

平成 22 年 6 月 21 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20700561

研究課題名 (和文) 視床下部のレプチン感受性に対する運動トレーニングの影響

研究課題名 (英文) Effect of exercise training on leptin sensitivity in hypothalamus

研究代表者

川上 心也 (SHIN-YA KAWAKAMI)

研究者番号：60410271

研究成果の概要 (和文)：運動トレーニングが、脳の視床下部に備わるレプチン感受性を上昇もしくは改善させるか否かを検証し、そのメカニズムについて検討した。その結果、運動トレーニングはレプチン感受性を上昇させることはなく、レプチン感受性が低下した状態 (肥満) であっても感受性の改善はみられなかった。一方、視床下部において、栄養条件の変化により代謝の応答を制御するタンパク質 (Sirt1) の発現は、運動を負荷した場合に減少していた。

研究成果の概要 (英文)：

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2008 年度 | 2,200,000 | 660,000 | 2,860,000 |
| 2009 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：生理学

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：運動処方、運動療法、レプチン、肥満

1. 研究開始当初の背景

動物は、個体により一定の体重を維持しようとする性質を持つ。ある個体において、エネルギー摂取が過剰で体脂肪が増加した場合、その個体は食欲を低下させることでエネルギー摂取量を減少させ、体重を元に戻そうとする。この機能を担うホルモンとして、脂肪細胞から分泌されるレプチンが知られている。レプチンは脂肪細胞の肥大に伴って分泌量が増し、脳の視床下部に作用することで食欲を抑制させる。しかし、肥満により視床下部のレプチン感受性は低下することが報

告されており、この現象はレプチン抵抗性と呼ばれている。この場合、体脂肪量の増加にともない大量のレプチンが分泌されるものの、食欲の抑制が効かず過食が誘起され、さらなる肥満の悪化を招くと考えられている。また、レプチンは日常的な身体活動量を増加させ、さらに骨格筋の糖・脂質代謝も亢進させることが分かっている。つまり、レプチンはエネルギー消費量を増大させる働きも持つことから、この機能も体重を一定に保つ上で重要な役割を果たすと考えられている。また、肥満にともなってこのエネルギー消費量

増加機能も低下する可能性が示唆されている。

一方、運動トレーニングは、エネルギー消費量を増大させ肥満を防止する。さらに、肥満の原因である過食を防止する効果もあると考えられている。この運動トレーニングが有する「過食防止効果」の機序は明らかにされてはいなかった。このことから、本申請課題では「肥満にともなって生じる視床下部レプチン感受性の低下を運動トレーニングが防止し、過食が抑制される」という仮説を立て、これを検証した。

本研究において、「肥満による視床下部のレプチン感受性低下を運動が防止する現象と、その機序」が示せた場合、運動が視床下部の代謝調節機構の改善に効果があるという初めての報告となり、運動の有する新たな作用としてその解明が期待された。

2. 研究の目的

肥満者は無意識に行う身体活動量が低下し、エネルギー消費量も低下している可能性が報告されている。また、過食は肥満の大きな原因とされているが、肥満者はレプチン抵抗性のため過食が生じ、さらなる肥満の悪化を引き起こしてしまう。一方、運動トレーニングはエネルギー消費量を増加させることで肥満を防止すると考えられるが、過食を防ぐ働きも重要な役割を担うと推察される。しかし、これら現象の機序について検討した研究はなかった。

そこで本研究では、肥満により生じるレプチン感受性の低下が、運動トレーニングによって改善する可能性を探るとともに、その機序について検討することを最初の目的とした。さらに、これらの知見を得ることで、「肥満防止・予防を目的としたより科学的な運動処方確立する」こと、ならびに「分子機序の解明により、薬剤・サプリメントといった運動以外の手段による視床下部レプチン感受性の改善方法の開発へと繋げる」ことをそれぞれ将来的な目的とした。

3. 研究の方法

(1) 一過性運動が食欲抑制に対するレプチン感受性を上昇させるか？(Wistar系ラットの場合)

この実験では、脳室投与の手法を用い、運動がレプチンの摂食量抑制効果を上昇させ

るか否かを検証した。なお、脳室投与手技により、視床下部へ直ちにレプチンを作用させることが可能である。

- ① レプチンを脳室内投与するためにカニューレ設置手術を行ったWistar系ラットを、安静群と運動群に分けた。
- ② 運動群はさらに2群に分け、一群は脳室投与前に10 m/分の速度で、もう一群には15 m/分の速度で走行運動をそれぞれ6時間課した。
- ③ 走行運動終了後、脳室内にレプチンを10 μ g投与し、投与後4および24時間の摂食量を測定した。

(2) 運動トレーニングが食欲抑制に対するレプチン感受性を改善するか？(OLETFラットの場合)

(1)のWistar系ラットを用いて行った実験では、運動による摂食抑制に対するレプチン感受性の上昇は観察されなかった(後述)。そこで、肥満により低下した食欲抑制に対するレプチン感受性が、運動トレーニングで改善するか否かを検証するために、遺伝的に過食し、肥満を呈する「OLETFラット」を用いて実験を行った。

- ① レプチンを脳室内投与するために、OLETFラットと、その対照群であるLETOラット(過食せず、肥満にならない)に、それぞれカニューレ設置手術を施した。なお、この時点でOLETFラットはすでに肥満の兆候を示していた。
- ② OLETFラットは、非運動群(OLETF非運動群)と運動群(OLETF運動群)に分けた。運動群には、OLETFラットの乳酸性作業閾値の運動強度(ヒトの場合、軽く息が上がる程度)である20 m/分の速度で90分/日の走行運動を2週間課した。
- ③ 走行運動終了後、脳室内にレプチンを10 μ g投与し、投与後4および22.5時間の摂食量を測定した。

(3) 運動トレーニングが身体活動量増加に対するレプチン感受性を改善するか？

レプチンが視床下部に作用すると、自発活動量が増加し、エネルギー消費量が増す。肥満になると、視床下部のレプチン感受性が低下し、この作用も減弱してしまう。

そこでこの実験では、運動トレーニングが、自発活動量に対するレプチン感受性低下を防止するか否かを検証した。

- ① (2)でカニューレ設置手術を施したLETOラット、およびOLETFラットを、そのままこの実験でも用いた。
- ② OLETF運動群は、トレーニング期間終了後にレプチンを10 μ g投与した。トレー

- ニングの内容は(2)と同様であった。
- ③ 脳室投与後4および22.5時間の活動量をそれぞれ測定した。

(4) 運動トレーニングが視床下部に与える影響の機序について

(2) および(3)で負荷した運動トレーニングでは、摂食抑制・自発運動量に対するレプチン感受性の改善について、統計学的な有意差はみられなかった(後述)。しかし、運動群では摂食量の低下、体重の減少が過去の報告同様に観察されたことから、その機序を探るべく、視床下部における各種タンパク質の発現状況を検討した。対象としたタンパク質は、生体のエネルギー状態により変化する生理学的応答の制御因子と考えられている Sirt1 と、その関連物質である PGC-1、Sirt3 の3種類とした。

- ① Wistar 系ラットを、普通食摂取群および高脂肪食摂取群に分けた。
- ② 普通食群は、さらに普通食群と運動群[普通食+運動(週1回)群]に分け、高脂肪食群は、高脂肪食群、高脂肪食+運動(週1回)群、ならびに高脂肪食+運動(週7回)群とに分けた。全ての運動群には、自発回転ケージによる自発運動を課した。
- ③ 上記の5群を8週間飼養し、飼養後脳の視床下部を摘出した。摘出した視床下部は、ウェスタンブロッティング法により解析し、タンパク質の発現状況を調べた。

4. 研究成果

(1) 一過性運動が食欲抑制に対するレプチン感受性を上昇させるか? (Wistar 系ラットの場合)

この実験では、運動がレプチンの摂食量抑制効果を上昇させるか否かを検討した。その結果、生理食塩水を投与した場合に比べ、レプチンを投与した場合に摂食量の低下が全群で観察された(図1A, B)。しかし、脳室投与後の非運動群と運動群で比較した場合、投与後4時間(図1A)、および24時間(図1B)のいずれにおいても、摂食量に統計学的な差異はみられなかった。また、生理食塩水およびレプチンを投与した場合の摂食量の差分について、非運動群と運動群間で比較した場合でも、統計学的な有意差は検出されなかった。

これらの結果により、まずこの研究の運動条件では、運動による摂食量低下は誘起されないことが分かった。さらに、レプチンを投与したことによる摂食量の抑制は示された

ものの、この実験の運動条件で「食欲抑制に対するレプチン感受性の上昇」は誘起されないと判明した。

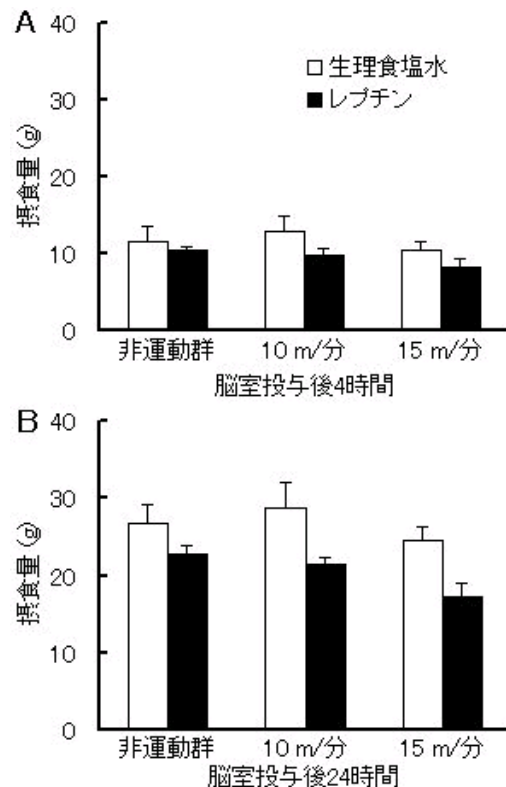


図1. 脳室投与後の摂食量(平均値+標準誤差)

(2) 運動トレーニングが食欲抑制に対するレプチン感受性を改善するか? (OLETF ラットの場合)

(1)の結果を受け、この実験では遺伝的に肥満を呈するOLETFラットを用いた。そして、肥満により低下した食欲抑制に対するレプチン感受性が、運動トレーニングで改善する可能性について検証した。

その結果、脳室投与後4時間では、生理食塩水またはレプチンを投与したいずれの場合においても、OLETF運動群の摂食量が、OLETF非運動群と比較して有意に減少した(図2A)。しかし、脳室投与後4および22.5時間のいずれも、各群で生理食塩水およびレプチンをそれぞれ投与した場合の摂食量を比較した場合、統計学的な有意差は検出されなかった(図2A, B)。

これらの結果は、過去の報告と同様、運動トレーニングによる摂食量の低下は示されたものの、肥満により低下した「食欲抑制に対するレプチン感受性」は、この実験の運動条件では改善しなかったことを意味している。

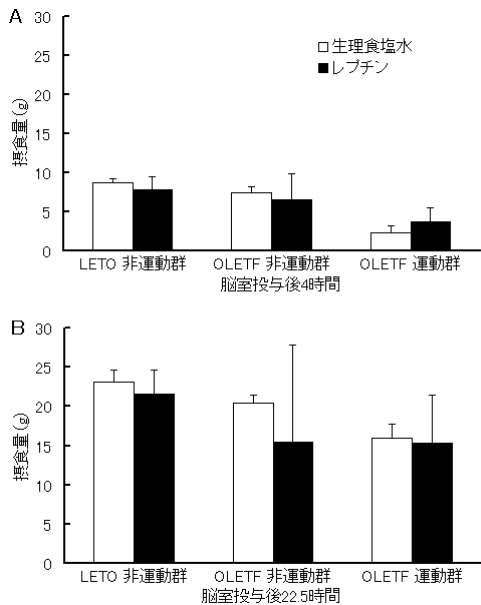


図2. 脳室投与後の摂食量(OLETFラット) (平均値+標準誤差)

(3) 運動トレーニングが身体活動量増加に対するレプチン感受性を改善するか？

肥満により、視床下部のレプチン感受性は低下し、身体活動量を増加させるレプチンの作用が減弱してしまう。そこでこの実験では、自発活動量に対するレプチン感受性の低下が、運動トレーニングにより改善する可能性について検証した。その結果、脳室投与後4時間では、OLETF 運動群の活動量が他の2群と比較して有意に減少した(図3A)。脳室投与後22.5時間では、LETO 非運動群に比べOLETF 非運動群で活動量が有意に減少した(図3B)。しかし、投与後4、ならびに22.5

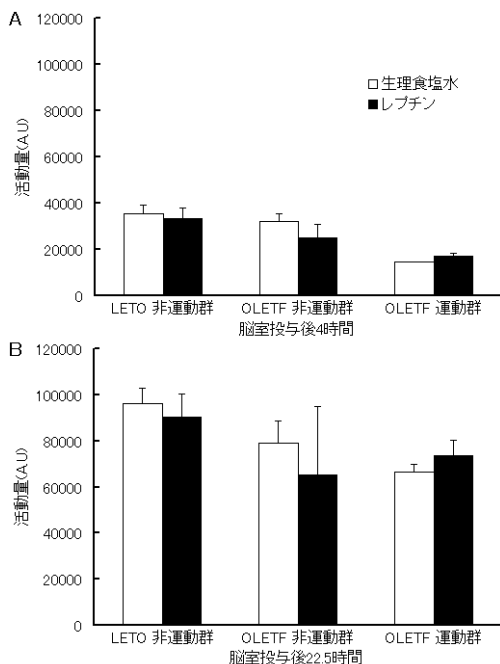


図3. 脳室投与後の活動量(平均値+標準誤差)

時間のいずれにおいても、同一群内で生理食塩水またはレプチンをそれぞれ投与した後の活動量を比較した場合、統計学的な有意差は検出されなかった(図3A、B)。

これらの結果は、肥満により低下した「身体活動量増加に対するレプチン感受性」が、この実験の運動条件で改善しなかったことを意味する。

(4) 運動トレーニングが視床下部に与える影響の機序について

当初、運動トレーニングでレプチン感受性は改善するとの仮説に基づき、レプチンが視床下部に作用した際に活性化されるタンパク質について解析する予定であったが、前述の(2)および(3)の実験において、視床下部のレプチン感受性が低下していると考えられるOLETFラット(肥満ラット)を用いた場合でも、運動トレーニングによる摂食抑制および自発活動量に対するレプチン感受性の改善はみられなかった。しかし過去の報告同様、運動群では摂食量と体重の減少がそれぞれ観察された。視床下部におけるこれらの現象の機序は未だ不明のままであった。

一方、NAD依存性脱アセチル化酵素ファミリー(Sirtuin)が、個体の寿命を延長する生理学的応答を誘起する物質として近年注目されてきた。このタンパク質群は、個体のエネルギー状態に応じて各種の臓器・組織の代謝変化を制御しており、さらにカロリー制限下において、その活性は最も増強することが知られている。

ただし、脳内でのこの酵素の役割については未だ不明のままであり、一方、視床下部は摂食行動やエネルギー消費を制御し、さらに運動はエネルギー消費を増加させるとともに摂食量や活動量を減少させる。これらのことから、視床下部はSirtuinの調節を受けている可能性が考えられた。

そこで、エネルギー蓄積状態と運動条件をそれぞれ変化させ飼育したラットを用い、各群の視床下部におけるSirtuinの発現量をウェスタンブロッティング法によって解析するものとした。なお、解析の対象としたSirtuinは、Sirt1、Sirt3、およびこれらタンパク質の関連物質であるPGC-1の3種類であった。

その結果、Sirt1発現量が、高脂肪食群と比較し高脂肪食+運動(週7回)群で統計学的に有意に減少した(図4)。Sirt3およびPGC-1の発現量は、どの飼育条件によっても有意差は検出されなかった。

当初は、運動をすることでSirtuinの発現量が増加すると予想していたが、結果は逆に

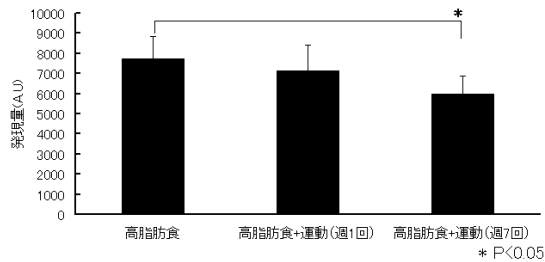


図4. 視床下部におけるSirt1発現量(平均値 + 標準偏差)

発現量が低下していた。この Sirt1 発現量低下の理由については、残念ながら現在までに解明に至らなかった。発現量の低下が、運動による生理学的応答としてどのような意味があるのかについては、今後の検討課題としたい。

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)

[学会発表] (計 1 件)

川上心也 新潟医療福祉学会学術集会 (2008.10), 新潟市(新潟医療福祉大学): 運動が脳のSirt1 遺伝子発現に及ぼす影響

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 心也 (SHIN-YA KAWAKAMI)
新潟医療福祉大学・健康栄養学科・助教
研究者番号: 60410271

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: