

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17500

研究課題名(和文) 間欠絶食に伴う代謝エピゲノム連関によるミトコンドリア活性化機構のメタボローム解析

研究課題名(英文) Metabolome analysis to clarify mitochondrial activation by a metabolism-epigenome link induced by intermittent fasting

研究代表者

遠藤 翔 (Endo, Sho)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・共同研究員

研究者番号：20772354

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：間欠的絶食(IF)が中止後に長期にわたる効果を発揮するメカニズムを解析するために、72時間絶食と96時間の給餌(72hIF)を1週間1サイクルとして、マウスに4サイクルの間欠絶食を施行した。骨格筋において脂質代謝に関与する遺伝子のプロモータ領域におけるヒストンのアセチル化に焦点をあて、遺伝子発現を解析した。72hIFは、筋肉における脂質利用の促進とミトコンドリア活性化を特徴とする代謝リモデリングをもたらした。脂質燃焼に関与する遺伝子のプロモータ領域におけるヒストンアセチル化の持続的な促進が、IFの持続的な代謝効果に寄与すると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、間欠絶食中止後も持続する代謝効果のメカニズムを示しており、肥満糖尿病患者での長期減量効果やインスリン抵抗性の改善に応用できる可能性がある。すなわち、間欠絶食にて脂肪燃焼遺伝子群のヒストンアセチル化に長期の変化が生じることは、遺伝子発現の変化ならびに減量・インスリン抵抗性改善効果が長期にわたり持続する可能性を示唆する。マウスによる本研究成果の、肥満糖尿病患者への応用可能性につき、今後の研究を展開できれば幸いである。

研究成果の概要(英文)：To explore the mechanism by which intermittent fasting (IF) exerts prolonged effects after discontinuation, we examined mice that had been subjected to 4 cycles of fasting for 72 hours and ad libitum feeding for 96 hours per week (72hIF), focusing on expression of genes for lipid metabolism in the skeletal muscle and histone acetylation in the promoter region. 72hIF resulted in metabolic remodeling, characterized by enhanced lipid utilization and mitochondrial activation in the muscle. Sustainable promotion of histone acetylation in lipid oxidation genes of the muscle and adipose tissues during and after IF may contribute to sustained metabolic effects of IF.

研究分野：臨床代謝内分泌学を背景とした間欠絶食などの新しい食事療法の開発

キーワード：間欠絶食 肥満 糖尿病 耐糖能 運動耐容能 ヒストンアセチル化 脂肪燃焼 ミトコンドリア

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

近年、摂取カロリー制限を伴わずして肥満・耐糖能の改善が期待できる食事療法として間欠絶食が注目されている。しかしながら、間欠絶食が代謝改善をもたらす機構は十分知られておらず、どのような間欠絶食が効果的であるかも定かではない。本研究では72時間間欠絶食後の長期に及ぶ代謝改善効果の解明のため、ミトコンドリア活性化ならびに脂肪燃焼促進に關与する遺伝子のエピゲノムに着目した検討を行う。栄養状態による代謝産物の変動がヒストンアセチル化を制御し、遺伝子発現を変化させることに着目して72時間間欠絶食後の臓器における代謝変容をメタボロームにて解析し、間欠絶食に伴う代謝変容が、筋肉や脂肪組織のエピゲノムを制御することでミトコンドリアを活性化して脂肪燃焼を促進する、との仮説を検証する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、72時間間欠絶食による骨格筋の代謝リモデリングをもたらす遺伝子発現変容と、間欠絶食終了後も続く脂肪燃焼促進の機構を見出すことにある。72時間間欠絶食に伴い全身各臓器で変容する代謝産物が、代謝リモデリングの責任分子であると考えられるが、これまでその本体は明らかではない。申請者は骨格筋のメタボローム解析で既に、72時間絶食に伴い変動する分子を明らかにしており、文献的に、そのいくつかはヒストンアセチル化に關与することを見出している。本研究において、72時間絶食において変動する代謝産物による、ミトコンドリア活性化をもたらす遺伝子の、プロモータ領域ヒストンアセチル化の制御を詳細に検討する。これまでから肥満・糖尿病の発症と改善に、慢性炎症や脂肪燃焼に關与する遺伝子群のエピゲノムが關与するとされている。しかしながら、間欠絶食に伴うエピゲノム変容は十分検討されていない。環境変化を反映した細胞代謝変容が、ヒストン脱アセチル化酵素(HDACs, Sirtuins)やDNAメチル化酵素などエピゲノム修飾因子の活性を変化させ、遺伝子発現に影響を与えることが“代謝エピゲノム連関”として注目されている。なかでもヒストンアセチル化は、エネルギー代謝に密接に關連することがこれまでに報告されている。本研究では、代謝リモデリングをもたらす遺伝子発現の変容における、ヒストンアセチル化の關与について検討する。

3. 研究の方法

1. 72時間間欠絶食に伴う臓器代謝リモデリングならびに代謝産物変動の解析

間欠絶食による骨格筋ミトコンドリア活性化の仮説から予測される運動耐容能の改善や、血圧への影響、腎機能、肝機能への影響、また筋肉、白色脂肪、褐色脂肪における組織リモデリング、ミトコンドリア活性化(定量的PCR法)、代謝産物の変動(メタボローム)を觀察し、間欠絶食とその前後での時間経過を追うことで、間欠絶食が全身に与える影響を詳細に解析する。

2. 72時間間欠絶食に伴う代謝リモデリングにヒストンアセチル化が及ぼす影響の解析

72時間間欠絶食の肥満・糖尿病の改善が、ミトコンドリア活性化、脂肪燃焼促進をもたらす遺伝子プロモータ領域におけるヒストンアセチル化を介して生じるとの仮説のもと、マウス72時間間欠絶食中に、ヒストンアセチル化を制御する薬剤を添加することで、間欠絶食に伴う脂肪燃焼促進効果が変化するかを検証する。

3. 培養骨格筋細胞を用いた低糖・低血清培地でのヒストンアセチル化制御の解析

絶食による効果が生体内のヒストンアセチル化に与える影響の詳細を検証するため、培養骨格筋細胞を用いた解析を行う。本研究ではブドウ糖・血清濃度が通常の1/10であるメEDIUMを用いて絶食環境を模倣し、ミトコンドリアを活性化する脂肪燃焼系遺伝子の発現ならびにそのプロモータ領域におけるヒストンアセチル化の解析を行う。

4. 研究成果

1. 72時間間欠絶食に伴う臓器代謝リモデリングならびに代謝産物変動の解析

72時間間欠絶食(72hIF)をマウスに4サイクル合計4週間反復することで、耐糖能に加えてトレッドミルで評価した持久力の改善を認めた。骨格筋でのエネルギー代謝の変容に着目して間欠絶食の効果を検討したところ、IF群の骨格筋ではミトコンドリアを活性化し、脂肪燃焼を促進する遺伝子群の発現が亢進し、ミトコンドリアが肥大していた。IF4サイクル終了後4週間自由摂食の觀察期を過ぎた後も、IF群で自由摂食群と比べて有意な体重増加の抑制を認めた。觀察期終了後も、IF群で骨格筋の脂肪燃焼系遺伝子の発現亢進を認め、耐糖能と持久力が向上した。72hIF終了後4週間にわたり骨格筋の脂肪燃焼系遺伝子群の発現が亢進しており、72hIFに伴うミトコンドリア関連遺伝子の持続的な発現変化が体重抑制ならびに耐糖能と持久力の改善に寄与する可能性が示唆された。絶食後の骨格筋のメタボローム解析では、ケトン体、Lカルニチン、分枝鎖アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の増加が顕著であった。

2. 72時間間欠絶食に伴う代謝リモデリングにヒストンアセチル化が及ぼす影響の解析

間欠絶食に伴う臓器リモデリングのメカニズムとして、低インスリン、低IGF-1、ケトン体上昇、AMP/ATP、NAD/NADH、AcCoA/CoAの増加などの代謝変化とAMPK、PGC1、Akt、FOXOなどのシグナル経路の關与が報告されている。72hIFを4週間反復すると、体重減少や持久力との關連が知られている脂肪燃焼関連遺伝子である、脱共役タンパクUCP3、甲状腺ホルモン変換酵

素 Di02 等の発現亢進を認めた。回収した骨格筋の電子顕微鏡観察を行うと、72hIF 後のマウスでは、ひとつひとつのミトコンドリアの増大を認めた。このことより 72hIF に伴うミトコンドリア関連遺伝子の発現亢進が、代謝リモデリングに寄与すると示唆された。遺伝子発現亢進との相関が知られている、プロモータ領域のヒストンアセチル化を調べたところ、UCP3 と Di02 のプロモータ領域ヒストンアセチル化の亢進を認めた。

3. 培養骨格筋細胞を用いた低糖・低血清培地でのヒストンアセチル化制御の解析

培養骨格筋細胞 C2C12 を用いた検討で、絶食に伴う筋肉分解で著損するアミノ酸であるロイシンの投与により、UCP3 と Di02 のプロモータ領域のヒストンアセチル化が亢進することを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ryuzaki M, Miyashita K, Sato M, Inoue H, Fujii K, Hagiwara A, Uto A, Endo S, Oshida T, Kinouchi K, Itoh H	4. 巻 40(1)
2. 論文標題 Activation of the intestinal tissue renin-angiotensin system by transient sodium loading in salt-sensitive rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 33-45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/HJH.0000000000002974	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 Uto A, Miyashita K, Endo S, Sato M, Ryuzaki M, Kinouchi K, Mitsuishi M, Meguro S, Itoh H	4. 巻 162(12)
2. 論文標題 Transient Dexamethasone Loading Induces Prolonged Hyperglycemia in Male Mice With Histone Acetylation in Dpp-4 Promoter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/endo/bqab193	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮下 和季, 遠藤 翔, 伊藤 裕
2. 発表標題 72時間間欠絶食による身体能力改善メカニズムの解析
3. 学会等名 日本肥満学会・日本肥満症治療学会合同学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 七原 由梨奈, 孫 燕, 牧尾 将幹, 諏訪 知子, 遠藤 翔
2. 発表標題 インスリン自己中断によるdiabetic lipemiaから急性膵炎を発症した1例
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
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
---------	---------