥満細胞を除去した条件下で、同様に網羅的行動解析を行った。

4. 研究成果

本研究を実施することにより、以下の成果を得た。

(1) 慢性不眠モデルの作製

野生型マウスおよび Mas-TRECK マウスを金網上で3週間飼育することにより、ノンレム睡眠が減少するとともに、睡眠深度の指標であるノンレム睡眠中の slow-wave-activity (SWA) が減弱するマウスが作製された。また、これらのマウスでは、体温の上昇や自発活動量の増大も認められた。

(2) 耐糖能変化

上記(1)で作製した慢性不眠モデルマウスを用いて、グルコース負荷試験 (glucose tolerance test、GTT) を行った結果、野生型マウスでは顕著な耐糖能異常が認められたが、DT投与によりマスト細胞を欠損させた Mas-TRECK マウスでは、慢性不眠による耐糖能異常が減弱していた。インスリン負荷試験 (insulin tolerance test、ITT) では、野生型マウス、Mas-TRECK マウスともに、慢性不眠による顕著な変化は認められなかった。

(3) マスト細胞数の変化

野生型マウスの慢性不眠モデルマウスを用いて、頭蓋内と脂肪細胞のマスト細胞数をカウントしたところ、頭蓋内（髄膜、脳室周囲、血管周囲、脳実質含む）と白色脂肪細胞のマスト細胞数が増大していることが明らかとなった。

(4) 脳内分子変化

Mas-TRECK マウスを用いて肥満細胞を除去した条件下で、マウスの脳組織を解析したところ、セロトニン濃度の低下、セロトニン分解酵素の mRNA 発現の増加、セロトニン受容体 mRNA 発現の減少が認められた。また、オキシトシン受容体 mRNA 発現が前頭前皮質では減少し視床下部では増加していた。

(5) 行動変化

野生型マウスを用いて、脳室内へ肥満細胞の脱顆粒薬を投与し、様々な行動解析を行った結果、3チャンパー試験（自閉症モデルなどマウスの社会性行動を評価する試験）における新規マウスへの過剰な接近など、社会性行動の異常が確認された。さらに、DT 投与により全身のマスト細胞が欠損した Mas-TRECK マウスでは、3-チャンパー試験における新規マウスへの接近の低下が認められた。一方、DT 投与から 60 日経過すると、頭蓋内のみ肥満細胞は再発現したが、この時には社会性行動の異常が改善されることが明らかとなった。

以上の結果から、慢性不眠に起因する代謝異常には、マスト細胞が何らかの役割を果たすことが明らかとなった。現在、慢性不眠によってマスト細胞の増殖を促す分子メカニズムについてより詳細な解析を行っている段階である。また、マウス頭蓋内肥満細胞は、モノアミンやその関連酵素、オキシトシン受容体などの発現を変化させることで、社会性行動の調節に関わる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanioka Daisuke, Chikahisa Sachiko, Shimizu Noriyuki, Shiuchi Tetsuya, Sakai Noriaki, Nishino Seiji, Sei Hiroyoshi	4. 巻 403
2. 論文標題 Intracranial mast cells contribute to the control of social behavior in male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113143-113143
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbr.2021.113143	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 -
1. 著者名 Kondo Yoshitsugu, Chikahisa Sachiko, Shiuchi Tetsuya, Shimizu Noriyuki, Tanioka Daisuke, Uguisu Haruo, Sei Hiroyoshi	4. 巻 214
2. 論文標題 Sleep profile during fasting in PPAR-alpha knockout mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physiology & Behavior	6. 最初と最後の頁 112760 ~ 112760
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.physbeh.2019.112760	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 -
1. 著者名 Muramatsu Kazuhiro, Chikahisa Sachiko, Shimizu Noriyuki, Sei Hiroyoshi, Inoue Yuichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Rotigotine suppresses sleep-related muscle activity augmented by injection of dialysis patients' sera in a mouse model of restless legs syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16344 ~ 16344
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-52735-z	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 -
1. 著者名 Shiuchi Tetsuya, Masuda Takuya, Shimizu Noriyuki, Chikahisa Sachiko, Sei Hiroyoshi.	4. 巻 69
2. 論文標題 Dopamine stimulation of the septum enhances exercise efficiency during complicated treadmill running in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Physiol Sci.	6. 最初と最後の頁 1019 ~ 1028
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12576-019-00722-4	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 -

1. 著者名 Shiuchi Tetsuya, Miyatake Yumiko, Otsuka Airi, Chikahisa Sachiko, Sakaue Hiroshi, Sei Hiroyoshi	4. 巻 514
2. 論文標題 Role of orexin in exercise-induced leptin sensitivity in the mediobasal hypothalamus of mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 166 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.04.145	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 -

1. 著者名 Otsuka Airi, Shiuchi Tetsuya, Chikahisa Sachiko, Shimizu Noriyuki, Sei Hiroyoshi	4. 巻 219
2. 論文標題 Sufficient intake of high-fat food attenuates stress-induced social avoidance behavior	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 219 ~ 230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2019.01.012	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 -

1. 著者名 Chikahisa Sachiko, Chida Daiki, Shiuchi Tetsuya, Harada Saki, Shimizu Noriyuki, Otsuka Airi, Tanioka Daisuke, Sei Hiroyoshi	4. 巻 359
2. 論文標題 Enhancement of fear learning in PPAR knockout mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 664 ~ 670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2018.09.020	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 -

1. 著者名 近久幸子	4. 巻 12
2. 論文標題 睡眠負債と代謝性疾患	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 睡眠医療	6. 最初と最後の頁 369 ~ 373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Chikahisa S
2. 発表標題 Sleep loss impairs glucose tolerance in mice
3. 学会等名 Orofacial Pain Association of the Philippines (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Chikahisa S, Shiuchi T, Tanioka D, Shimizu N, Otsuka A, Sei H,
2. 発表標題 Chronic mild stress increases aggressive behavior in mice,
3. 学会等名 FAOPS 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近久幸子, 西野精治, 勢井宏義
2. 発表標題 慢性睡眠制限で生じる耐糖能異常の機序
3. 学会等名 日本睡眠学会第43回定期学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔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
---------	---------