

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H04133

研究課題名(和文)骨格筋ホルモンによる自律神経調節機構の解析と生活習慣病改善への意義

研究課題名(英文) Analysis of autonomic regulation by hormone secreted from skeletal muscle and significance in metabolic syndrome improvement

研究代表者

谷田 守 (TANIDA, Mamoru)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70512309

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：運動は生活習慣病の予防や治療に有効である。本研究では、運動が生活習慣病を予防する仕組みについて、骨格筋から分泌されるホルモンであるirisinによる自律神経作用があるか否かが検討した。その結果、トレッドミル運動で血中で増えるirisinは、脳・視床下部に作用して交感神経活動遠心路の活性化と迷走神経活動遠心路の抑制を引き起こし、血圧上昇や頻脈も惹起させた。この仕組みに脳・視床下部の神経核や細胞内シグナル分子が関わっていることがわかった。さらに肥満動物へのirisin投与は脳・視床下部や特定の交感神経遠心路の活性化を惹起させて代謝亢進を引き起こし、肥満抑制に貢献することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動効果は複雑かつ多岐にわたる作用経路が存在する。本研究は、近年発見されたマイオカイン：運動によって骨格筋から分泌されるホルモンが標的臓器へ直接作用する経路ではなく、脳・視床下部を介した自律神経作用を持ち合わせていることを新たに発見した。運動が自律神経を調節する仕組みの一端を見出しただけでなく、運動で増えるマイオカインが脳・視床下部と自律神経系を制御して、代謝・循環・体温などのホメオスタシスに寄与するといった新たな作用経路の存在を本研究で発見した。このことは、身体不活動で運動不能なヒトへの運動模倣薬開発で新たな標的経路になる可能性があり、大変意義深い発見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Exercise is effective to prevention and treatment of metabolic syndrome. In this study, we investigated whether irisin, a hormone secreted by skeletal muscle, has an autonomic effect on the mechanism by which exercise prevents metabolic syndrome. As a result, irisin in the blood increased by treadmill exercise acts on the central hypothalamus, and it activates the efferent pathway of sympathetic nerve activity and suppresses the efferent pathway of vagal nerve activity, leading to increased blood pressure and tachycardia. It has been found to contribute to the suppression of obesity by promoting metabolism by inducing activation of specific sympathetic efferent pathways.

研究分野：生理学

キーワード：自律神経 運動 視床下部 細胞内分子シグナル 摂食調節 循環調節

1. 研究開始当初の背景

日常の運動活動量を増やすことは、肥満、高血圧、糖尿病、高脂血症といった生活習慣病の予防に有効である為、日常生活での運動量の増大が推進されている。事実、ヒトや動物実験においても運動効果は証明されている。近年、骨格筋の膜タンパク質である fibronectin type III domain containing 5 (FNDC5)の細胞外ドメインで、筋収縮時に PGC1- に依存して血中に放出される irisin がホルモンとして末梢組織に直接作用して代謝制御に関与することが報告され、マイオカインと呼ばれる骨格筋由来のホルモンの存在意義が着目されている。一方で、ラットの脳内へ irisin を投与すると、血圧上昇や摂食促進作用が惹起されることがわかっている。従って、運動時や運動後では、骨格筋ホルモンである irisin が血中に放出された後、脳に作用してホメオスタシス維持に関与している可能性が考えられる。

交感神経と副交感神経から構成される自律神経は、脳内の視床下部と延髄を經由する神経回路で調節が行われている。また自律神経は末梢から脳へと情報伝達する求心路と脳から末梢へと情報連絡する遠心路で構成されている。特に末梢臓器の調節に寄与する遠心路自律神経は、摂食調節ホルモンによる影響を受けることが分かっており、循環や代謝調節に関与している。また、遠心路自律神経を調節する視床下部での細胞内分子シグナルや視床下部 延髄の神経連絡路の役割が最近わかっている。

以上を踏まえて、本研究では、運動によって増える骨格筋ホルモンの irisin が直接標的臓器に作用する経路ではなくて、自律神経を介してホメオスタシス維持に寄与している可能性を考えた。また irisin による脳を介する自律神経制御機構が新たな運動効果経路として生活習慣病の改善作用に果たす役割についても未だよくわかっていない点にも着目した。

2. 研究の目的

本研究では、骨格筋から血中へ分泌されるホルモンの一つである irisin が脳・視床下部を介して自律神経遠心路に作用する仕組みとその調節機構、さらには生活習慣病との関連について検討した。具体的には、骨格筋ホルモンによる自律神経作用とその作用機序を解明して、生活習慣病予防における意義を明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) トレッドミル運動による血中及び脳脊髄液中の irisin 濃度変化

Wistar 雄ラットを用いて、トレッドミル運動を行った。順応期間(トレーニング期間)を1日、3日、5日間と分けて、サンプリング実験日では、60分間・25m/minの条件でトレッドミル運動を行い、運動前後において、血中 irisin 濃度を測定した。脳脊髄液は運動後に麻酔下で脳の cisterna magna から採取した。コントロールラットは、トレッドミル内に静置した。Irisin 濃度は、ELISA キットを用いて測定した。また、トレッドミル運動による脳内への透過性を解析する為に、ICR 雄マウスを5日間順応させた後、60分間・18m/minの条件下でトレッドミル運動後にエバンスブルー溶液を静脈内投与して、吸光度計にて脳・視床下部での透過性を評価した。

(2) irisin の脳・視床下部への投与による自律神経活動と循環機能への作用

Wistar 雄ラットと ICR 雄マウスを用いて、麻酔下にて自律神経活動(交感神経活動腎臓枝、褐色脂肪枝、肝臓枝、迷走神経胃枝)を電気生理学的に測定する方法と動脈圧及び心拍数も同時計測する方法を組み合わせ、脳室内に留置したカテーテルから irisin を投与する実験を行った。さらに視床下部の神経核への微量注入法を用いて、弓状核、腹内側核、室傍核への irisin 投与効果についても解析を行った。

(3) irisin による自律神経遠心路作用における分子経路の解析

irisin による自律神経作用における脳内機構を解析する為に、ICR 雄マウスの脳室内への irisin 投与が視床下部細胞内分子シグナルへ及ぼす作用をウエスタンブロッティング法で解析した。さらに免疫組織化学染色法を用いて、細胞内分子シグナルリン酸化陽性細胞を神経核で同定した。

(4) irisin 投与による自律神経作用と生活習慣病モデルでの解析

ICR 雄マウスに、高脂肪食(HFD60)を8週間摂取させて高脂肪食性肥満マウスを作製して、電気生理学実験において、自律神経遠心路活動(交感神経、迷走神経)と循環機能を麻酔下にて計測して脳室内 irisin 投与効果をコントロールマウスと比較した。また、irisin による脳・視床下部での細胞内シグナル分子活性化作用についても、これらのマウスで比較した。さらに、摂食抑制ホルモンのレプチンシグナルとの関連を明らかにする為に、過食による肥満を惹起する db/db

雄マウスの脳室内へ irisin を投与した後の摂食行動の変化を解析した。

4. 研究成果

(1) トレッドミル運動による血中及び脳脊髄液中の irisin 濃度変化

ラットにおいてトレッドミル運動を負荷すると、順応期間5日のグループで血中 irisin 濃度が運動前に比べて上昇した。一方、脳脊髄液中の irisin 濃度は、コントロールの安静グループと運動グループで有意差は検出されなかった。さらに、トレッドミル運動が脳・視床下部内への物質透過性へ及ぼす作用についてエバンスブルーで解析したところ、運動グループと安静グループで視床下部の物質透過性に有意な差は認められなかった。以上のことから、運動によって分泌される irisin は、直接脳への作用を行っておらず他の経路に作用して脳へ情報伝達する可能性が考えられた。

(2) irisin の脳・視床下部への投与が自律神経活動と循環機能へ及ぼす効果の検討

Wistar 雄ラットにおいて、脳室内 irisin 投与は濃度依存的に、腎臓交感神経活動を活性化して、動脈圧と心拍数を上昇させた(図1)。さらに、ICR 雄マウスへの irisin 脳室内投与も腎臓交感神経活動と動脈圧を上昇させ、これらの作用は摂食条件(絶食なし、絶食12時間)によって変化することはなかった。さらにラット弓状核又は腹内側核への irisin 微量注入によって腎臓交感神経活動の反応性が確認された。以上のことから、irisin の自律神経作用が確認された。

(3) irisin による自律神経遠心路作用における分子経路の解析

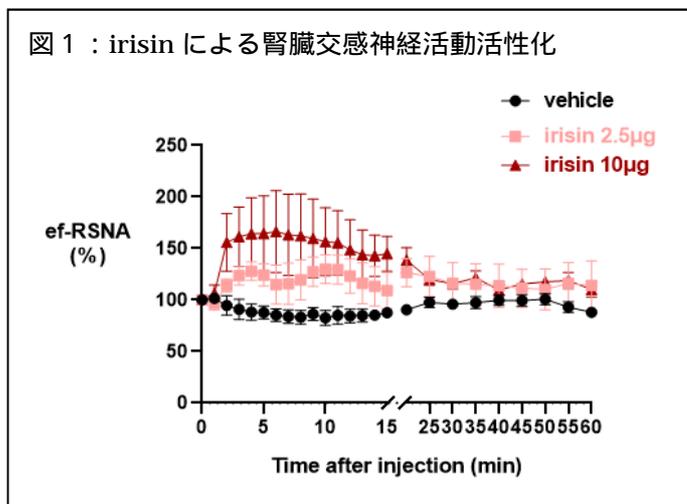
マウス視床下部における細胞内シグナル分子を網羅的に解析して、irisin 脳室内投与によって活性化するシグナル分子をウエスタンブロッティング法で調べた結果、mTORC1 によって活性化するS6 キナーゼのリン酸化が irisin 投与によって亢進した。さらに、免疫組織化学染色法でマウス視床下部神経核において、S6 キナーゼリン酸化陽性細胞を検出した結果、弓状核、腹内側核、室傍核の3つの核で確認された。これらの結果は、irisin による自律神経作用に視床下部細胞内シグナルが関与することを示唆している。

(4) irisin 投与による自律神経作用と生活習慣病モデルでの解析

肥満モデルである高脂肪食性肥満マウスの自律神経遠心路と循環機能へ及ぼす視床下部 irisin 作用を電気生理学的方法で検討した。その結果、交感神経遠心路腎臓枝への irisin による活性化作用と血圧上昇作用は高脂肪食性肥満マウスで減弱していた。一方で交感神経遠心路褐色脂肪枝活性化作用と胃迷走神経遠心路抑制作用は、高脂肪食性肥満マウスにおいても観察された。さらに、摂食抑制シグナルのレプチンシグナルの関与を解析する為に、db/db マウスを用いて視床下部 irisin 投与による摂食行動実験を行った結果、irisin 投与後2時間において、コントロールマウスで摂食抑制が惹起されたが($P < 0.05$ vs. vehicle)、db/db マウスでは irisin による摂食抑制作用が消失した。

本研究において、これらの実験データから、運動時に血中に分泌される irisin は脳・視床下部に作用して、自律神経をコントロールする regulator の一つである可能性が示唆された。さらに、肥満マウスでは視床下部への irisin 作用による交感神経活性化と昇圧応答に抵抗性があることや、レプチンシグナルを介して摂食調節機能が惹起される実験事実から、脳・視床下部を介する irisin の自律神経作用は、生活習慣病の予防・発症において主に循環・摂食機能に寄与する可能性をもつことがわかった。

図1： irisin による腎臓交感神経活動活性化



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mamoru Tanida	4. 巻 8
2. 論文標題 Electrophysiological Mechanism Underlying Vagal Nerve Activity in Mice]	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain Nerve	6. 最初と最後の頁 959-964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416202161.	査読の有無 無
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 Yamamoto N, Tokumon T, Obuchi A, Kono M, Saigo K, Tanida M, Ikeda-Matsuo Y, Sobue K.	4. 巻 163
2. 論文標題 Poly(l:C) promotes neurotoxic amyloid accumulation through reduced degradation by decreasing neprilysin protein levels in astrocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Neurochem .	6. 最初と最後の頁 517-530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15716. Epub 2022 Nov 16.	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 谷田守	4. 巻 58
2. 論文標題 レプチンによる自律神経調節の脳内機構と末梢 - 中枢連関	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 237-240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kurata Y, Tsumoto K, Hayashi K, Hisatome I, Kuda Y, Tanida M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Multiple Dynamical Mechanisms of Phase-2 Early Afterdepolarizations in a Human Ventricular Myocyte Model: Involvement of Spontaneous SR Ca ²⁺ Release.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Physiol.	6. 最初と最後の頁 1545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2019.01545.	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 Teratani T, Mikami Y, Nakamoto N, Suzuki T, Harada Y, Okabayashi K, Hagihara Y, Taniki N, Kohno K, Shibata S, Miyamoto K, Ishigame H, Chu PS, Sujino T, Suda W, Hattori M, Matsui M, Okada T, Okano H, Inoue M, Yada T, Kitagawa Y, Yoshimura A, Tanida M, Tsuda M, Iwasaki Y, Kanai T.	4. 巻 585
2. 論文標題 The liver-brain-gut neural arc maintains the Treg cell niche in the gut.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 591-596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-2425-3.	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 Zhang T, Shibamoto T, Tanida M, Taniguchi M, Kuda Y, Yang W, Kurata Y.	4. 巻 15
2. 論文標題 Angiopoietin-2 is released during anaphylactic hypotension in anesthetized and unanesthetized rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLos One	6. 最初と最後の頁 e0242026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0242026.	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 Yamamoto N, Nakazawa M, Nunono N, Yoshida N, Obuchi A, Tanida M, Suzuki K, Ikeda-Matsuo Y, Sobue K.	4. 巻 166
2. 論文標題 Protein kinases A and C regulate amyloid- degradation by modulating protein levels of neprilysin and insulin-degrading enzyme in astrocytes.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Res. 2021 May;166:62-72.	6. 最初と最後の頁 62-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.05.008.	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 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 谷田守、木元雄一朗
2. 発表標題 運動後のホルモンと自律神経に関する研究
3. 学会等名 第34回日本体力医学会北陸地方会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷田守、池田美香子、九田裕一、津元国親、芝本利重、倉田康孝
2. 発表標題 高脂肪食性肥満マウスでのコレシストキニンによる自律神経反射経路の解析
3. 学会等名 第31回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 芝本利重、谷田 守、九田裕一、津元国親、倉田康孝
2. 発表標題 ラットにおけるアナフィラキシー二相性反応の検討
3. 学会等名 第31回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 九田裕一、倉田康孝、池田崇之、谷田 守、津元国親、芝本利重、米倉秀人
2. 発表標題 HL-1マウス心房筋細胞における自動能機序と早期後脱分極の発生
3. 学会等名 第31回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tsumoto K, Shimamoto T, Aoji Y, Kuda Y, Tanida M, Amano A, Kurata Y
2. 発表標題 Linking the early afterdepolarization in cardiomyocyte models of long QT syndrome type 2 to reentrant arrhythmia.
3. 学会等名 The 39th Congress of The International Union of Physiological Sciences (IUPS2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷田守、池田美香子
2. 発表標題 骨格筋ホルモンによる遠心路自律神経調節における視床下部細胞内シグナルの役割
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷田守、池田美香子
2. 発表標題 骨格筋ホルモンによる自律神経調節作用
3. 学会等名 第33回日本体力医学会北陸地方会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷田守、池田美香子
2. 発表標題 骨格筋ホルモンによる交感神経遠心路活性化と循環調節
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木元雄一朗、谷田守、九田裕一、津元国親、倉田康孝
2. 発表標題 高食塩水投与による内臓迷走神経求心路活性化の生理的意義
3. 学会等名 第67回中部日本生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷田守, 張涛, 九田裕一, 津元国親, 芝本利重, 倉田康孝
2. 発表標題 アナフィラキシーショック時の自律神経反応における肥満細胞の役割
3. 学会等名 第67回中部日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷田 守, 岩崎 有作, 劉 麗, 九田 裕一, 津元 国親, 芝本 利重, 倉田 康孝
2. 発表標題 マウスにおける内臓迷走神経求心路のCCKIによる活性化
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021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
---------	---------