

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790905

研究課題名(和文)環境が及ぼす肥満維持増悪のメカニズムの解明

研究課題名(英文)The mechanism of environmental effects on obesity

研究代表者

金子 慶三 (KANEKO, Keizo)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：60546141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：近年、肥満や糖尿病患者の爆発的増加が社会的な重要課題となっている。その背景には現代における生活環境の変化、つまり、身体的活動量の低下、いつでも容易に高カロリーな食物が得られる環境や不規則な生活サイクル等が関連している。ゆえに肥満や糖尿病の研究アプローチとしては、生活環境に着目した研究は意義深いと考えられる。

マウスの住む環境へトンネルや隠れることのできるシェルターや走行輪などを加えること(環境エンリッチメント)で、代謝への影響を調べたところ、体重、脂肪重量や血糖などの代謝パラメータの改善を認めた。現在環境変化の影響が大きい脳をターゲットにして分子生物学的手法でそのメカニズムを解析中である。

研究成果の概要(英文)：Recently there has been explosive increase in metabolic disorders such as obesity and diabetes. The life style changes (e.g., sedentary behavior, overconsumption of fast food and irregular circadian rhythm) are related to this phenomenon.

Therefore as a research approach, focusing the living environment is a very important to study metabolic disorders. We added enriched environment (e.g., tunnels, shelters and a wheel) to a mouse cage) and investigated the effect on metabolism. Introduction of enriched environment decreased the body weight, fat weight and blood glucose levels. Because brain plays an important role regulating the whole metabolism and is affected by the environmental changes. We are now analyzing what is going on in the brain at the molecular level to approach the mechanism.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：代謝学

キーワード：糖尿病 肥満

## 1. 研究開始当初の背景

近年、肥満や糖尿病など生活習慣病患者の爆発的増加が社会的な重要課題となっている。その背景には現代における生活環境の変化、つまり、身体的活動量の低下、いつでも容易に高カロリーな食物が得られる環境や不規則な生活サイクル等が関連している。これら肥満や糖尿病の原因となる生活環境の改善は容易ではなく、薬物治療効果が不十分になることは多々ある。そのため更なる疾患克服には、個体を取り巻く生活環境の影響に着目した研究が重要である。よって研究手法としては細胞や臓器ごとに留まらない、個体レベルでのアプローチが必須となる。我々はこれまでの研究で、個体レベルの代謝のコントロールには脳を含む神経系が大きく関わることを見出している。肝臓から発信された神経シグナルが脳を介して、脂肪量や筋肉へのインスリン作用、膵臓のインスリン分泌に影響を及ぼし、肥満や糖尿病に関わることを報告した (Imai et al. Science : 業績 3、Uno et al. Science)。これらの研究成果は、脳が (1) 末梢臓器からの神経シグナルを受け取り (2) そのシグナル情報を適切に処理し (3) 各末梢臓器へシグナルを送り返す、という一連の経路が全身の代謝コントロールのためには欠かせないことを示している (末梢臓器 脳末梢臓器)。

そこで研究代表者らは、個体レベルの代謝コントロールを更に理解するために、末梢臓器からの神経シグナルを受け取る脳の延髄孤束核 (NTS) に着目した。そして肥満による代謝異常では、乱れた末梢シグナルは NTS の乱れを起し、脳全体へ影響を与えると考えた。実際に肥満マウスにおける NTS の遺伝子発現を数時間おきに解析したところ、さまざまな種類の遺伝子で日内リズムの乱れが認められた。それらは、細胞、臓器、個体の各レベルで日内リズムをコント

ロールする時計遺伝子や、神経活動に関わるカリウムチャネルやカテコラミン律速酵素の遺伝子などであった。また、脳の遺伝子の日内発現リズムが乱れることは、個体の生活リズムの乱れへつながり、不規則な生活リズムは、げっ歯類やヒトで肥満になりやすいとの報告もある。研究代表者らは、肥満状態では、NTS の遺伝子発現の日内リズムが乱れていることを世界で初めて発見した。よって、それら遺伝子の乱れにより、脳による生活リズムを整える機能が乱れ、肥満の維持や増悪へつながる悪循環サイクルを形成していると考えた。(Kaneko et al. Brain Res)

このように、末梢臓器の代謝変化は、脳におけるリズム変調をきたすことが証明できた。そこで、これまでの研究結果をもとに、生活リズムを整えるための脳機能を回復させることにより、肥満の維持や増悪の悪循環サイクルを断ちきれのではないかと考えた。

そこで日内リズムを整える脳機能を改善させる介入法として「環境エンリッチメント」に着目した。環境エンリッチメントとは動物の飼育環境を豊かにすることであるが、マウスにおいては広いケージの中に、走行輪やトンネル、玩具、巣を作るためのシートなどを入れて変化に富む複雑な環境を作り (研究方法の写真参照)、集団で飼育することを指す。このような環境は、認知、感覚、運動、社会的交流の刺激をマウスに与え続けることにより、神経の可塑性や新生、記憶や学習効果の向上、不安の軽減作用等があるといわれている。また疾患モデルに対しては、認知症や薬物中毒など神経精神疾患への予防効果のみならず、近年は糖尿病予防効果 (Mainardi et al. Proc Natl Acad Sci USA) や、肥満予防効果 (Cao et al. Cell Metab) に関しても相次いで報告されている。そのメカニズムとしてはまだ未解明な部分が多い

が、脳の神経栄養因子である BDNF (brain derived neurotrophic factor) の上昇によるレプチン抵抗性の改善や、自律神経を介した脂肪組織の縮小などが挙げられている。

環境エンリッチメントを加えたラットは、昼夜の生活リズムが整っており、脳の DNA 合成量の日内リズムも保たれるという観察研究がある (Gigliola et al. Behav Brain Res 1990)。また、環境エンリッチメントに関わりの深い BDNF やその受容体 TrkB のヘテロ欠損マウスでは、光による活動リズムの調節機能が衰えているという報告もある。よって、環境エンリッチメントは BDNF 等を介し、脳における生活リズムを整える能力を回復させることが十分に予想される。

## 2. 研究の目的

上記背景より、環境エンリッチメントが肥満の脳へ遺伝子レベルで好影響を及ぼし、個体の生活リズムを整えて、全身の代謝を改善させるという仮説をたて、以下の(1) - (3)の項目を調べていく。

(1) 環境エンリッチメントを加えたマウスの昼夜の生活リズムや体重・血糖値の変化みる。そのために、環境エンリッチメントの種類や期間等を変更しどの条件が今後の実験に適しているかを検討する。

(2) 環境エンリッチメントを加えた際の脳の遺伝子 (BDNF、時計、神経活動関連) の変化をみる。

(3) 遺伝子導入等の介入により脳内の BDNF 作用を増加させたときの脳の遺伝子発現、生活リズム、体重、血糖値の変化。BDNF 作用を減弱させた上での、環境エンリッチメントの効果をみる。

肥満における末梢臓器と脳の連携の乱れは生活リズムの乱れへとつながり、肥満の維持増悪サイクルを作る。本研究の特色は、乱れた脳機能を回復させ、悪循環を断ちきるために、環境エンリッチメントという個体レベルの介入を行うことである。生活環

境変化に伴う神経シグナルの変化を解明するとともに、肥満や糖尿病の改善法への道を切り開くことにつながり、意義深いと考える。

## 3. 研究の方法

環境エンリッチメントとして、下図のように、広いケージ、噛ることのできる木材(数種類)、巣を作るためのシート、穴のあいたプラスチック製のドームなどを用いる。この環境はマウスに感覚的、認知的な刺激を与えることができる。活動量は遠赤外線探知機



(スーパーメックスセンサー)を用いて詳細に測定する。餌箱は餌のこぼれがない定量性の優れたものを使用する。

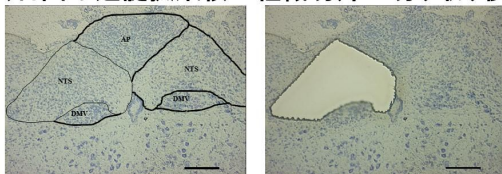
本研究ではこの確立された実験系を用いて、肥満マウスでの生活リズムや体重、血糖などのデータを解析していく。肥満モデルマウスは、研究代表者が豊富な使用経験をもつ、高脂肪食を与えて肥満したマウスやレプチン作用が欠損した *ob/ob* マウスなどを用いる。

対照となる肥満マウスには環境エンリッチメントを加えない。研究代表者らはこれまでの業績で、対照となるマウスの体重や摂食量、血糖値の詳細なデータを数多く得ている。環境エンリッチメントによる介入との比較において、信頼性の高いデータ解析ができると考えている。

脳の遺伝子発現にはレーザーマイクロダイセクション法(次ページ左上図)を用い、精密に部位特異的な解析を行うことができる。数時間おきに脳組織を採取してリアルタイム PCR 法を用い、詳細な遺伝子発現レベル

リズムを検討する手技を習得している。

レーザーマイクロダイセクション法  
(右図は延髄孤束核の組織切片の切り取り後)



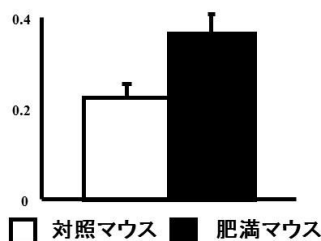
上記手法を用いれば、脳のどの部位でも詳細な遺伝子解析が可能である。環境エンリッチメントを加えることにより、生活リズムに関わる視床下部や NTS、中脳、大脳皮質などの BDNF や時計遺伝子、神経活動に関連する遺伝子などを調べることができる。

#### 4. 研究成果

今回の研究の重要な介入法である環境エンリッチメントについての条件検討を行った。条件検討としてまず、非肥満マウスを用いた。環境エンリッチメントはその内容、期間によってマウスへ与える影響が異なることが知られているが、我々の実験系では概ね 1 週間程度で食事量が安定しており、また 2 週間の介入により血糖値、脂肪重量等の代謝に関わるパラメータの改善傾向を認めた。個体の脳にとって複雑な介入法である環境エンリッチメントにおいて再現性ある実験系を確立し、今後肥満マウスへの応用にむけた準備ができた。

次に活動リズムについてであるが、肥満マウスでは、昼夜のリズムが乱れていることが知られている。研究代表者らも、マウスは夜行性にもかかわらず、肥満になると昼間の活動量が増加しているというデータを得た(左下図)。

活動量の昼間/夜間の比



今後は肥満マウスに環境エンリッチメントを加えることで、活動リズムが整うようになるかどうかを検討していく予定である。活動リズムが乱れた肥満マウスへの介入のため、環境エンリッチメントの効果が大きいことを期待している。

また、環境エンリッチメントを加えることによる脳内の遺伝子発現変化であるが、我々の用いた環境エンリッチメントで、非肥満マウスの視床下部の BDNF の上昇を認めた。NTS 等他の脳部位での変化や、肥満マウスでも同様の結果が得られるかどうか更なる検討を行っている最中である。

環境エンリッチメントにより変化する遺伝子をターゲットとした介入実験をするために、長期の発現が期待できるレンチウイルスベクターの作成も行った。レンチウイルスによる GFP タンパクの発現は確認できており、今後 BDNF 等の遺伝子発現への介入をすべく準備を進めている。

#### 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)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

金子 慶三 (KANeko, Keizo)  
東北大学・大学病院・助教  
研究者番号: 60546141