

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19745

研究課題名（和文）自発運動を惹起する消化管スイッチとそのシステムの探索

研究課題名（英文）Exploration of the gastrointestinal switch that induces locomotion and its system

研究代表者

志内 哲也（SHIUCHI, Tetsuya）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・准教授

研究者番号：70372729

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：回転かご運動を用いて高運動志向性マウスおよび低運動志向性マウスに分類し、これらのマウスから消化管上皮細胞における遺伝子発現の違いを網羅的に比較した。その結果、いくつかの候補遺伝子が見つかり、そのうちの1つはアゴニストの経口投与により運動志向が向上すること、迷走神経求心路を阻害することでその作用が低下することを見出した。上記候補遺伝子の遺伝子欠損マウスを用いて、そのアゴニストを経口投与しても運動志向性は上昇せず、このマウスの消化管にアデノウイルスを用いて人工的に遺伝子発現を回復させると、脂肪食摂取による運動志向性の向上作用がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトでは、頭では分かっているにもかかわらず自発的に運動することは難しく、運動の実施を推奨されるべき人ほど自発的に運動しない傾向が強い。本研究結果は、末梢を発端として運動への意欲を制御できる可能性を示唆する。これまでの自発運動量に関する研究では、骨格筋や脳に焦点を当てたものが多く、消化管からのアプローチは皆無であった。腸管上皮の分子を刺激するだけで吸収されないようなアゴニストが開発できれば、新規薬剤の作製にも貢献できる。習慣的な運動は、貯筋を促進することでサルコペニアの予防に寄与するだけでなく、認知機能や情動の安定など、超高齢化社会における継続的な健康にも大きく貢献するだろう。

研究成果の概要（英文）：I classified mice into high- and low-exercise-oriented mice using cage wheel motion, and comprehensively compared gene expression differences in gastrointestinal epithelial cells from these mice. As a result, several candidate genes were found, one of which was found that oral administration of an agonist enhances the desire to exercise, and that inhibition of the vagus nerve afferent reduces its action. Oral administration of the agonist did not increase exercise preference in mice lacking the above candidate gene. When gene expression was artificially restored by using adenovirus in the gastrointestinal tract of these mice, a fat diet-induced improvement in exercise orientation was observed.

研究分野：生理学

キーワード：運動習慣 モチベーション 腸脳相関 ドーパミン

## 1. 研究開始当初の背景

習慣的な運動は、貯筋を促してサルコペニアを予防するだけでなく、認知機能や情動の安定など、健康な脳の保持・増強にも大きく貢献する。しかし、ヒトに対して自発的な運動を促すことは難しく、臨床現場における長年の課題である。げっ歯類を用いた研究においては、強制的に運動をさせる手段として、ペプチドや薬物の脳内への直接投与などが用いられる。しかし、ヒトへの応用を考えると、脳内への直接作用は危険であるため、末梢からの介入が必要である。

我々はこれまでに、消化管ホルモンであるグレリンが、高運動志向性ラットの自発運動を抑制することや (Peptides 2017) 消化管に発現する分子を脂肪酸が刺激すると、神経性に中枢ドーパミンニューロンを活性化させる経路を用いて、自発的な律動運動を亢進させる可能性を見出している。これらは、内的な運動モチベーション啓発への応用が期待できるが、肥満モデルマウスではこれらの機構に抵抗性が生じているために、その他の分子生理メカニズムを発見・解明する必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究は、高運動志向性マウスの消化管から、その候補遺伝子を発掘し、運動意欲を高める新たな腸脳関連システムを開拓することを目的とした。

## 3. 研究の方法

回転かご運動が多い高運動志向性マウスおよび回転かご運動が少ない低運動志向性マウスから消化管組織を採取し、DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現の違いを網羅的に比較した。本研究では、12~16 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用いた。

末梢のターゲット分子から脳へ向かって神経性の情報伝達が、自発運動亢進に必要なかを調べるため、カプサイシンを用いて横隔膜下からの求心性無髄神経の機能を欠失させた状態でターゲット分子のアゴニストを経口投与し、回転かごを用いて自発運動量を測定した。

ドーパミンは意欲に關する重要な脳内モノアミンであるため、ターゲット分子のアゴニスト経口投与におけるドーパミンニューロンの活性を調べた。活性化した神経が発現する c-Fos の抗体と、ドーパミン産生ニューロンが発現するチロシン脱水素酵素の抗体を用いて、免疫組織化学染色法で共染色し、活性化したドーパミン産生ニューロンの細胞数を定量した。次に、ターゲット分子のアゴニスト投与前に、ドーパミンの標的脳部位に受容体アンタゴニストを側脳室内に投与し、マウスの回転かご運動亢進に対してドーパミンが作用する受容体サブタイプを同定した。

経口投与したターゲット分子のアゴニストが脳内に移行して作用した可能性を調べるため、ターゲット分子のアゴニストを留置カニューレよりマウス側脳室内に投与し、自発運動量の増加が見られるかを測定した。

ターゲット分子の遺伝子欠損マウスを準備し、上記と同様に実験を行った。また、十二指腸から小腸上部においてアデノウイルスを用いてターゲット分子の発現を回復させ、上記と同様の実験を行った。

## 4. 研究成果

DNA マイクロアレイの結果、あるターゲット分子 (未論文化のため隠匿) に焦点を当てた。そのターゲット分子は脂肪酸代謝関連遺伝子であるため、マウスに対して一過性に 2 時間だけ、自由摂食で高脂肪食を与えると、その後 2 時間における輪回し運動が増加することを見出した。ターゲット分子欠損マウスに対して同様の実験を行っても、輪回し運動の増加は見られなかった。また、野生型マウスにおける高脂肪食摂取後のこのような運動亢進作用は、Tail suspension test や Open field test、強制水泳テストや Rota-rod test など、他の運動を伴う行動テストでは認められず、輪回し運動のような自発的な律動運動にのみ特異的な作用であることが分かった。

一方、C57BL/6J マウスを用いたターゲット分子のアゴニストの経口投与実験でも、輪回し運動亢進作用が見られた。しかし、側脳室内へターゲット分子のアゴニストを投与した場合は、輪回し運動亢進作用が見られなかったため、末梢組織におけるターゲット分子が関与すると考えられた。また、カプサイシンを用いて迷走神経求心路を機能欠失させたマウスにターゲット分子のアゴニストを経口投与すると、輪回し運動亢進作用は見られなかったため、末梢組織のターゲ

ット分子から中枢への神経性の情報伝達が必要であることが分かった。さらに、ターゲット分子のアゴニストの経口投与でドーパミン産生ニューロンの活性化を認めたが、カプサイシンで迷走神経求心路を機能欠失させると見られなくなった。そこで、マウス側脳室内にドーパミン受容体阻害薬を投与しておく、ターゲット分子のアゴニスト経口投与による輪回し運動亢進作用が見られなくなったため、脳内ドーパミンの関与が示唆された。

ターゲット遺伝子欠損マウスの消化管(十二指腸から空腸にかけて)にアデノウイルスを用いてターゲット分子を強制発現させ、そのマウスにターゲット分子のアゴニストを経口投与すると、ターゲット分子欠損マウスでは見られなかった輪回し運動亢進作用が認められた。

これらのことより、消化管のターゲット分子から求心神経を介して中枢ドーパミンニューロンを活性化させるシステム経路を用いて、内的な運動モチベーションを啓発できる可能性が明らかとなった。今後はドーパミンの作用部位や受容体サブタイプによる機能発現の違いなどを解明する必要がある。また、運動が必要な肥満マウスでの検討も必要になる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kakehi S, Tamura Y, Ikeda SI, Kaga N, Taka H, Ueno N, Shiuchi T, Kubota A, Sakuraba K, Kawamori R, Watada H.	4. 巻 321
2. 論文標題 Short-term physical inactivity induces diacylglycerol accumulation and insulin resistance in muscle via lipin1 activation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Physiol Endocrinol Metab.	6. 最初と最後の頁 E766-E781
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpendo.00254.2020.	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 -

1. 著者名 Shiuchi T, Otsuka A, Shimizu N, Chikahisa S, Sei H.	4. 巻 22
2. 論文標題 Feeding Rhythm-Induced Hypothalamic Agouti-Related Protein Elevation via Glucocorticoids Leads to Insulin Resistance in Skeletal Muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 10831-10831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms221910831.	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 -

1. 著者名 Dalanon J, Chikahisa S, Shiuchi T, Shimizu N, Chavan P, Suzuki Y, Okura K, Sei H, Matsuka Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Pain sensitivity increases with sleep disturbance under predictable chronic mild stress in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 14231-14231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-93560-7.	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 -

1. 著者名 Tanioka D, Chikahisa S, Shimizu N, Shiuchi T, Sakai N, Nishino S, Sei H.	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 Behav Brain Res.	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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

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 該当する

1. 著者名 Ikeda Yasumasa, Watanabe Hiroaki, Shiuchi Tetsuya, Hamano Hirofumi, Horinouchi Yuya, Imanishi Masaki, Goda Mitsuhiro, Zamami Yoshito, Takechi Kenshi, Izawa-Ishizawa Yuki, Miyamoto Licht, Ishizawa Keisuke, Aihara Ken-ichi, Tsuchiya Koichiro, Tamaki Toshiaki	4. 巻 63
2. 論文標題 Deletion of H-ferritin in macrophages alleviates obesity and diabetes induced by high-fat diet in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetologia	6. 最初と最後の頁 1588 ~ 1602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00125-020-05153-0	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 T, Miyatake Y, Otsuka A, Chikahisa S, Sakaue H, Sei H.	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 Biochem Biophys Res Commun.	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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shiuchi T, Masuda T, Shimizu N, Chikahisa S, Sei H	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 Otsuka A, Shiuchi T, Chikahisa S, Shimizu N, Sei H.	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 Sci.	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 S, Chida D, Shiuchi T, Harada S, Shimizu N, Otsuka A, Tanioka D, Sei H.	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 Behav Brain Res.	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 志内哲也
2. 発表標題 運動による代謝変動と脳機能連関
3. 学会等名 第29回 日本運動生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 志内哲也
2. 発表標題 臓器・機能連関からみる摂食行動と代謝制御
3. 学会等名 第8回 日本時間栄養学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 志内哲也
2. 発表標題 摂食リズムによる視床下部を介した臓器連関作用
3. 学会等名 第7回 日本時間栄養学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 志内哲也
2. 発表標題 摂食リズムによる末梢 中枢連関作用と代謝生理学的適応
3. 学会等名 第27回 日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 志内哲也
2. 発表標題 身体不活動にともなう骨格筋代謝の変化が高次脳機能に及ぼす影響
3. 学会等名 生理研研究会『運動器/代謝系連関による生体機能制御とその変容の仕組み』（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 志内哲也
2. 発表標題 エネルギーコストを指標とした運動効率向上における脳内機構の解明
3. 学会等名 第27回日本運動生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuya Shiuchi, Keisuke, Hashimoto, Ayaka Hashimoto, Sachiko Chikahisa, Noriyuki Shimizu, Hiroyoshi Sei
2. 発表標題 Dopaminergic neuron activation via gut PPAR-alpha enhanced the motivation for wheel running in mice
3. 学会等名 NEURO2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 志内哲也、増田拓也、清水敬之、近久幸子、勢井宏義
2. 発表標題 複雑な運動中の運動効率に及ぼすドーパミン作用
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019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
---------	---------