

平成 27 年 6 月 20 日現在

機関番号：33111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700764

研究課題名(和文) 運動が視床下部 Sirt1 の働きに与える影響とその機序の検討

研究課題名(英文) Effect of voluntary exercise on rat hypothalamic Sirt1

研究代表者

川上 心也 (Kawakami, Shinya)

新潟医療福祉大学・健康科学部・助教

研究者番号：60410271

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、運動により生じる摂食量の低下が、視床下部で発現しているNAD依存性脱アセチル化酵素(Sirt1)により調節されるか否かを調べ、運動が視床下部Sirt1を介し生体に及ぼす影響とその機序について検討した。

その結果、視床下部Sirt1は、運動における摂食量の変化には関与しなかったものの、高脂肪食摂取時には内臓脂肪の代謝に関与し、摂取エネルギーの減少時には摂食量の調節に関与することがそれぞれ示唆された。従って、視床下部Sirt1は、栄養状態の変化に対し、エネルギーの蓄積・消費を調節し生体の生理的な健全性維持のために機能し、その機能は運動により向上する可能性が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Exercise has a temporary effect on food intake. The NAD-dependent deacetylase Sirt1 is considered to be a factor that regulates food intake through the hypothalamus. The aim of the present study was to determine whether voluntary wheel exercise regulates individual physiology through hypothalamic Sirt1 in rats and to investigate the underlying mechanism.

The results revealed that voluntary exercise did not influence food intake via hypothalamic Sirt1 in rats. However, it was suggested that hypothalamic Sirt1 was involved in the metabolism of visceral fat when a high-fat diet was ingested and in the regulation of food intake when energy intake was reduced. Therefore, this suggests that hypothalamic Sirt1 contributes to the maintenance of the physiological robustness of an individual during a change in nutritional conditions by regulating the accumulation and consumption of energy. This function may be improved by voluntary exercise.

研究分野：生理学

キーワード：Sirt1 視床下部 運動療法 摂食行動 内臓脂肪

1. 研究開始当初の背景

(1) 哺乳動物において、NAD 依存性脱アセチル化酵素(Sirt1)は、生体の全細胞に存在すると言われ、特に視床下部での Sirt1 の働きは、肥満や飢餓といった栄養状態の変化に対応し、生体の生理的な頑健性を維持するために重要と考えられてきた。しかしながら、視床下部内での Sirt1 の機能の機序については不明な点が多かった。

(2) 一方、運動には、エネルギー消費量を増加させることにより肥満の防止効果があると共に、過食の防止効果も認められる。運動による食欲抑制の機序は未解明であるが、摂食行動やエネルギー代謝は視床下部が制御すると考えられており、これらの変化は、視床下部内の Sirt1 により調節されている可能性が示唆されていた。

2. 研究の目的

(1) 上記の背景より、運動による摂食抑制作用は、視床下部の Sirt1 が強く影響していることが示唆されていた。また、視床下部に発現した Sirt1 の活性化の有無については調べられておらず、さらに、視床下部 Sirt1 が摂食量や活動量の変化に与える影響の機序についても不明のままであった。そこで本申請課題では、各種栄養条件の下で、運動により視床下部 Sirt1 の発現量及び活性が変化するか否かを確認し、視床下部 Sirt1 と運動による過食抑制との関連性について検討した。

(2) また、Sirt1 の脱アセチル化の影響を受ける FoxO1 (摂食促進作用を持つ) および Stat3 (摂食抑制作用を持つ) 等の視床下部での発現量変化についても測定し、視床下部 Sirt1 を介した運動による摂食行動への影響とその機序について検討した。

3. 研究の方法

(1) 供試動物として、Wistar 系雄性ラット(8 週齢)を用いた。まず、ラットを普通食飼育および高脂肪食飼育群(以下それぞれ普通食群、HF 食群)に分け、さらに各群を、対照群(非運動)、運動群(自発回転ケージで飼育)、Pair-feeding 群(運動群の摂食量と同量の飼料を給餌した群。以下 PF 群)に分けて2週間飼育した。飼育期間中は、毎日の摂食量と、運動群においては運動量(自発回転ケージの回転数)についてもそれぞれ測定した。

(2) 飼育後、視床下部を摘出し、ウェスタンブロッティング法により、Sirt1、pAMPK α 、FoxO1、Ac-FoxO1、Stat3、および Ac-Stat3 の発現量を調べた。また、視床下部摘出と同時に内臓脂肪重量についても測定した。

(3) 統計学的検定には、2元配置分散分析を用い、多重比較検定には Tukey-Kramer 法を用いた。また、視床下部での種々のタンパク質発現量と、運動量、摂食量、内臓脂肪量との相関を、ピアソンの相関係数により判定した。

4. 研究成果

(1) 視床下部 Sirt1 と運動との関係について

運動により生じる摂食量の低下が、視床下部で発現している Sirt1 により調節されるか否かを確認するにあたり、まず、飼育期間中のラットの総摂取カロリー量および体重の変化、ならびに Sirt1 発現量及び活性を記録した。

ラットの摂食量と体重の変化

普通食、HF 食群いずれも、運動により有意に総摂取カロリー量が低下していた(図1)。

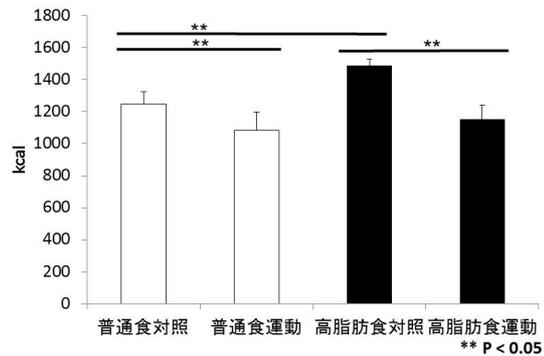


図1. 飼育期間中の総摂取カロリー

体重については、普通食群、HF 食群いずれも、対照群に比べ運動群ならびに PF 群で有意に減少していた(図2)。これらは、過去の

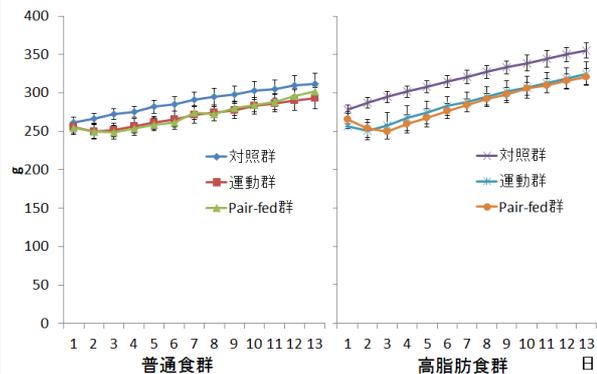


図2. 飼育期間中の体重変化

知見と同様であり、本実験の飼育条件は適切であったことがうかがえた。

視床下部 Sirt1 の発現量

飼育期間終了後、摘出した視床下部の Sirt1 発現量は、普通食群、HF 食群との間で差異はみられなかったものの、いずれも対照群および PF 群に比べ運動群で有意に増加し

ていた(図3)。対照群とPF群間に有意な差

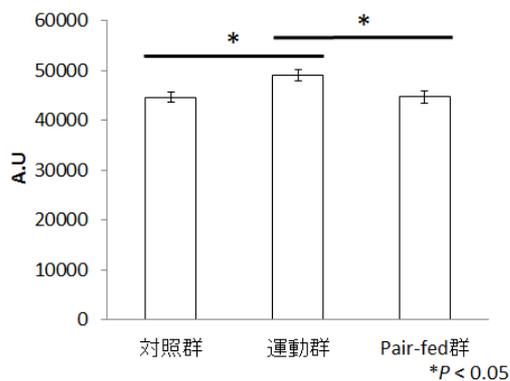


図3. 視床下部Sirt1発現量

は認められなかったことから、視床下部 Sirt1 の変化は、摂食量の減少ではなく、運動の影響により生じると考えられた。また、Sirt1 の脱アセチル化活性についても調べたところ、いずれの群でも活性は有していたものの、各群間に有意な差は認められなかった。従って、運動は、視床下部 Sirt1 の発現量調節に対して影響するものの、発現後の活性調節とは関係ないことが推察された。

視床下部 pAMPK の発現量

Sirt1 の活性を促進すると考えられている pAMPK¹⁾ の発現量も検討したところ、Sirt1 発現量と同様の傾向を示した(図4)。本実験

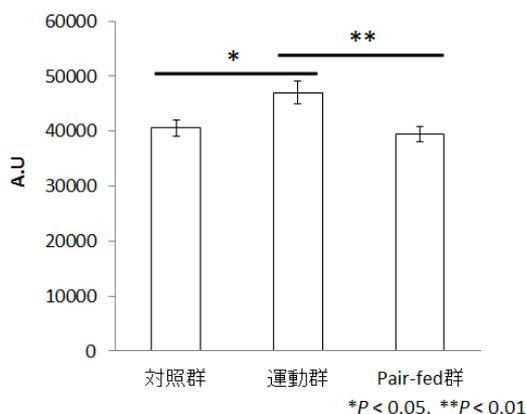


図4. 視床下部p-AMPK発現量

の飼育条件では、摂取エネルギー量とは関係なく、運動により視床下部の pAMPK 発現量が増加すると考えられる。このことから、運動が視床下部 Sirt1 の発現量に与える影響は、pAMPK を介して調節されると推察された。

(2) 運動が視床下部 Sirt1 を介して摂食量に与える影響について

本研究の自発運動条件では、視床下部において Sirt1 発現量が増加することが分かった。そこで続いては、視床下部 Sirt1 が摂食量の変化に関与するメカニズムについて検討するため、FoxO1 および Stat3 の視床下部での発現量を調べた。視床下部において、FoxO1 は摂食促進作用を、Stat3 は摂食抑制作用をそれぞれ持つ。ゆえに、脱アセチル化前の

Ac-FoxO1 および Ac-Stat3 の発現量も調べ、Sirt1 による FoxO1 と Stat3 を介した摂食量の調節について検討した。

Ac-FoxO1 および FoxO1 の発現量

Ac-FoxO1/FoxO1 の値を算出することで、Sirt1 による脱アセチル化能を評価し、摂食量調節の機序について検討した。その結果、対照群、運動群、および PF 群いずれの間にも統計学的な差異は検出されなかった(図5)。

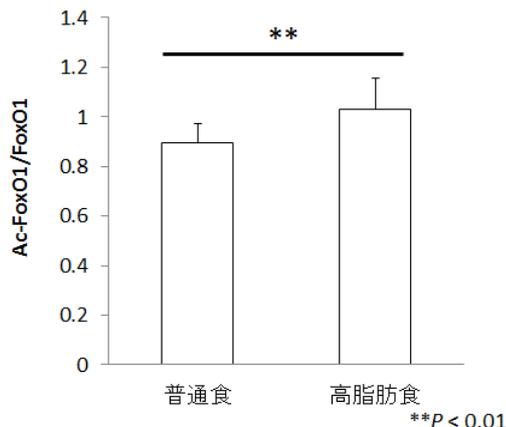


図5. 視床下部FoxO1の脱アセチル化の変化

ただし、普通食群に比べ、HF 食群で有意に値が大きくなった ($P < 0.01$)。従って、視床下部 Sirt1 は、運動の有無や摂取カロリーの違いでは FoxO1 の調節に影響せず、高脂肪食を摂取した場合にのみ Ac-FoxO1 の脱アセチル化を抑制することで、FoxO1 の摂食促進作用を減弱させると考えられた。

一方、高脂肪食運動群と普通食運動群の総摂取カロリー量に有意差がない(図1)ことから、特に高脂肪食で飼育した場合に、Sirt1 が FoxO1 を介し摂食量に与える影響が、運動で増強されると推察された。しかしながら、図5の対照群と運動群間では有意差がなかった。この矛盾点については今後の検討課題とした。

Ac-Stat3 および Stat3 の発現量

上記と同様に、Ac-Stat3/Stat3 の値を算出することで Sirt1 による脱アセチル化能を評価したところ、対照群と PF 群間には有意な差がみられたものの、他の群間には検出されなかった(図6)。従って、視床下部 Sirt1 は、自発運動や高脂肪食摂取時において、Stat3 を介した摂食量の調節には関与しないと考えられた。

一方、対照群に比べ PF 群で摂食量が有意に減少したが、これは、Stat3 を介した Sirt1 の働きが、摂取エネルギー量の減少により生じたためと考えられる。しかし、Ac-Stat3/Stat3 の値の減少、すなわち Ac-Stat3 の脱アセチル化促進は、摂食の抑制を意味しており、摂食量が限定される PF 群でさらに摂食量を抑制するようはたらくことになる。この理由については不明であるため、今後の検討課題とした。

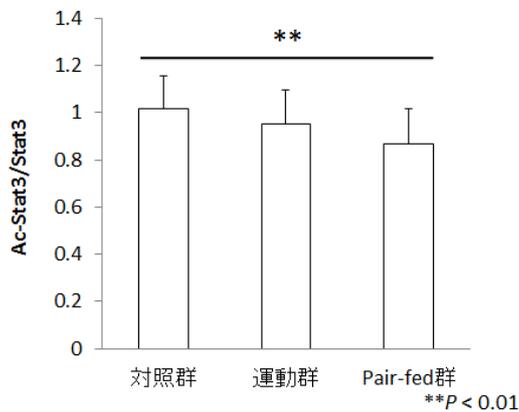


図6. 視床下部Stat3の脱アセチル化

(3) 視床下部 Sirt1 の発現量と各種測定値との関係について

ここまで、普通食あるいは高脂肪食を給餌する条件下で、自発運動による摂食量の減少、および、視床下部 Sirt1 の発現量の増加が明らかとなった。しかし、摂食量の調節に関わる FoxO1 や Stat3 は、高脂肪食摂取時や摂取カロリーの減少時に Sirt1 による調節を受けていると考えられるものの、運動による摂食量の調節との関係は得られていないままであった。

そこで、視床下部 Sirt1 をはじめ、本研究で測定した全てのタンパク質の発現量と、各種の測定値との関連性を検討した。

測定した視床下部の各種タンパク質発現量と、各種測定値との相関関係を、ピアソンの相関係数の検定により調べたところ、高脂肪食を給餌した運動群においてのみ、Sirt1 発現量と内臓脂肪量との間に強い正の相関が認められた (図 7)。

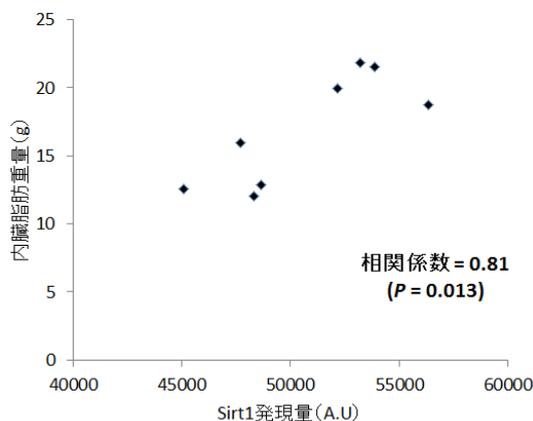


図7. Sirt1発現量と内臓脂肪量との関連性

また、ラット各群の内臓脂肪重量は、二元配置分散分析により、普通食群に比べ高脂肪食群で有意に多かった (図 8)。HF 食群において、運動群の内臓脂肪量は、対照群および PF 群に比べ有意に減少していた。

一方、図 1 より、普通食運動群と HF 運動

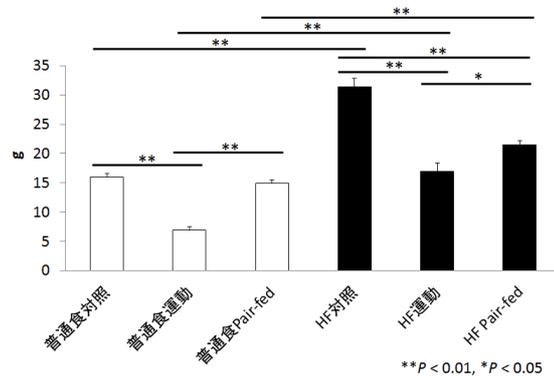


図8. 内臓脂肪重量

群では、総摂取カロリー量と運動量 (消費エネルギー量) のいずれにも差異がないものの、内臓脂肪重量は、普通食運動群に比べ HF 運動群でおよそ 2.5 倍多かった。これは、摂取カロリーに差異はなくとも、高脂肪食は普通食に比べ内臓脂肪が蓄積しやすいことを示している。また、図 3 にある視床下部 Sirt1 の発現量を対照群と運動群のみで比較した場合、HF 食群でのみ、運動群の Sirt1 発現量が有意に増加していた。このような生体の変化が観察される中で、Sirt1 発現量と内臓脂肪量との間に強い正の相関が認められたのは HF 運動群のみであった。

以上から、生体内に過剰なエネルギーが蓄積された場合には、視床下部 Sirt1 と内臓脂肪蓄積量との関連性が、自発運動により強く生じると明らかになった。視床下部 Sirt1 は、自律神経を介し、内臓脂肪の消費に参与する²⁾と考えられており、これらの機能が自発運動による Sirt1 発現量の増加で惹起されたと推察される。

(4) まとめ

本研究では、運動による摂食量の抑制が、視床下部 Sirt1 を介して生じるか否かを確認し、その機序を検討してきた。

その結果、運動における摂食量の変化は、Sirt1 - FoxO1 および Sirt1 - Stat3 の経路とは別経路で調節されることが推察された。また、運動による視床下部 Sirt1 発現量の増加は、摂食量の調節よりも、生体のエネルギー消費の調節に参与していると考えられた。また、生体が、軽度の低エネルギー状態に晒された場合、視床下部 Sirt1 が摂食量の調節に参与することも示唆された。

従って、視床下部 Sirt1 は、栄養状態の変化に対し、エネルギーの蓄積・消費を調節することで、生体の生理的な頑健性を維持するよう機能すると考えられ、その機能は自発運動により向上する可能性が新たに示唆された。

<引用文献>

1) Salminen, A. et al. Ageing Res Rev. 11(2): 230-241. 2012

2) Ramadori, G. et al. Cell Metab. 14(3):
301-312. 2011

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)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

川上心也、運動と視床下部 Sirt1 との関連性について、第 12 回新潟医療福祉学会学術集会、2012 年 10 月 20 日、新潟医療福祉大学(新潟市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

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