

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08434

研究課題名(和文)メタボリックシンドローム発症と摂食行動：新規モデルマウスを用いた解析

研究課題名(英文)Development of metabolic syndrome and feeding behavior: analysis in new model mice

研究代表者

杉原 仁 (SUGIHARA, Hitoshi)

日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授

研究者番号：60183414

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高脂肪食の過食によってメタボリックシンドロームの諸症状を発症する耐糖能異常易発性Prone系マウスとそれらに抵抗性を示すResistant系マウスとの表現型の差異の成因について、摂食行動を中心に解析を行った。Prone系マウスが若齢期から過食傾向を示す要因として、Prone/Resistant両系統間での若齢におけるレプチンの遺伝子発現レベルや血中濃度、レプチンシグナル強度に差異があることを新たに見出した。本研究成果は、若齢期における遺伝的なレプチン動態の差異が、将来の過食による肥満、メタボリックシンドローム発症を規定する重要な因子であることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：In this study, using recently established 2 lines of mice with different susceptibility to high fat diet-induced glucose intolerance, we analyzed the phenotypic differences between the glucose intolerance-prone (Prone) and -resistant (Resistant) mice, focusing on feeding behavior. Here, we identified heritable differences in gene expression, blood plasma level, and signal intensity of leptin between the Prone and Resistant mice as a key factor showing the overeating tendency in Prone mice from the young stage. These results suggest that heritable differences in leptin dynamics play an important role, via overeating, in regulating the development of obesity and metabolic syndrome.

研究分野：内分泌代謝内科学

キーワード：メタボリックシンドローム 過食 肥満 耐糖能異常 糖尿病 マウス 実験病理学

1. 研究開始当初の背景

糖尿病、脂質異常症、高血圧、肥満症といった生活習慣病は、しばしば一個人に合併して発症し、メタボリックシンドローム (MetS) と呼ばれる複合的な病態を形成する。MetSは、我が国においても主要な死因である動脈硬化性疾患 (心筋梗塞、脳梗塞等) の発症・死亡リスクを著しく増大させることから、MetSの成因解明とそれに立脚した根本的な予防法と治療法の確立は、社会的に焦眉の課題となっている。今日では「肥満 (内臓脂肪蓄積) によって惹起されるインスリン抵抗性」がMetSの主要な成因であることが明らかとなっているものの、「肥満」の原因となる摂食行動の異常、すなわち「消費エネルギーを逸脱した過食」の発現機序には未だ不明な点が多い。摂食行動はMetSの最も根源的な発症基盤と考えられることから、その規定因子の解明は、MetS、さらにはその転帰としての動脈硬化性疾患の根本的な予防法を考える上で極めて重要な研究課題である。

我々はこれまでに、高脂肪食投与後の耐糖能を指標としたマウスの連続選抜交配によって、高脂肪食誘発性の耐糖能異常 (糖尿病) を示す Prone 系と耐糖能異常を示さない Resistant 系の2系統のマウスを確立した [1] (図1)。これらのマウスは糖尿病の発症における遺伝的要因と高脂肪食という環境的要因との相互作用の解明を目的として作出されたモデル動物であるが、Prone 系マウスが離乳直後から既に高脂肪食を過食する傾向にあり、このことが肥満とそれに伴うインスリン抵抗性の獲得に関与し、将来的に MetS の諸症状 (耐糖能異常、脂質異常、血圧上昇) を呈することを見出した。これらの事象は上述の MetS の発症基盤そのものであることから、Prone/Resistant 両系統のマウスは、MetS 発症に至る摂食行動の特徴とその規定因子を解析するモデル動物として極めて有用であると考えられた。

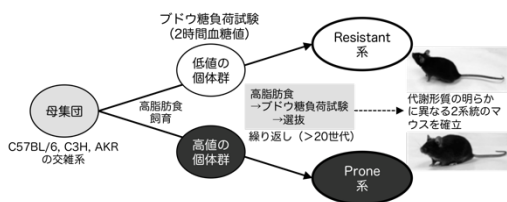


図1 連続選抜交配による新規耐糖能異常モデルマウスの確立

また、我々は近年、Prone 系マウスにおける動脈硬化巣の形成が Resistant 系マウスと比較して著しく亢進すること確認した [2]。上述のように、動脈硬化性疾患リスクの増大は、MetS が社会的、臨床的に問題視される最も重要な要因であることから、Prone/Resistant 両系統のマウスは、MetS の成因のみならず、その合併症としての動脈硬化巣形成に至るまでを包括的に解析できる理想的なモデル

動物となるものと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、高脂肪食の過食によってメタボリックシンドロームの諸症状を発症する Prone 系マウスとそれらに抵抗性を示す Resistant 系マウスを用い、その表現型の差異の成因について、主に摂食行動を中心に解析を行い、Prone 系マウスで認められる若齢期からの過食、体重増加の出現機構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、まず Prone/Resistant 両系統マウスを様々な条件下で飼育し、Prone 系マウスが高脂肪食環境下において MetS を発症するに至る摂食行動の特徴について検討した。さらに、Prone 系マウスの示す若齢期からの過食傾向について、その遺伝的な要因を探索した。

4. 研究成果

Prone/Resistant 両系統間で体重に差を認めない若齢期 (5 週齢) において Prone 系マウスは既に高脂肪食を過食する傾向を示した一方で、自発行動量に両系統間で顕著な差は認めなかったことから、Prone 系マウスにおける体重増加の要因は、主に若齢期からの自発的な高脂肪食の過食にあるものと考えられた。そこで、Prone 系マウスの摂餌量を Resistant 系マウスの摂餌量に合わせた pair-feeding 試験を行った結果、Prone 系マウスにおける体重増加や、それに伴うメタボリックシンドロームの諸症状の増悪は、若齢期からの pair-feeding によって、ほぼ完全に抑制されることが確認された (図2)。

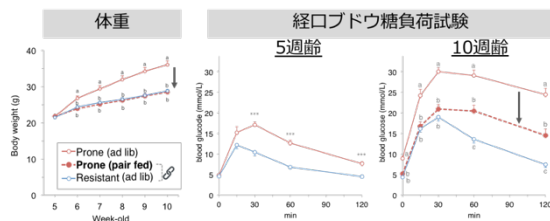


図2 Prone系の体重増加とそれに伴う耐糖能の悪化は Resistant系とのPair-feedingによってほぼ完全に抑制された

若齢期における Prone/Resistant 両系統間での摂食行動の差異を規定しうる因子を検討した結果、5 週齢においては体重や内臓脂肪組織重量に両系統間で差を認めない一方で、血中レプチン濃度や内臓脂肪組織におけるレプチン遺伝子の発現量に明らかな差異があることを見出した (図3)。

さらに、この若齢における血中レプチン濃度の差異が、両系統間における摂餌量の差異の出現に寄与していることを確認するため、脳視床下部弓状核におけるレプチンシグナル

応答の解析を行い、若齢期において Resistant 系マウスと比較して血中レプチン濃度が低く、過食傾向を示す Prone 系マウスでは、摂食中枢（脳視床下部弓状核）におけるレプチンシグナルの強度が低いことを認めた（リン酸化 STAT3 陽性細胞数による免疫組織学的評価）。

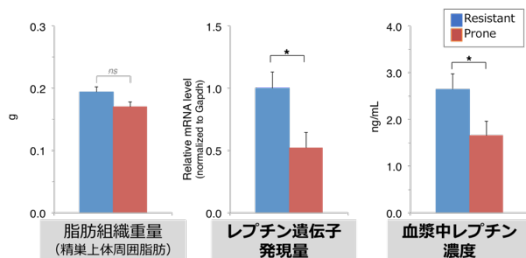


図3 脂肪組織におけるレプチン遺伝子の発現レベルと血中レプチン濃度(5週齢における解析)

これらの結果は、体重差が顕在化する以前の若齢期におけるレプチン動態の差異が、将来の過食による肥満、メタボリックシンドローム発症を規定する重要な因子であることを示唆している（図4）。

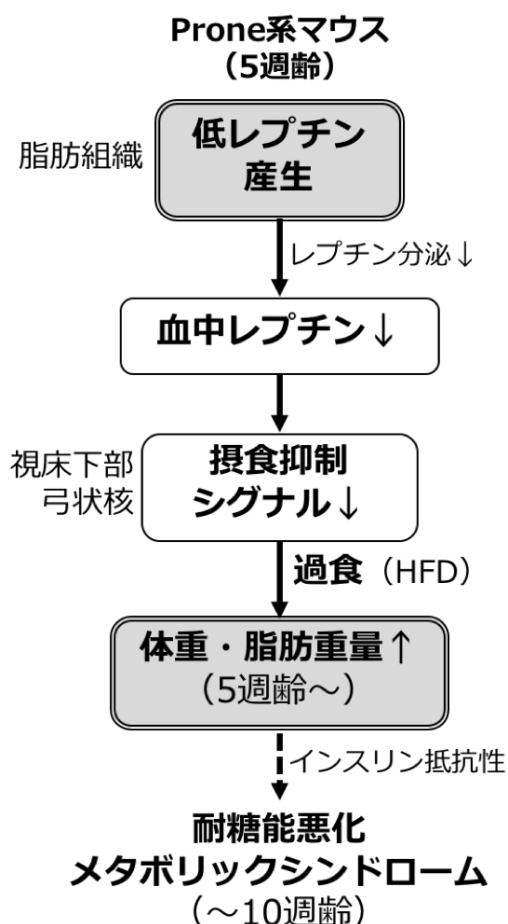


図4 Prone 系マウスが高脂肪食環境下において過食、体重増加を介してメタボリックシンドローム症状に至る推定機序

#### <引用文献>

- [1] Nagao M, Asai A, Kawahara M, Nakajima Y, Sato Y, Tanimura K, Okajima F, Takaya M, Sudo M, Takemitsu S, Harada T, Sugihara H, Oikawa S. Selective breeding of mice for different susceptibilities to high fat diet-induced glucose intolerance: Development of two novel mouse lines, Selectively bred Diet-induced Glucose intolerance-Prone and -Resistant. *J Diabetes Investig* 3(3):245-251(2012)
- [2] Asai A, Nagao M, Kawahara M, Shuto Y, Sugihara H, Oikawa S. Effect of impaired glucose tolerance on atherosclerotic lesion formation: an evaluation in selectively bred mice with different susceptibilities to glucose intolerance. *Atherosclerosis* 231(2):421-426(2013)

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

- ① Nagao M, Asai A, Sugihara H, Oikawa S. Fat intake and the development of type 2 diabetes. *Endocr J* 62(7):561-572 (2015) 査読有  
DOI: 10.1507/endocrj.EJ15-0055
- ② Nagao M, Asai A, Sugihara H, Oikawa S. Transgenerational changes of metabolic phenotypes in two selectively bred mouse colonies for different susceptibilities to diet-induced glucose intolerance. *Endocr J* 62(4):371-378 (2015) 査読有  
DOI: 10.1507/endocrj.EJ14-0241

[学会発表] (計9件)

- ① 浅井明、長尾元嗣、宮澤陽夫、杉原仁、及川真一、新規耐糖能異常モデルマウスにおける過食、体重増加と脂肪組織におけるレプチン産生能との関係、第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会(2018)
- ② 浅井明、長尾元嗣、都築毅、宮澤陽夫、杉原仁、及川真一、腓島におけるCD36/FATの発現と脂肪酸動態、インスリン分泌能との関係:新規耐糖能異常モデルマウスを用いた解析、第60回日本糖尿病学会年次学術集会(2017)
- ③ Asai A, Nagao M, Tsuduki T, Miyazawa T, Esguerra JLS, Eliasson L, Sugihara H, Oikawa S. Reduced insulin secretion in a diet-induced glucose intolerance susceptible mouse model is coupled with increased CD36 and triglycerides in the  $\beta$  cells. *European Association for the Study of Diabetes 53rd Annual Meeting* (2017)

- ④ 浅井明、長尾元嗣、宮澤陽夫、杉原仁、及川眞一、新規耐糖能異常モデルマウスにおける過食、体重増加：若齢期におけるレプチン動態との関係、第 31 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 (2017)
- ⑤ 浅井明、長尾元嗣、川原百代、加藤俊治、宮澤陽夫、杉原仁、及川眞一、高脂肪食投与後の糖尿病発症における過食、体重増加とレプチンとの関係：新規選抜交配モデルマウスの解析から、第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2016)
- ⑥ 浅井明、長尾元嗣、川原百代、宮澤陽夫、杉原仁、及川眞一、選抜交配による高脂肪食誘発性糖尿病モデルマウスの開発、第 70 回日本栄養・食糧学会大会 (2016)
- ⑦ Asai A, Nagao M, Kawahara M, Miyazawa T, Sugihara H, Oikawa S. Antiatherogenic effect of metformin in two mouse lines with different susceptibility to glucose intolerance. 84th European Atherosclerosis Society Congress (2016)
- ⑧ Asai A, Nagao M, Sugihara H, Oikawa S. Spontaneous high fat diet overeating and body weight gain in selectively bred mice for diet-induced glucose intolerance: possible role of leptin. European Association for the Study of Diabetes 51st Annual Meeting (2015)
- ⑨ 長尾元嗣、浅井明、真山大輔、周東佑樹、小林俊介、杉原仁、及川眞一、選抜交配により作成した新規糖尿病モデルマウスの摂食行動に関する解析、第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会 (2015)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

杉原 仁 (SUGIHARA, Hitoshi)  
 日本医科大学・大学院医学研究科・教授  
 研究者番号：6 0 1 8 3 4 1 4

### (2) 研究分担者

長尾 元嗣 (NAGAO, Mototsugu)  
 日本医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：1 0 4 6 8 7 6 2