

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月30日現在

機関番号：32651
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21300256
 研究課題名（和文） 体重のセットポイントに及ぼす幼若齢期モデルラットの運動と食事制限の比較
 研究課題名（英文） Effects of exercise and food restriction during childhood on the set point for body weight in genetically obese OLETF rats

 研究代表者
 鈴木政登（SUZUKI MASATO）
 東京慈恵会医科大学・医学部・教授
 研究者番号：10110925

研究成果の概要（和文）

本研究の目的は、幼若齢期（5～19週齢）の運動または給餌制限のいずれが体重のセットポイント再設定に影響するのかを明らかにすることである。肥満モデル OLETF ラットに、幼若齢期に自発運動をさせ、その後45週齢時まで体重、除脂肪量などの推移を観察した後、大腿四頭筋エネルギー代謝関連物質を調べ、給餌制限群と比較した。その結果、給餌制限ではなく、運動によるエネルギー消費増大が遺伝的に設定された体重のセットポイントを10～20%低下させることが示された。

研究成果の概要（英文）

The present study was conducted to examine whether a decrease in energy expenditure caused by reduced physical activity during childhood or an increase in energy intake caused by overeating during childhood was responsible for resetting the set point for body weight (BW). At the completion of the experiment, lean body mass (LBM); energy metabolism-related enzymes such as CS, SDH, and PFK; and UCP-3mRNA expression were significantly higher in the exercise group than in the diet-restriction and sedentary groups. The present study suggests that prevention of BW gain by performing regular exercise during childhood contributes to increased skeletal muscle mass and enhanced energy expenditure. Further, early-onset exercise may contribute to resetting the set point for BW in individuals genetically predisposed to obesity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	2,395,511	720,000	3,115,511
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	6,095,511	1,830,000	7,925,511

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：体重セットポイント、幼若齢期、運動、給餌制限、体重、除脂肪量、UCP-3mRNA

1. 研究開始当初の背景

近年の先進諸国における肥満児発症頻度は約30年前の2.5~3倍に増加しており、わが国も例に漏れない。肥満は遺伝し、両親が肥満の場合、その子どもの8割が肥満に移行することが知られ、遺伝的に将来の体重レベルが設定されていると言われる(体重のセットポイント説)。

しかし、近年の肥満児発症増加原因として、身体活動不足や栄養摂取過剰、とくに脂肪摂取比率の増加が挙げられている。この事実は、遺伝的に決定されている体重レベルに、後天的な要因、生活環境の変化が影響したことを示唆している。つまり、遺伝的に決定された体重のセットポイントが、後天的要因によって再設定されたと考えられる。さらに、ヒト、嚙歯類いずれも成人に到達した後の運動・トレーニング介入解除後には再び元の体重に回復することが数多く報告されている。したがって、成人期以前の過食や運動不足などが体重のセットポイント再設定に及ぼす後天的要因と考えられる。

次いで、成人期以前の小児~青年期の運動不足によるエネルギー消費量減少または過食によるエネルギー摂取量過剰のいずれが体重のセットポイント再設定に最も強い影響を及ぼすのか、興味もたれる。さらに、運動によるエネルギー消費増大と摂食制限によるエネルギー摂取制限のいずれが、遺伝性肥満の体重のセットポイント再設定に重要であるのかを明確にすることは、肥満児対策上極めて重要と思われる。

2. 研究の目的

本研究では、遺伝性肥満糖尿病モデルラットを用い、ヒト小児期相当期の自発運動によるエネルギー消費増大を介して体重増加を抑制した場合と、給餌制限によるエネルギー摂取削減により体重増加を抑制した場合の、青~壮年期相当期に到るまでの体重や体組成変化を観察し、安静対照ラットの変化と比較することにより、遺伝的に設定された体重のセットポイント(安静対照群の体重推移)が変わるか否かを明らかにする。また、その体重のセットポイントが再設定された場合、運動によるエネルギー消費亢進と、給餌制限によるエネルギー消費抑制の、いずれが体重のセットポイント再設定に最も強い影響を及ぼしたのかも吟味する。

3. 研究の方法

肥満糖尿病モデル Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラット及び正常対照 Long Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを用いた。ラットの週齢を、① ヒト乳幼児~学童相当期(幼若齢期; 5~19週齢)、② ヒ

ト青年期相当期(成長~成熟期; 20~35週齢)、③ 壮年期相当期(成熟期; 36~45週齢)に分類した。幼若齢期の15週間、回転ケージ(シナノ製作所)による自発走運動

(Child-Ex 群) または、運動群と同体重になるよう給餌制限した (Child-Diet 群)。さらに、5~45週齢時まで安静を維持させた

OLETF-Sed および LETO-Sed 群を加え、各群のラット数は7~8匹であった。体重、摂餌量、飲水量は毎週午前中の決まった時間に測定し、内臓脂肪 (VFM)、皮下脂肪 (SFM) および除脂肪量 (LBM) は小動物用 X 線 CT 装置

(Latheta LCT-2000, Aloka) を用いて、7, 12, 20, 27, 35, 45 週齢時に測定した。体組成測定と同じ週齢時の早朝空腹時に麻酔下で眼底静脈叢より採血し、血糖、インスリン、FFA、レプチン濃度を測定した。全飼育終了後の46週齢時に全量採血による脱血屠殺後、各臓器、皮下、内臓脂肪および大腿四頭筋を摘出、秤量した。血液検体を用い、血清 TG、HDL-C、LDL-C 濃度を測定し、さらに大腿四頭筋中のエネルギー代謝関連酵素 (CS、SDH、PFK) 活性および UCP-3 mRNA 発現量を測定した。

4. 研究成果

1) 体重、摂食量および体組成変化

5~19 週齢時までの介入期間の体重変化は Child-Ex と Child-Diet 群まったく同じであったが、介入解除後 Child-Diet 群の体重は速やかに増加し、8週間後には OLETF-Sed 群との間に有意差がなくなった。しかし、Child-Ex 群の体重は介入解除後も急激な増加は示さず、OLETF-Sed 群の 80~90%レベルで40週齢時まで推移し、其の後有意差は消失したが、低値傾向は45週齢の実験終了時まで持続した。摂食量は、介入期間中および介入解除後の33週齢時まで Child-Ex 群の体重当り摂餌量が有意な高値で推移したが、OLETF-Sed、-Diet および LETO-Sed 群間には全く差異がなかった。一方、Child-Ex 群は全実験期間中内臓脂肪 (VFM)、皮下脂肪量 (SFM) が有意に低く、体重当り除脂肪量 (%LBM) は有意な高値で推移した。

2) 血糖、インスリン、レプチン濃度変化

各介入期間中の7、12週齢時の血糖、インスリン濃度には OLETF-Sed、-Ex、-Diet 群間に有意差はなかった。一方、血清レプチン濃度は OLETF-Sed 群に比較し、-Ex、-Diet 群の値が有意な低値で推移した。介入解除後の20週齢から45週齢時まで、OLETF-Ex 群の血糖、インスリン、レプチン濃度および HOMA-R (Homeostasis model assessment of insulin resistance) 値は OLETF-Sed および -Diet 群に比較し有意な低値で推移した。一

方、OLETF-Diet 群は介入解除後、血糖、インスリン、レプチンおよび HOMA-R 値は漸増し、35 週齢時には OLETF-Sed 群の値との間の有意差が消失した。

3) 血清脂質、骨格筋酵素活性および UCP-3 mRNA 発現量

全実験終了時の 46 週齢時に測定した血清脂質濃度を比較した結果、血清総コレステロール (Tcho)、トリグリセライド (TG)、HDL-コレステロール (HDL-C) および LDL-コレステロール (LDL-C) 濃度いずれも OLETF-Sed 群の値が他 3 群 (OLETF-Ex, -Diet, LETO-Sed) に比較し有意な高値であった。一方、OLETF-Ex 群の Tcho, TG, HDL-C および LDL-C いずれも OLETF-Sed および -Diet 群に比較し有意な低値であった。しかし、OLETF-Ex 群の血清 HDL-C/Tcho 比は OLETF-Sed 群に比較して有意な高値であった。

OLETF-Ex 群の大腿四頭筋エネルギー代謝関連酵素 citrate synthase (CS), 6-phospho-fructo-1-kinase (PFK), succinate dehydrogenase (SDH), および uncoupling protein 3 (UCP-3) mRNA は他 3 群に比較し、2~3 倍の活性高値を示した。

4) 血清レプチン濃度と摂餌量変化との関連

レプチンは視床下部摂食中枢に作用し、摂食を抑制する働きがある。本研究における OLETF ラット、LETO ラットいずれも 10 週齢時以降摂餌量はプラトーに達し、OLETF-Sed ラットは 45 週齢時まで殆ど変化しなかった。OLETF-Diet 群は 15 週間の介入期間中、OLETF-Sed 摂餌量の約 70% に給餌制限されたが、制限解除後は漸増し、27 週齢時には有意差がなくなった。一方、OLETF-Ex 群は介入中 OLETF-Sed 群と殆ど同じ摂餌量推移を示したが、34 週齢時以降減少に転じた。絶対摂餌量を体重あたりの相対摂餌量 (g/kg) 変化で示すと、OLETF-Sed、-Diet、LETO-Sed 群は 5~45 週齢まで全く同じレベルで推移した。しかし、Child-Ex 群は 15 週間の介入期間のみならず介入解除後の 35 週齢時まで有意な高値で推移した。一方、全実験期間中の血清レプチン濃度の推移は既述の通りである。摂餌量と血清レプチン濃度との関連は OLETF ラット、LETO ラット間で異なり、さらに介入の種類によっても異なった。まず、OLETF-Sed 群の摂餌量と血清レプチン濃度変化との間には有意な関連性は認められなかった ($r=0.195$, NS) が、体重あたり摂餌量との間には $r=-0.794$ の有意 ($p<0.001$) な負相関が示された。LETO-Sed 群の場合はそれぞれ $r=0.567$ ($p<0.01$)、 $r=-0.66$ ($p<0.01$) であった。一方、OLETF-Ex 群の場合、絶対摂餌量と血清レプチン濃度間には負相関の傾向 ($r=-0.28$, NS) であったが、体重あたり摂餌量では

$r=-0.72$ の有意 ($p<0.001$) な負相関を示した。OLETF-Diet 群では、絶対摂餌量と血清レプチン濃度間の相関係数は $r=0.73$ の有意 ($p<0.001$) な正相関を示したが、体重あたり摂餌量との間の相関は有意 ($p<0.001$) な負相関 ($r=-0.70$) であった。全ての群に共通しているのは、体重あたり摂餌量と血清レプチン濃度間には有意な負相関が認められた、ということである。

以上のように、血清レプチン濃度と絶対摂餌量変化との間には OLETF ラット、LETO ラット群に共通した関連性は認め難く、OLETF ラット群間でも介入の違いによって異なった。

5) 体組成、血清レプチン濃度、エネルギー代謝関連物質との関連

内臓脂肪量 (VFM) と空腹時血糖 (PG) 変化との相関係数は OLETF ラット群のみでは $r=0.83$ ($p<0.001$)、OLETF ラットと LETO ラットを加えても $r=0.83$ ($p<0.001$) の高い関連であった。同様の関連性は皮下脂肪量 (SFM) でも見られた。血清レプチン濃度は体脂肪量変化との関連が密接であり、%Fat mass と血清レプチン濃度間の相関係数は、OLETF-Sed は 0.89、-Ex は 0.88、Child-Diet 群は 0.91 の、いずれも有意 ($p<0.001$) な正の相関係数であり、介入の違いはなかった。一方、LETO ラットでも $r=0.83$ ($p<0.001$) の高い相関係数が示されたが、LETO ラット群の血清レプチン濃度の最高値は約 1,500 pg/ml であるが、OLETF ラット群の最高値は 3,000 pg/ml で、LETO ラットの概ね 2 倍の高値を示した。つまり、同じ体脂肪率 (%Fat) レベルであっても、LETO ラットに比較し、OLETF ラット群の血清レプチン濃度は 1.5~2 倍の高値であった。

大腿四頭筋中のエネルギー代謝に関連する酵素や関連蛋白の mRNA 発現量間の関連性を調べた。UCP-3 mRNA 発現量は PFK ($r=0.56$) および SDH ($r=0.58$) 活性と有意 ($p<0.01$) な正相関がみられたが、CS 活性とは低い相関係数しか示されなかった。

4. 考察

1) 体重、摂食量および体組成変化

5~19 週齢時 (ヒト幼若齢~青年期相当期) の運動後、20~45 週齢時 (ヒト青-壮年期相当期) まで安静を維持した幼若齢期運動群の体重は、5~45 週齢時まで安静を維持した群の体重の 80~90% で推移した。5~19 週齢の間給餌制限をした群では、介入解除後速やかに体重が増加した。OLETF-Ex 群は、運動介入 2 週目から VFM、SFM は低く、LBM が高くなり、介入解除後の 45 週齢時まで持続したが、OLETF-Diet 群の %Fat は OLETF-Sed 群よりは有意に低いレベルで推移したものの OLETF-Ex 群に比較し有意な高値であり、%LBM は有意な低値で推移した。さらに、

OETF-Ex 群の体重あたり摂餌量は有意な高値で推移した。

以上の結果を総括すると、5～19 週齢の幼若齢期に運動した群は体重に占める LBM 比率 (%LBM) が高く、体重あたり摂餌量は多かったが、体重は安静対照群の体重の 80～90% レベルに抑制された、ということになる。このことから考えられることは、筋肉量が多く保持され、しかも骨格筋のエネルギー代謝が亢進した結果と考えられる。

2) 血清レプチン濃度と摂餌量、体組成変化との関連

レプチンは視床下部摂食中枢に作用し、摂食を抑制し、骨格筋の代謝を亢進させる働きが知られている。この知見は、脳内にレプチンを注入して得られた結果であり、本研究で実際に観察された摂餌量変化と血清レプチン濃度変化からは、そのような作用は推察されなかった。血清レプチンレベルが高いことが、視床下部摂食中枢への影響の大きさを反映して居る訳ではないことが示唆される。つまり、血清レプチンレベルが高い状態では、体脂肪量が多く、血清脂質レベル、とりわけ血清 TG 濃度が高く、血清 TG と結合したレプチンは血液-脳関門 (BBB) を通過し難く、脳内レプチン濃度が低くなり、摂食亢進となる、所謂レプチン抵抗性亢進状態に陥ったと考えられる。一方、血清レプチン濃度は OETF ラット、LETO ラット問わず、体脂肪量、体脂肪率 (%Fat mass) と高い正相関があり、% LBM とは負相関が示された。レプチンは脂肪細胞から分泌されることから、体脂肪量が多ければ多程、血清レプチン濃度も高くなるという事が示された。しかし、血清レプチン濃度と %Fat mass との関連性は OETF ラットと LETO ラットでは異なっていた。同じ体脂肪率 (%Fat mass) でもレプチン濃度は OETF ラットの方が 1.5～2.0 倍高値であった。体脂肪絶対量と血清レプチン濃度との関連も略同様であった。このことから、OETF ラット脂肪細胞からのレプチン分泌調節閾値が異なっているのかも知れない。

3) 体組成、エネルギー代謝関連酵素活性、および UCP-3 mRNA 発現量との関連

幼若齢期に運動した群は体重に占める LBM 比率が高く、体重あたり摂餌量が多かったにも拘わらず体重は安静対照群の 80～90% レベルに抑制されたことから、骨格筋代謝活性が持続的に亢進した結果と推定したが、実際に大腿四頭筋中のエネルギー代謝に関連する PFK、CS、SDH および UCP-3 mRNA 発現量を定量した結果、OETF-Ex 群は他 3 群に比較し 2～3 倍の活性高値を示した。

以上のことから、幼若齢期の運動によって、体重のセットポイントが 10～20% 低値に再

設定されるが、給餌制限による体重増加抑制は一過性であることが明らかにされた。幼若齢期運動群は、介入期間のみならず介入解除後 45 週齢時まで体重、体脂肪量の増加を抑制し、除脂肪量を高く維持した。さらに、全実験終了時の大腿四頭筋 CS、SDH、PFK 活性などエネルギー代謝関連酵素活性が高く、骨格筋ミトコンドリアエネルギー代謝調節因子 UCP-3 の mRNA 発現量が有意に高値であったことから推定して、エネルギー代謝が亢進し続けたことが、体重増加を抑制したものと理解される。しかし、幼若齢期の運動によって獲得された何が、このような持続効果をもたらしたかは、今後の研究を待たねばならない。

5. 結論

近年の先進諸国に於ける肥満児および青年～壮年期の肥満者やメタボリック症候群罹患者の増加は、幼少期の身体不活動が強く関与している事が推測される。

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 0 件)
論文投稿準備中

[学会発表] (計 4 件)

- 1) 進藤大典、石山郁朗、鈴木政登、肥満モデルラットの壮年期相当期の体重に及ぼす幼若齢期の運動制限の比較. 第 65 回日本体力医学会大会、市川市、2010 年 9 月 17 日
- 2) 進藤大典、鈴木政登、幼若齢期の運動および食餌制限介入解除後の体組成および血清レプチン濃度の推移. 第 66 回日本体力医学会大会、下関市、2010 年 9 月 16 日
- 3) 長嶋優佳、進藤大典、鈴木政登、成熟期 OETF ラットの心・腎重量および心・腎組織所見に及ぼす幼若齢期自発走運動の影響. 第 64 回日本体力医学会大会、新潟市、2009 年 9 月 19 日
- 4) 進藤大典、長嶋優佳、鈴木政登、成熟期 OETF ラットの脂肪細胞サイズおよびレプチン発現量に及ぼす幼若齢期における自発走運動の影響. 第 64 回日本体力医学会大会、新潟市、2009 年 9 月 18 日

〔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

鈴木 政登 (SUZUKI MASATO)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：10110925

(2) 研究分担者

山内 秀樹 (YAMAUCHI HIDEKI)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：60220224

(3) 連携研究者

町田 修一 (MACHIDA SHUICHI)

東海大学・体育学部・准教授

研究者番号：40421226

木村 真規 (KIMURA MASAKI)

慶應義塾大学・薬学部・講師

研究者番号：40383666