

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560398

研究課題名(和文)運動が中枢性代謝調節に影響を与える経路の探索

研究課題名(英文)Clarification of afferent pathway in exercise-induced enhancement in central regulatory system of energy metabolism

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・准教授

研究者番号：70372729

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、持久的運動後の視床下部におけるレプチン感受性の変化と、そのメカニズムについて検討した。トレッドミル走運動後にレプチンを投与すると、視床下部におけるSTAT3のリン酸化が増強した。また、免疫組織化学染色を用いた解析により、某神経ペプチドを産生する視床下部ニューロンの活性化が、トレッドミル走運動により増加することを認めた。その神経ペプチド受容体阻害薬をトレッドミル走運動前にマウス脳室内に投与しておくこと、視床下部におけるSTAT3リン酸化の増強が見られなくなったことから、運動後のレプチン感受性増強には、その視床下部ニューロンの活性化が原因であることが示唆される。

研究成果の概要(英文)：In this study, leptin sensitivity in hypothalamus after endurance exercise and its mechanism were examined. Male C57BL/6J mice were performed treadmill running for 45 minutes. After that, leptin was injected intraperitoneally. Forty-five minutes later, hypothalamus in mice was collected, and determined the phosphorylation of STAT3 by western blot or immunohistochemistry. Treadmill running enhanced STAT3 phosphorylation in hypothalamus of the mice by ip injection of leptin. Immunohistochemical staining revealed that treadmill running increased c-Fos expression in one neuropeptidergic neuron in hypothalamus of the mice. Intracerebroventricular injection of receptor antagonist of the neuropeptide inhibited the exercise-induced enhancement of STAT3 phosphorylation in hypothalamus by leptin. Taken together, it is suggested that the enhanced leptin sensitivity after exercise is mediated by activation of the neuropeptidergic neuron by exercise.

研究分野：応用健康科学

キーワード：運動 視床下部 レプチン

1. 研究開始当初の背景

視床下部は中枢性代謝調節の司令塔であり、骨格筋を中心とした末梢組織のエネルギー代謝に対して多大な影響を与える。なかでも内側視床下部へのレプチンの作用は、末梢組織のエネルギー代謝調節において決定的な神経核として注目を浴びている。我々は、脂肪組織より分泌されるレプチンに加え、視床下部に発現する神経ペプチド・オレキシンも内側視床下部に作用して、交感神経とアドレナリン受容体を介して、骨格筋の糖代謝を調節することを、これまでの研究で明らかにしている (Cell Metab 2009, Diabetes 2009, Diabetes 2013)。このように、視床下部により骨格筋の代謝を調節する「遠心性」経路は明らかになっているが、骨格筋を収縮させて行う「運動」が視床下部へ影響を与える「求心性」経路は不明である。

我々は、たった5日間の低強度走運動トレーニングでも、高脂肪食誘導性肥満マウスの内側視床下部におけるレプチン抵抗性が改善することを見出した。加えて我々は、一過性の低強度走運動でも、視床下部における、ある神経ペプチドの発現を増加させることを見出した(未発表)。さらに最近、抗重力筋の収縮による求心性刺激により、血液脊髄関門の透過性がマイオカインの一つであるインターロイキン-6 (IL-6) 依存性に促進することが報告された (Arima et al. 2012 Cell)。以上の結果は、骨格筋収縮を伴う運動が、視床下部を介する中枢性エネルギー代謝調節系のポジティブフィードバック制御に関与する可能性を示唆する。

2. 研究の目的

本研究では、骨格筋と中枢による代謝生理学的ネットワークに着目し、まず、運動の効果を分解することで、運動が視床下部に与えるメカニズムを解明する。その結果により明らかになった経路を遮断すると、運動により亢進した全身のエネルギー代謝が変化するかを、正常マウスおよび肥満マウスを用いて調べ、中枢性代謝調節に対する運動の影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では「運動が、どのようなファクターにより、内側視床下部におけるレプチン感受性の亢進効果をもたらすのか」という疑問を、運動の効果を分解することで突き止めるため、運動の視床下部への効果を、求心性神経、内分泌系、体温上昇、血流増加に分解し、それぞれの阻害や刺激をすることで影響を調べる。視床下部への影響として、内側視床下部における STAT3 のリン酸化を、ウエスタ

ンプロット法ならびに免疫組織化学染色法を用いて調べる。また、オレキシンの発現についてもリアルタイム PCR 法を用いて調べる。その結果により明らかになった経路を遮断すると、運動により亢進した全身のエネルギー代謝が変化するかを調べ、さらに、レプチン抵抗性を発症する肥満マウスを用いて、運動の視床下部への効果が同様の経路によって活性化するかを調べるという計画を立案した。

上記実験を行うために、まず、雄性 C57BL/6J マウスに対して45分間のトレッドミル走運動 (15m/min) を施し、走運動終了直後にレプチン (2mg/kg) を腹腔内に投与した。レプチン感受性の指標である STAT3 のリン酸化を、免疫組織化学染色法およびウエスタンプロット法を用いて測定した。また、様々な視床下部ニューロンの活性化を c-Fos 発現との二重染色により確認した。

4. 研究成果

トレッドミル走運動により、視床下部のある神経ペプチドを産生するニューロンにおける c-Fos 発現が増加することを認めた。また、トレッドミル走運動後のレプチン腹腔内投与により、視床下部における STAT3 のリン酸化が増強するが、標的の神経ペプチド受容体阻害薬をトレッドミル走運動前にマウス脳室内に投与しておくこと、この STAT3 リン酸化の増強が見られなくなった。標的神経ペプチドを脳室内投与し、レプチンを腹腔内投与すると、運動後と同様に STAT3 リン酸化が亢進した。

この求心路の発端が骨格筋収縮にあると仮説を立て、それを検証するために、麻酔下において骨格筋を電氣的に収縮させたが、標的の視床下部ニューロンにおける c-Fos 発現は認められなかった。

【結論と今後の計画】

以上のことから、運動後のレプチン感受性増強には、運動による視床下部ニューロンの活性化が関与すると考えられる。今後は、骨格筋収縮以外の求心路、あるいは、無麻酔下において骨格筋収縮による求心性刺激を制御できる実験系を立ち上げる必要がある。

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 2件)

Miyatake Y, Shiuchi T, Ueta T, Taniguchi Y, Futami A, Sato F, Kitamura T, Tsutsumi R, Harada N, Nakaya Y, Sakaue H. Intracerebroventricular injection of adiponectin regulates locomotor activity

in rats. J Med Invest. 2015;62(3-4):199-203. doi: 10.2152/jmi.62.199. 査読有

Otsuka A, **Shiuchi T**, Chikahisa S, Shimizu N, Sei H. Voluntary exercise and increased food intake after mild chronic stress improve social avoidance behavior in mice. Physiol Behav. 2015 Nov 1;151:264-271. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.07.024. 査読有

〔学会発表〕(計 10 件)

志内哲也 : 夜食症様摂食リズムは視床下部におけるグルココルチコイド感受性を亢進させる. 第 36 回 日本肥満学会, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市) 2015 年 10 月 2 - 4 日.

大塚愛理, **志内哲也** : 高脂肪食のストレス軽減効果は制限された量でも行動改善を示す. 第 36 回 日本肥満学会, 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市) 2015 年 10 月 2 - 4 日.

Miyatake Yumiko, **Tetsuya Shiuchi**, Azuma C., Tsutsumi R, Harada N, Sei H, Minokoshi Y, Goto K, Nakaya Y and Sakaue H : Intracerebroventricular injection of ghrelin decreases wheel running activity in rats. Cell Symposia "Exercise Metabolism", Amsterdam (Netherlands), Jul 12-14. 2015.

志内哲也 : 摂食リズムの乱れは, 副腎皮質ホルモンが中枢を介してインスリン抵抗性を発症させる. 第 58 回 日本糖尿病学会年次学術集会, 海峡メッセ下関 (山口県・下関市) 2015 年 5 月 21 - 14 日.

Tetsuya Shiuchi : Hypothalamic regulation of energy metabolism by feeding rhythm. 92nd Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, Kobe International Center (Hyogo・Kobe) Mar 14-18. 2015.

Airi Otsuka, **Tetsuya Shiuchi**, Sachiko Chikahisa, Junji Terao and Hiroyoshi Sei : Physical exercise reduces social avoidance induced by defeated stress. 92nd Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, Kobe International Center (Hyogo・Kobe) Mar 14-18. 2015.

Airi Otsuka, **Tetsuya Shiuchi**, Sachiko Chikahisa, Junji Terao and Hiroyoshi Sei : Effect of restricted high fat diet intake

on behavior induced by social defeat stress. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Pacifico Yokohama (Kanagawa・Yokohama) Sep 11-13. 2014.

志内哲也, 大塚愛理 : 社会敗北性ストレスに対する運動の影響, 第 69 回日本体力医学学会大会, 長崎大学 (長崎県・長崎市) 2014 年 9 月 19-21 日.

宮武由美子, 佐藤落子, 原田永勝, 勢井宏義, **志内哲也**, 中屋豊, 阪上浩 : Adiponectin・Leptin による中枢性運動制御部位の同定. 第 57 回日本糖尿病学会, 大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル・ホテル N C B (大阪府・大阪市) 2014 年 5 月 22 - 24 日.

志内哲也, 大塚愛理, 近久幸子, 勢井宏義 : 摂食リズムの乱れにより発症するインスリン抵抗性は中枢 AgRP を介する, 第 57 回日本糖尿病学会, 大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル・ホテル N C B (大阪府・大阪市) 2014 年 5 月 22 - 24 日.

〔図書〕(計 3 件)

志内哲也 「中枢性エネルギー代謝調節機構と末梢時計に対する摂食リズムの影響」特集 “中枢神経系によるエネルギー代謝調節機構”(2015) 内分泌・糖尿病・代謝内科 [科学評論社] July Vol.41 No.1 総 88 ページ、p43-p49

宮武由美子, **志内哲也**, 東千尋, 阪上浩 「摂食ペプチドによる中枢神経系を介した運動制御機構の解明」特集 “中枢神経系によるエネルギー代謝調節機構”(2015) 内分泌・糖尿病・代謝内科 [科学評論社] July Vol.41 No.1 総 88 ページ、p31-p35

志内哲也 「視床下部とメタボリックシンドロームの改善」特集 “脳の 10 年：運動・スポーツの神経科学最前線”(2014) 体育の科学 [杏林書院] 5 月号 Vol64. No.5 総 80 ページ、p331-338

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 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・准教授
研究者番号：70372729

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：