

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16350

研究課題名(和文) 摂食時間制限が糖脂質代謝を改善する分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Investigating the molecular mechanism behind the improvement of glucose and lipid metabolism through time-restricted feeding

研究代表者

辻本 和峰 (Tsujimoto, Kazutaka)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20801525

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪細胞におけるSIRT1は摂食時間制限による褐色脂肪組織の熱産生機能向上に寄与していることが明らかになった。さらにSIRT1は摂食時間制限によって誘導される脂質代謝ターンオーバー、ミトコンドリア機能の亢進に寄与している可能性が示唆された。そのメカニズムとして、摂食時間制限によってNAD(nicotinamide adenine dinucleotide)のサルベージ経路が活性化し、Sirt1を介した時計遺伝子発現の振幅上昇が生じたと推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

褐色脂肪組織におけるSIRT1が、摂食時間制限による熱産生機能向上を誘導することを明らかにし、エネルギー摂取量に依存しない肥満改善の新たなメカニズムを見出した。さらに摂食時間制限によって脂肪細胞のSIRT1が誘導される機構や時計遺伝子との関連を明らかにした。

本研究成果は摂食時間制限が肥満や糖脂質代謝をどのように改善しているのかその分子学的理解に貢献するだけでなく、時間栄養学を活用した生活習慣病に対する新たな治療戦略の基盤となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：It has been revealed that SIRT1 in adipocytes contributes to the improvement of thermogenic function in brown adipose tissue through time-restricted feeding. Furthermore, it is suggested that SIRT1 may contribute to the induction of lipid metabolism turnover and enhanced mitochondrial function induced by time-restricted feeding. The mechanism involves the activation of the salvage pathway of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) through time-restricted feeding, leading to an increase in the amplitude of clock gene expression mediated by SIRT1.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：エネルギー代謝 時間栄養学 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1日の中で摂食時間を一定にする摂食時間制限は、総エネルギー摂取量に非依存的に肥満や糖・脂質代謝を改善させることが報告されている。しかしエネルギー摂取の時間制限(摂食時間制限)がどのようなメカニズムによって肥満や糖・脂質代謝の改善をもたらすのか、詳細は不明である。

2. 研究の目的

SIRT1 遺伝子は、Sirtuin 1 (SIRT1) は代謝遺伝子のエピゲノム制御を介して絶食環境における即時的な応答とその後の形質保持に中心的役割を果たしていると考えられているが、摂食時間制限との関係は明らかでない。本研究では、時間制限摂食の肥満改善メカニズムにおける脂肪細胞の SIRT1 遺伝子の役割を検討した。

3. 研究の方法

(1) 摂食時間制限を介した脂肪組織の SIRT1 遺伝子発現の誘導が全身のエネルギー代謝に及ぼす影響の検討

摂食時間制限を Adiponectin-Cre-ERT2 マウスと Sirt1 flox マウスを交配して得られた仔マウスにタモキシフェンを投与して後天的脂肪細胞特異的 Sirt1KO マウス(KO)を作製した。対照マウス(Ctrl)および Sirt1KO に対して8週間高脂肪食を負荷し、さらに自由摂餌群(Adlib)と1日10時間の摂餌時間制限群(TRF)に分けて4群(Ctrl-Adlib、KO-Adlib、Ctrl-TRF、KO-TRF)で比較検討を行った。まずこれら4群のマウスに対して、摂餌量、体重推移、褐色脂肪組織、鼠径部皮下脂肪組織、精巣上体内臓脂肪組織の重量測定を行い、さらに代謝解析装置を用いて24時間の酸素消費量やエネルギー消費量の測定も行った。

(2) 摂食時間制限によって誘導された SIRT1 遺伝子発現が褐色脂肪組織の熱産生機能に及ぼす影響の解明

続いて褐色脂肪組織の熱産生機能を評価するため、直腸温およびサーモグラフィを用いた肩甲骨間体表温の測定を行った。加えて、HE染色およびUCP1免疫染色による組織学的検討を行い、RNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析、RT-PCR法による遺伝子発現解析、ウエスタンブロットング法によるUCP1蛋白発現解析を行った。

(3) 摂食時間制限によって褐色脂肪組織の SIRT1 が誘導されるメカニズムの解明

摂食時間制限が褐色脂肪組織の SIRT1 を誘導するメカニズムを解明するため、褐色脂肪組織の SIRT1 の遺伝子発現、蛋白発現を測定し、SIRT1 の基質である NAD (nicotinamide adenine dinucleotide)濃度や NAD 合成酵素である NAMPT (nicotinamide phosphoribosyl transferase) の発現量を併せて測定した。SIRT1 の発現誘導には概日時計が影響していることが推測されるため、時計遺伝子の発現を確認した。

4. 研究成果

(1) 摂食時間制限を介した脂肪組織の SIRT1 遺伝子発現の誘導が全身のエネルギー代謝に及ぼす影響の検討

対照マウスおよび Sirt1KO マウスは、摂食時間制限によって摂餌量に依存しない体重の低下と白色脂肪組織の重量低下が認められた。対照マウスにおいて摂食時間制限による褐色脂肪組織の重量低下が認められたが、その変化は Sirt1KO マウスにおいて減弱した。摂食時間制限によって、Ctrl-TRF、KO-TRF いずれの群も暗期において酸素消費量やエネルギー消費量が増加し、Sirt1KO により減弱する傾向が認められた。これらから、摂食時間制限がもたらすエネルギー摂取量に依存しない体重減少効果に脂肪細胞の SIRT1 が一部寄与している可能性が示唆された。

(2) 摂食時間制限によって誘導された SIRT1 遺伝子発現が褐色脂肪組織の熱産生機能に及ぼす影響の検討

自由摂餌下の対照マウス (Ctrl-Adlib) および Sirt1KO マウス (KO-Adlib) は 1 日を通して一定の直腸温を保っていた。摂食時間制限下のマウス (Ctrl-TRF、KO-TRF) はいずれも絶食下で徐々に直腸温低下が認められた。一方で再摂餌時後、Ctrl-TRF は KO-TRF と比較して有意な直腸温上昇が認められた (図 1)。またサーモグラフィを用いて褐色脂肪組織の温度を反映する肩甲骨間体表温を測定したところ、Ctrl-TRF は Ctrl-Adlib と比較して有意な温度上昇が認められ、KO-TRF ではそれらの変化が消失していた (図 1)。

組織学的検討では、Ctrl-TRF の褐色脂肪組織において、Ctrl-Adlib と比較して脂肪蓄積の減少、多房性脂肪細胞の増加、UCP1 陽性細胞の増加が認められたが、KO-TRF ではそれらの変化が消失していた (図 2)。

遺伝子発現の網羅的解析では、摂食時間制限によって脂質代謝、熱産生、酸化的リン酸化、ミトコンドリア関連遺伝子群の発現上昇が認められたが、Sirt1KO でそれらの上昇が消失していた。とりわけ脂質代謝関連遺伝子については脂肪酸酸化と新規脂肪合成関連遺伝子の両者にその変化が生じており、摂食時間制限によって亢進した脂質代謝のターンオーバーが Sirt1KO によって減弱しているものと推測された。

これらから、褐色脂肪組織における SIRT1 は摂食時間制限によって誘導される脂質代謝ターンオーバー、ミトコンドリア機能の亢進に寄与し、それが食餌誘導性の熱産生機能向上をもたらしている可能性が示唆された。

図 1. 直腸温変化 (左) および褐色脂肪組織部位の体表温度 (右)

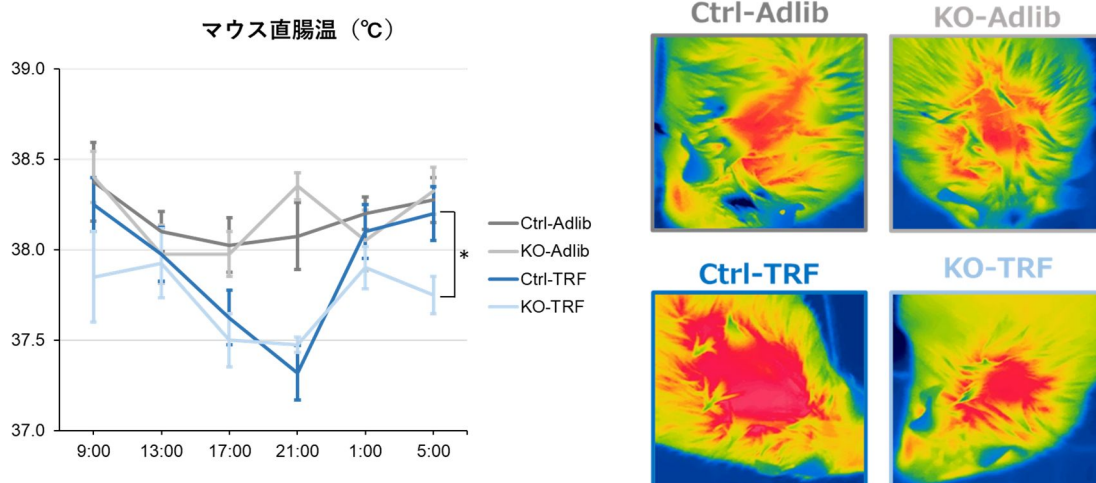
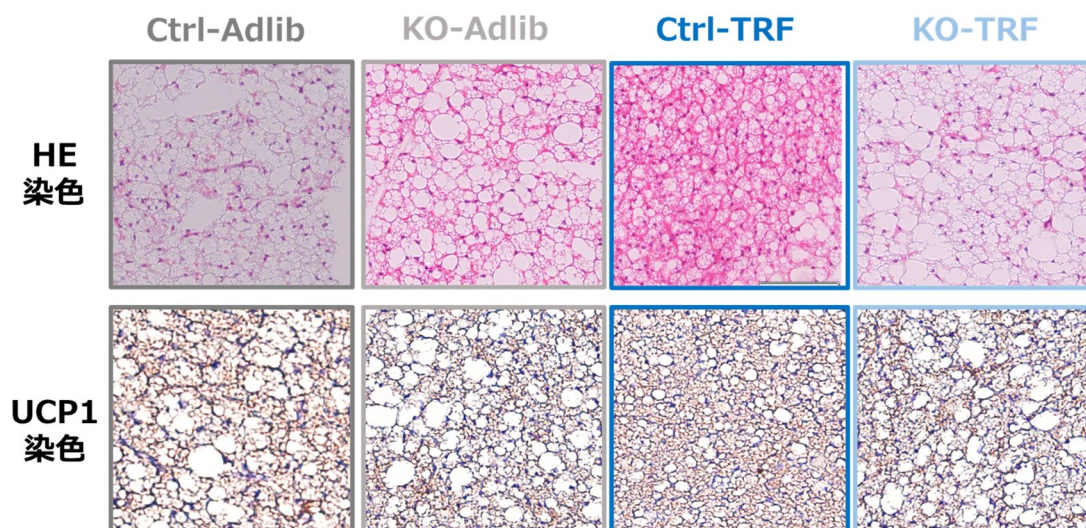


図 2. 褐色脂肪組織の HE 染色像および UCP1 免疫染色像



(3) 摂食時間制限によって褐色脂肪組織の SIRT1 が誘導されるメカニズムの解明

褐色脂肪組織の SIRT1 の遺伝子発現および蛋白発現は、Ctrl-Adlib と Ctrl-TRF とで有意差を認めなかった。一方、組織 NAD 濃度や NAD 合成酵素である NAMPT の遺伝子発現については、Ctrl-Adlib と比して Ctrl-TRF で有意な上昇がみられたが Sirt1KO によりその上昇は消失した (図 3)。このことから、摂食時間制限による NAD サルベージ経路の活性化が褐色細胞組織の SIRT1 が誘導される機序の一端である可能性が推測された。

続いて、脂肪組織において概日時計を司っている BMAL1 や CLOCK 遺伝子の発現を解析したところ、摂食時間制限によってその発現上昇が認められたが、それらの変化は Sirt1KO では乏しかった (図 4)。これまでの既報から、摂食時間制限が褐色脂肪組織の時計遺伝子の発現振幅増加を生じる可能性が指摘されており、時計遺伝子の振幅増加が Sirt1KO により減弱した可能性が示唆された。

図3. 褐色脂肪組織のNADサルベージ経路

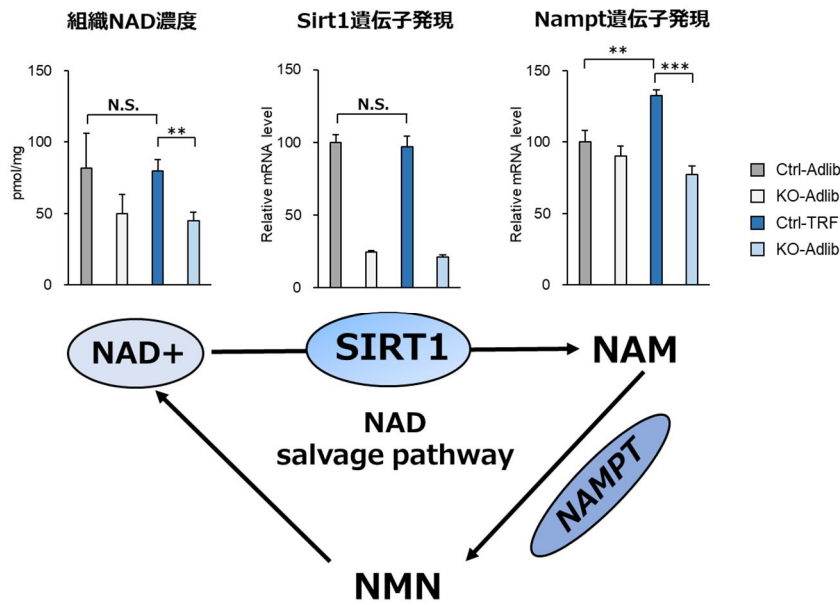
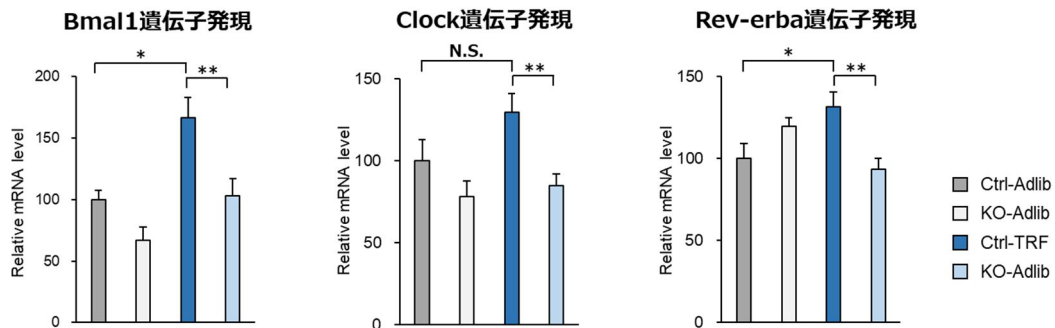


図4. 時計遺伝子の発現変化



以上の結果から、脂肪細胞における SIRT1 は、エネルギー摂取の時間制限により褐色脂肪組織の熱産生機能向上に寄与し、またその機序と時計遺伝子との関連が示唆された。

本研究成果は摂食時間制限が肥満や糖脂質代謝をどのように改善しているのかその分子学的理解に貢献するだけでなく、時間栄養学を活用した生活習慣病に対する新たな治療戦略の基盤となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 辻本 和峰
2. 発表標題 エネルギー摂取の時間制限は脂肪細胞SIRT1を介して脂肪組織の機能改善に寄与する
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
---------	---------