

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：34309

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K20136

研究課題名（和文）慢性疲労による食欲神経制御変調の分子神経メカニズム研究

研究課題名（英文）Research on the molecular neural mechanism of appetite nerve modulation by chronic fatigue

研究代表者

Hu Di (hu, di)

京都橘大学・健康科学部・助教C

研究者番号：60758580

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：慢性疲労形成メカニズムを解明するために、独自のモデル動物を開発した。疲労負荷直後に、血中グレリンが上昇し、レプチンが著しく減少した。血中ACTH、a-MSHも上昇した。上昇したグレリンが視床下部のPOMC神経を抑制するが、疲労負荷後のPOMC下流のACTH/a-MSH上昇が、グレリンのPOMC神経抑制ができていない状態を示し、制御機能異常の可能性を示唆した。さらに、レプチン低下したモデル動物にレプチンの補充を行い、自発行動量が有意に回復した。レプチンが脳血液関門を自由通過できるため、補充による疲労回復の改善が、食欲中枢制御の変調を是正し、末梢介入でも慢性疲労を予防できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で使用した慢性疲労モデルにおいて、血中グレリンの顕著な増加、レプチンの低下、さらにACTHとa-MSHの上昇も認められた。食欲制御中枢では、グレリン増加によるACTHとa-MSHのネガティブフィードバックが作動しなかったことは、長期疲労負荷が原因と考えられ、食欲制御の異常が疲労の慢性化形成に密接な関係が明らかになった。レプチンの補充による自発行動量の有意な改善が、食欲中枢制御の異常是正によるもので、末梢のレプチン介入治療が慢性疲労症候群を改善・予防する可能性が示された。本研究の成果は、慢性疲労症候群の診断・予防・治療法の開発を大きく前進させ、疲労克服社会を実現する基盤を築く。

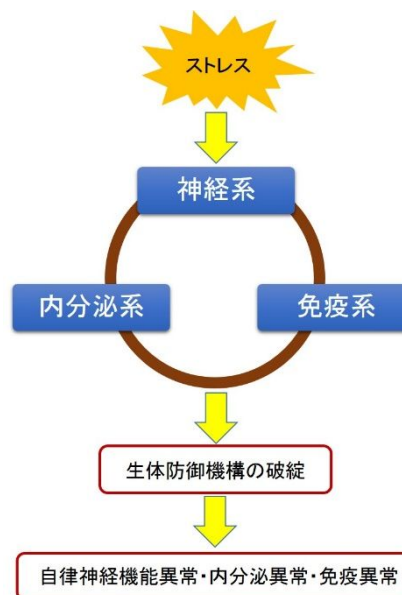
研究成果の概要（英文）： To elucidate the mechanism of chronic fatigue formation, we developed a unique animal model. Immediately after fatigue loading, blood ghrelin was elevated and leptin was markedly decreased. Blood ACTH and a-MSH were also elevated. The elevated ghrelin inhibited the POMC nerve in the hypothalamus, but the elevated ACTH/a-MSH downstream of the POMC after the fatigue load indicated the failure of ghrelin to inhibit the POMC nerve, suggesting the possibility of abnormal regulatory function. Furthermore, leptin supplementation in a leptin-depleted animal model significantly restored the amount of spontaneous behavior. Since leptin can freely cross the cerebral blood barrier, the results suggest that improved recovery from fatigue by supplementation may correct the modulation of central appetite control and prevent chronic fatigue even with peripheral intervention.

研究分野：行動生理学

キーワード：慢性疲労 レプチン グレリン ストレス 内分泌調節

1. 研究開始当初の背景

慢性疲労症候群 (CFS) は、強い全身疲労倦怠感などが長期間に渡り継続する原因不明の病態である。過度の生活ストレスなど複合的な要因が引き金になり、人々の日常的な社会活動に支障をきたすだけでなく、過労死やうつ病、自殺など深刻な社会問題を引き起こしている。右図に示したように、長期に亘り過剰なストレスにより神経系・内分泌系・免疫系の異常反応を引き起こし、生体防御機構を破綻させ、慢性的に疲労を体内に蓄積するようになる。特に神経系と内分泌系がストレスに直接反応し異常状態に陥ることが数多く報告された (Demitrack et al, J Clin Endocrinol Metab.1991. Kuratsune et al. Int J Mol Med.1998)。また、慢性疲労症候群の臨床症状がうつ病と重なることが多く、抑うつ状態を合併するケースが多い。



申請者がこれまで慢性疲労におけるレプチン・グレリンを注目した理由は、まずレプチンは患者の慢性疲労程度と相関する報告 (Stringer et al, J Transl Med 2013) があり、動物実験では抗うつ効果も報告された (Lu et al, PNAS 2006)。さらに、慢性疲労症候群において機能異常になる自律神経に関しても、レプチンは視床下部を介し交感神経を活性化させることにより、摂食抑制・エネルギー消費増加すると報告された (Yamada T et al, Cell Metab 2006)。一方、レプチンと拮抗生理作用を有するグレリンでも慢性ストレスモデルに腹腔内投与によりうつ症状改善したことが報告された (Lutter et al. Nat neurosci 2008)。しかし、拮抗するはずの両ホルモンが共に抗うつ作用を持つことに矛盾が生じ、その問題点について検証する価値がある。また、グレリンは交感神経に抑制的に働き (Schwenke D et al. Endocrinology 2012)、慢性疲労と大いに接点を持つ。

2. 研究の目的

本研究は慢性疲労時のレプチン・グレリンの中枢制御変調のメカニズム及び関連する脳内領域を同定することを目的とする。

3. 研究の方法

1. 投与による疲労回復遅延や精神疲労指標の回復等に対する影響を明らかにするために、慢性疲労モデルにレプチンリコンビナント蛋白質、グレリン阻害剤を短期もしくは長期投与を行った。

方法: レプチンリコンビナント蛋白質・グレリン阻害剤の慢性疲労モデルに末梢投与(短期)は腹腔内投与で行い、脳内投与(長期)は動物頸背部皮下に浸透圧ポンプを埋入し、頭部に固定するガイドカニューレと繋いで行った。投与タイミングと投与濃度については既報論文 (Lu et al, PNAS 2006; Lutter et al. Nat neurosci 2008) を参考し慢性疲労モデルに適する条件を検討した。投与前後の自発活動量や強制水泳、摂食量等の検討を行った。またレプチン・グレリンの影響を受ける血中 a-MSH 等も併せて測定した。

2. 慢性疲労時の自律神経の変化およびレプチン・グレリンの関与を明らかにするために、

以下の実験を行った。

方法：前年度のレプチン・グレリンの投与実験の結果を受け、テトメトリーシステムを用いて、慢性疲労モデルの自律神経機能を測定した。慢性疲労モデルを作成する前にテレメーター（F50-EEE）を頸背部皮下に外科的に埋入した。このテレメーターは心拍数のほか、深部体温と活動量を測定できる。これらのパラメーターを使い手術の影響がなくなることを確認した上で、慢性疲労モデル作製を開始した。心電図の心拍変動解析を用いて、交感神経と副交感神経の両方の活動を反映する LF パワー、副交感神経の活動を反映する HF パワーおよび自律神経バランス指標（LF/HF 比）の慢性疲労時の経時的変化を検討した。さらにレプチンリコンビナント蛋白質・グレリン阻害剤の脳内投与を行い、慢性疲労時の自律神経機能の変化を検討した。

4. 研究成果

1. 動物を 3 日間・8 日間・14 日間水浸負荷させた直後に血中レプチン濃度が有意に低下し、グレリン濃度が有意に上昇したことが確認できた。一方、血中 a-MSH と ACTH 濃度も有意に上昇した(図 1)。通常空腹時、グレリン濃度が上昇し、レプチンの分泌を抑制される。その上昇したグレリンが視床下部弓状核において NPY/AgRP ニューロンを活性化させ、POMC/CART 神経を抑制する働きが知られている。しかし疲労負荷中、POMC シグナル下流に位置する ACTH および a-MSH の血中濃度上昇が、上昇したグレリンの視床下部 POMC 神経抑制作用ができていない状態に示し、制御機能の異常の可能性を示唆した。

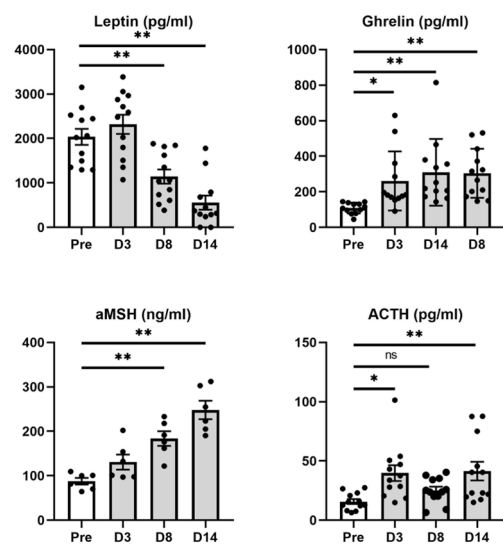


図1 疲労負荷による食欲ホルモン等の変動

2. レプチン低下した慢性疲労動物（14 日間水浸負荷後）に 5 日間連続リコンビナントレプチン（3mg/Kg）を皮下投与すると、対照群（生理食塩水皮下投与）より有意な自発行動量回復が認められた(図 2, n=3)。レプチン分子が脳血液関門を自由に通過できることから、レプチンの補充が中枢に届き、食欲中枢制御の変調を是正し、慢性疲労の改善をもたらす可能性が示唆された。さらに末梢からの介入（投与）で疲労の慢性化を予防できる可能性も示唆された。

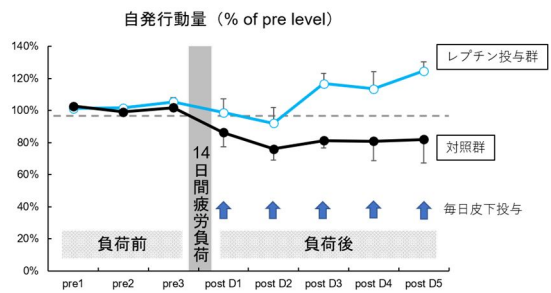


図2 レプチン補充による疲労回復の改善

3. 慢性疲労モデル動物作成 2 週間前に、テレメーター（F50-EEE）を頸背部皮下に外科的に埋入し、状態安定後から水浸疲労負荷終了 1 週間後までの間に、遠隔に心電図の記録を行った。心電図データから心拍数 HR と R-R 間隔変動の解析を行い、水浸疲労負荷の影響を調べた(図 3)。疲労負荷前の心拍数リズムが疲労負荷 4 日から消失し、心拍数自体が疲労負荷中に上昇し、疲労負荷後期よりダイナミックな変動を示した。一方、R-R 間隔解析では、疲労負荷によりリズム消失とパワー低下が認められており、リリースした後もそのリズム回復が無かったから、疲労負荷が自律神経機能異常を誘発したと考えられる。長期負荷が自律神経機能異常を固定化させ、疲労の慢性化形成につながる可能性が示され、疲労負荷解除しても回復しないとされる。

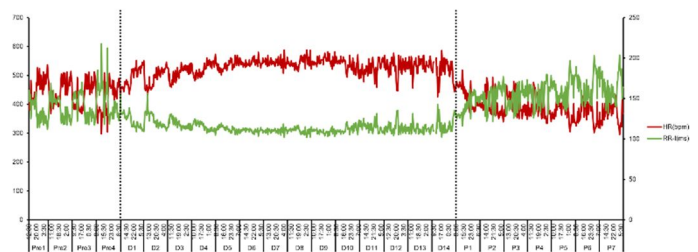


図3 慢性疲労動物の心電図解析結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Danxi Li*, Di Hu*, Mika Shigeta, Yuta Ochi, Yasuyoshi Watanabe, Feng Li, Yilong Cui.	4. 巻 165
2. 論文標題 Homeostatic disturbance of thermoregulatory functions in rats with chronic fatigue.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 45-50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.04.005	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 Di Hu, Danxi Li, Mika Shigeta, Yuta Ochi, Takashi Okauchi, Hiroyuki Neyama, Shigeru Kabayama, Yasuyoshi Watanabe and Yilong Cui.	4. 巻 535
2. 論文標題 Alleviation of the chronic stress response attributed to the antioxidant and anti-inflammatory effects of electrolyzed hydrogen water.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.12.035	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 Ruili Li, Zhuozhi Dai, Di Hu, Haiyan Zeng, Zeman Fang, Zerui Zhuang, Haiyun Xu, Qingjun Huang, Cui Yilong, Handi Zhang.	4. 巻 11
2. 論文標題 Mapping the alterations of glutamate using Glu-weighted CEST MRI in a rat model of fatigue.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 589128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fneur.2020.589128	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 該当する

1. 著者名 Di Hu, Mika Shigeta, Yuta Ochi, Shigeru Kabayama, Yasuyoshi Watanabe and Yilong Cui	4. 巻 14
2. 論文標題 Electrolyzed hydrogen water alleviates abdominal pain through suppression of colonic tissue inflammation in a rat model of inflammatory bowel disease.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 4451
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu14214451	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 胡迪、李丹溪、重田美香、越智祐太、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 慢性疲労動物を用いた疲労の慢性化機序の解析
3. 学会等名 第17回日本疲労学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 胡 迪、李丹溪、重田美香、岡内隆、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 慢性疲労動物を用いた疲労の慢性化機序の解析
3. 学会等名 第16回日本疲労学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 胡迪、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 疲労の慢性化と神経・内分泌・免疫機能の破綻について
3. 学会等名 第18回日本疲労学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------	---------