

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25年 6月14日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590226

研究課題名（和文） エネルギー代謝リズムが血圧日内リズムに与える影響の解析

研究課題名（英文） Metabolic Cycles Are Linked to the Cardiovascular Diurnal Rhythm in Rats with Essential Hypertension

研究代表者

向坂 彰 (KOHSAKA AKIRA)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：00458051

研究成果の概要（和文）：ヒトの血圧日内リズムは、体内時計により制御されている。体内時計は、近年、エネルギー代謝調節の影響下にあることが明らかになってきた。しかし、血圧日内リズムがエネルギー代謝、とくにエネルギー代謝リズムの影響を受けるのかどうかは不明であった。本研究では、血圧日内リズムの乱れた本態性高血圧モデルラット（SHR）が摂食リズムの異常をもつこと、そして、摂食リズムの是正によって血圧日内リズムが正常化することを発見した。この発見により、血圧日内リズムはエネルギー代謝リズムの影響を受けることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Recent evidence has suggested that the metabolic and cardiovascular rhythms are subject to regulation by overlapping molecular pathways, indicating that dysregulation of metabolic cycles could desynchronize the normal diurnal rhythm of blood pressure (BP). However, little is known about the impact of changes in metabolic cycles on BP diurnal rhythm. In the present study, we found that spontaneously hypertensive rats (SHR), which develop essential hypertension with disrupted diurnal BP rhythms, exhibit attenuated feeding rhythm. More importantly, the correction of abnormal feeding rhythms in SHR restored the daily BP rhythm. These results indicate that the metabolic cycle is an important determinant of the cardiovascular diurnal rhythm.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：生体リズム、血圧日内リズム、エネルギー代謝リズム

1. 研究開始当初の背景

1997年に時計遺伝子 *Clock* が哺乳類で初めてクローニングされて以来、哺乳類の分子時計のメカニズムは飛躍的に解明された。それ

にともない、体内時計に大きな影響を与える因子として“光刺激”だけではなく“食餌刺激”も重要な役割を果たしていることが分子レベルで明らかになってきた。このようなことから、食事時間の変化、言い換えると“エ

エネルギー代謝リズム”の変化が、生体リズム全体に大きな影響を及ぼすであろうことは容易に想像できる。実際、ヒトの肥満患者の多くに摂食リズム異常がみられ、さらに、睡眠・覚醒リズムなどの複数のリズム異常が同時に認められる。このようなことから、エネルギー代謝リズムは生体リズムを考える上で重要な位置を占めていることが分かる。

近年、興味深いことに、エネルギー代謝リズムの異常が糖尿病、高脂血症の発症と深い関係にあることが報告されるようになった。糖尿病、高脂血症は、高血圧とともに心・脳血管障害の危険因子として知られればしばしば合併する。その高血圧において、血圧日内リズムの異常が高血圧の予後不良兆候とされている。このように、糖尿病、高脂血症、高血圧はいずれも合併しやすいだけでなく、生体リズムという観点からも深く結びついており、リズムの異常が病態発症や予後に大きく関与している。以上のことから、エネルギー代謝リズムと血圧日内リズムを統合して研究することは重要な課題と言える。しかしながら、今までエネルギー代謝リズムと血圧日内リズムの相互作用を調べた研究、とくに、エネルギー代謝リズムの変化が血圧日内リズムに与える影響を調べた報告はなかった。

2. 研究の目的

哺乳類でみられる血圧の日内リズムが、エネルギー代謝リズムの影響を受けているのかどうかを解明することを目的とした。この目的のために、本研究では、血圧日内リズムの異常が報告されている本態性高血圧モデルラット（spontaneously hypertensive rats: SHR）を用いて、血圧日内リズムとエネルギー代謝リズムに相関があるのかを解析した。

3. 研究の方法

(1) SHRの血圧日内リズムと摂食リズムの解析（実験1）

血圧日内リズムが、エネルギー代謝リズムの影響を受けるのかどうかを調べるために、まず、SHRの血圧日内リズムとエネルギー代謝リズムを解析した。エネルギー代謝リズムとしては、摂食量の日内リズム（摂食リズム）を調べた。血圧および摂食量の測定には、8週齢の雄のSHR、対照群としてWistar-Kyotoラット（WKY）を用いた。血圧測定用のテレメトリーシステムの送信器は、麻酔下で腹部に埋め込んだ。1週間の術後回復期間の後、24時間連続して血圧の測定を行った。また同時

に、明期および暗期（各12時間）の摂食量をそれぞれ測定した。以上の方法で得られた摂食および血圧日内リズムを2群間で比較した。

(2) SHRの視床下部における遺伝子発現の日内リズムの解析（実験2）

摂食行動は視床下部に発現する複数の神経ペプチドによって制御されている。このため、神経ペプチドの発現リズムが摂食リズムに影響を与えている可能性がある。このことから、SHRおよびWKYにおける視床下部神経ペプチドのmRNA発現日内リズムを解析した。SHRおよびWKYの視床下部は、4時間毎（計24時間分）に解剖採取した。得られた視床下部組織からmRNAを抽出し、遺伝子発現量をリアルタイムRT-PCRにて解析した。

(3) SHRの摂食リズム異常を是正したときの血圧日内リズムの解析（実験3）

実験1でSHRの摂食リズムに異常がみられた場合、そのリズムを是正することで血圧日内リズムが正常化するのかどうかを調べることとした。SHRの摂食リズムの是正は、食餌を暗期にのみ制限する方法で行った。食餌制限は5日間行い、その期間における血圧日内リズムの変化を記録した。血圧日内リズムの測定は、実験1と同様の方法で行った。

4. 研究成果

(1) SHRにおいては血圧のみならず摂食リズムにも異常がみられる

夜行性のラットでは、暗期の血圧が明期よりも高いことが知られている。本研究の対照群で使用したWKYにおいても、明期から暗期への移行とともに血圧が上昇し、逆に暗期から明期になると血圧は速やかに低下する明瞭な日内リズムがみられた。しかしながら、SHRの血圧は、暗期開始前の明期後半において既に上昇ははじめ、また暗期から明期に移行した後の速やかな低下も見られなかった。このような血圧日内リズムの乱れが、エネルギー代謝の日内リズムと関連していないかを調べるために、WKYとSHRの摂食行動の解析を行った。その結果、WKYが暗期に約90%の食餌摂取を行うのに対して、SHRの暗期の摂食量は約80%に低下していた。このことは、逆に明期での摂食量がSHRで増加していることを意味しており、SHRではWKYと比して、暗期での摂食量の低下と明期での増加、すなわち、摂食リズムが減弱していることが明らかになった。

(2) SHR の視床下部における摂食調節神経ペプチドの発現リズム異常

視床下部には、摂食行動の制御に関わるさまざまな神経ペプチドが発現していることから、SHR でみられた摂食リズム障害に視床下部神経ペプチドの発現異常が関与しているのではないかと考えた。本研究ではとくに、視床下部弓状核に発現する摂食促進作用のある neuropeptide Y (NPY) および agouti-related protein (AgRP)、そして摂食抑制にかかわる pro-opiomelanocortin (POMC) についての mRNA の発現解析を行った。いずれの神経ペプチドも WKY においては発現パターンに明瞭な日内リズムがみられた (図1)。しかしながら、SHR では NPY と POMC の日内リズムが完全に消失していた (図1)。これらの結果から、SHR でみられた摂食リズム異常には、神経ペプチドの発現リズムの変化が原因になっている可能性が考えられた。

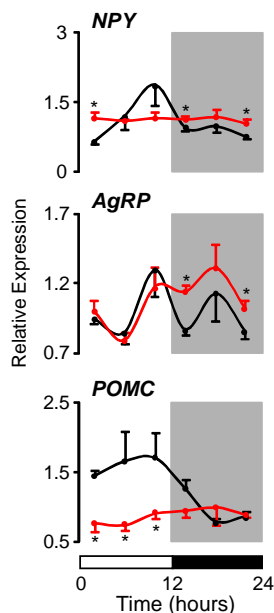


図1. 視床下部の神経ペプチド発現の日内リズム

WKY (黒線) の神経ペプチドには mRNA 発現に日内リズムが認められる。しかしながら、SHR (赤線) の神経ペプチドの日内リズムは乱れている (* $P < 0.05$)。

(3) 摂食リズムの是正により SHR の血圧日内リズムは正常化する

ここまでで、SHR は、血圧日内リズムの異常のみならず、エネルギー代謝リズム (とくに視床下部神経ペプチドの発現リズムおよび摂食リズム) にも異常がみられることが分かった。本研究の仮説である「血圧日内リズムが摂食リズムの影響を受ける」ことを調べるために、SHR の摂食リズム異常を是正した時の血圧日内リズムの変化を調べた。興味深いことに、SHR の食餌を暗期だけに制限したところ、血圧日内リズムは WKY と同様のパターンに是正された (図2)。この結果は、SHR の血圧日内リズムと摂食リズムの間には深い相関があることを示唆していた。

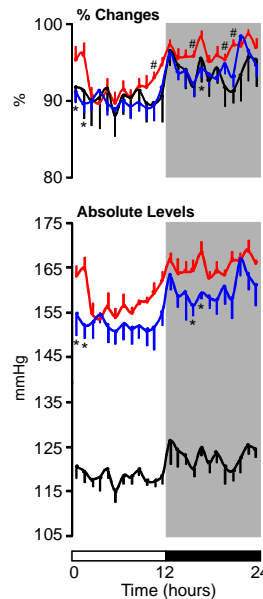


図2. 摂食リズム是正による血圧日内リズムの変化

収縮期血圧の経時的な変化を%変化 (上パネル) および絶対値 (下パネル) で示した。自由摂食の SHR (赤線) でみられた血圧日内リズムの異常は、暗期だけに食餌制限することにより (青線)、自由摂食の WKY (黒線) と同様のパターンに是正された (* $P < 0.05$)。

本研究の成果を要約すると以下のようになる。本態性高血圧モデルラットである SHR は、血圧の日内リズムの乱れのみならず、摂食リズムの異常もあわせもつ。そして、摂食リズムを是正することで血圧日内リズムは正常化する。このことから、SHR でみられた血圧日内リズムの異常は、エネルギー代謝リズムの異常が原因である可能性が高いと考えられた。

高血圧症において、血圧日内リズムの異常は心・脳血管障害発症の危険因子であることが知られている。このため、高血圧患者の血圧日内リズムの管理は、高血圧治療の重要な要素と言える。本研究の成果は、血圧日内リズムの制御に摂食リズムが深く関与していることを示唆しており、このことから、規則正しい食事の指導が血圧日内リズムの改善に寄与する可能性があるのではないかと考えられた。

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2件)

- ① Kohsaka A, Waki H, Cui H, Gouraud SS, Maeda M. Integration of metabolic and cardiovascular diurnal rhythms by circadian clock. *Endocr J*. 2012; 59(6):447-56.
- ② Cui H, Kohsaka A, Waki H, Bhuiyan ME, Gouraud SS, Maeda M. Metabolic

cycles are linked to the cardiovascular diurnal rhythm in rats with essential hypertension. *PLoS ONE*. 2011; 6(2):e17339.

(3) 連携研究者
該当者なし

[学会発表] (計3件)

- ① 向阪 彰、前田正信. 「血圧日内リズム制御におけるエネルギー代謝リズムの役割」 第31回日本肥満学会 於 前橋市 前橋テルサ 2010年10月1日～2日
- ② 向阪 彰、前田正信. 「Regulation of Energy Metabolism and cardiovascular Function by the Circadian System」セッション5「エネルギー代謝研究の進歩」第28回内分泌代謝学サマーセミナー. 於 佐世保市 ハウステンボス 2010年7月8日～10日
- ③ 向阪 彰、前田正信. 「生体リズムとエネルギー代謝リズムの血圧日内リズムに対する影響」シンポジウム「睡眠・生体リズムとエネルギー代謝の最前線」日本睡眠学会第35回定期学術集会. 於 名古屋市 名古屋国際会議場 2010年7月1日～2日

[その他]

和歌山県立医科大学・医学部・生理学第二
講座ホームページ：
<http://www.wakayama-med.ac.jp/dept/igakubu/160414/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

向阪 彰 (Kohsaka Akira)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：00458051

(2) 研究分担者

前田 正信 (Maeda Masanobu)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：80181593
和気 秀文 (Waki Hidefumi)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：50274957
グホ サビン (Gouraud Sabine)
和歌山県立医科大学・医学部・学内助教
研究者番号：30453179