

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350810

研究課題名(和文) 運動の予防医学的効果に及ぼす摂取カロリー制限と間歇的絶食の修飾作用

研究課題名(英文) Interaction of a moderate intensity exercise training and dietary interventions

研究代表者

小山 勝弘 (KOYAMA, Katsuhiro)

山梨大学・総合研究部・教授

研究者番号：30313779

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)：12週間のカロリー制限(自由摂取条件から40%、あるいは20%減少させた給餌)と間歇的絶食(隔日絶食)は、いずれもSIRT1やPGC-1のmRNA発現レベルを同程度に増強して予防医学的効果を発揮するが、制限カロリー量の多寡や制限形態の相違は大きな影響を及ぼさないことが示された。また12週間の中強度の運動トレーニングによる健康増進効果に、これらの食事介入を加えた場合、アディポネクチンなどの体液レベル健康指標を大きく改善するが、遺伝子の転写調節レベルには運動と食事介入の顕著な相乗効果は観察されない可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the interaction of 12-week moderate intensity exercise training and dietary interventions (20% and 40% caloric restriction, and intermittent fasting) for health promoting effects. Caloric restriction or intermittent fasting itself significantly elevated mRNA expression of PGC-1 (peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1) and Sirtuin1 (SIRT1). Then a degree and a means of caloric restriction had no impact on these variations. In addition, no significant synergy effect of exercise training and dietary interventions were observed in the transcriptional key regulators such as PGC-1 and SIRT1.

研究分野：複合領域

キーワード：運動トレーニング カロリー制限 間歇的絶食 PGC-1 SIRT1 AMPK

1. 研究開始当初の背景

多くの疫学研究や実験研究によって「適度な運動」が健康増進を促すことが証明されてきた。その発現メカニズムとして、運動そのものは本来ストレスとして作用するが、例えば活性酸素種等の生成を介して、生体に抵抗性を獲得させるという機序が想定されている。いわゆる「ホルミシス」仮説である。すなわち運動不足や過剰な運動は生体に悪影響を及ぼすが、適度な運動刺激は体内諸機能のポジティブな適応を引き出し、機能亢進をもたらすという考え方である。

さらにその分子基盤が解明されつつあり、PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α) が鍵因子の候補とされている。運動によってエネルギー需要が亢進し細胞のエネルギーレベルが低下すると、AMP-activated protein kinase (以下 AMPK) が活性化して PGC-1 α を賦活すると共に、長寿関連遺伝子として有名な Sirtuin1 (以下 SIRT1) が PGC-1 α の脱アセチル化を促進して PGC-1 α タンパクの安定化と活性を調節していると示唆されている。この PGC-1 α は多くの遺伝子の転写/発現を調整し、ミトコンドリア新生/品質管理や糖・脂質代謝の改善、抗酸化酵素の発現亢進等、様々な予防医学的效果を発揮すると考えられる。また、PGC-1 α 等は摂取カロリー制限 (caloric restriction, 以下 CR) や間歇的絶食 (一日おきに摂食日と絶食日を繰り返す食事法, intermittent fasting, 以下 IF) の単独介入でも大きく変動する分子であり、CR や IF によって得られる健康増進効果は、運動のそれと共通の経路を介して惹起されるものと解されている。

CR は一般的には、餌の自由摂取 (ad libitum) 量から 20-40% 程度のカロリー摂取制限を行うものであり、寿命延長効果などの好ましい影響をもたらすと示唆されている。一方で IF は、必ずしも摂取カロリーの低下や顕著な体重減少をもたらさない点で CR と異なる。しかしながら IF の健康増進効果は CR と同等あるいはそれを上回るという報告も存在する。これらのことから、CR や IF の生理効果は、減じた摂取カロリー量に依存するものではない可能性が考えられる。この点について、総摂取カロリー量を統制したデザインを含めて、CR と IF の比較検証を行った報告は皆無である。また同時に、運動の予防医学的作用に対する CR や IF の相互関係を検討した先行研究もなく、検討すべき重要な課題と考えられる。

2. 研究の目的

CR や IF は、運動同様に予防医学的效果を誘導し、その効果発現機序の中心には転写補助因子 PGC-1 が共通分子として存在すると考えられる。生活者としてのヒトは、身体活動と食事、休養を繰り返す営みを行う動物であると捉えれば、運動と食(食べ方)の影響は併せて包括的に検証されるべきテーマとなる。

まず運動との相互作用を検討すべき食事方法を決定するため、AMPK、SIRT1 や PGC-1 α 等の mRNA の発現レベル、血中総アディポネクチン濃度に及ぼす CR や IF の作用について、CR の程度を IF 条件の摂取カロリー量と一致させて比較検討することを目的とした。具体的には IF 条件下で摂取する総カロリー量と同一のカロリー量を毎日摂取する CRIF 条件を設定し、カロリー制限量の多寡と制限方法の相違のいずれが各種測定指標に顕著に影響を及ぼすのかを検討した。

次にこれらの結果を元にして、運動の予防医学的效果に対する食事介入 (CR と IF) の修飾作用を、PGC-1 等のシグナル分子や各種生化学的指標の挙動を中心に検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) カロリー制限量とカロリー制限方法の相違が予防医学的応答に及ぼす影響

被験動物として 15 週齢 Wistar 系雄ラット (n=24) を用いた。環境順化を図るため、12 時間明暗サイクル (明期 09:00-21:00, 暗期 21:00-09:00) で 1 週間の予備飼育 (飼料と水は自由摂取) を行った。予備飼育終了後、被験動物の体重を考慮した上で、摂餌量を一切制限しないコントロール (Con, n=6) 群、コントロール群の摂取量に対する 40% カロリー制限 (CR40, n=6) 群、間歇的絶食 (IF, n=6) 群、および IF 群が摂餌日に示す摂餌量の 50% に制限した給餌を毎日行う (CRIF, n=6) 群の計 4 群に分類し、12 週間の観察を行った。

実験期間中は、体重、および摂餌量を毎日測定した。測定指標への一過性の摂餌の影響を排除するため、48 時間の絶食後に腹腔動脈からの採血により脱血死させ、速やかに対象試料である肝臓と血液を採取した。血液サンプルは血糖値、および血清総アディポネクチン濃度の測定に供し、肝臓サンプルについては SIRT1、および PGC-1 α の mRNA 発現レベルの Real-time RT-PCR 法を用いた測定に充てた。

(2) 運動の効果に対する CR、および IF の修飾作用

先行した研究結果を受け、12 週間の運動トレーニングの効果に対し、CR や IF が何らかの修飾作用を示すか否かを検討した。16 週齢 Wistar 系雄ラット (n=20) を用いた。環境順化を図るため、12 時間明暗サイクルで 3 日間の予備飼育 (飼料と水は自由摂取) を行った。またこの間の暗期に、小動物用トレッドミルを用いて運動学習 (5° slope, 15 m/min, 10 min/day, 3 days) を全ての被験動物に行わせた。予備飼育終了後、被験動物の体重を考慮した上で、運動 (Ex, n=6, 自由摂餌) 群、運動 + カロリー制限 (ExCR, n=7) 群、および運動 + 間歇的絶食 (ExIF, n=7) 群の計 3 群に分類し、12 週間の介入を行った。運動は小動物用トレッドミルを用いて、中強度運動

プログラム (5° slope, 15 m/min, 30 min/day, 5 days/week, 約 65%VO₂max 相当) を暗期に行わせた。ExCR 群には、先行した研究で Con 群が示した平均摂餌量から 20% 減量させた給餌を行った。ExIF は隔日絶食とした。なお、水について全て自由摂取とした。

実験期間中は、体重、および摂餌量を毎日測定した。また各種測定指標への運動、および摂餌の急性効果が混入するのを避けるため、試料 (血液と肝臓) 採取は最終運動終了後 48 時間の絶食時間を設けた後に実施した。肝臓サンプルを対象に SIRT1, PGC-1, AMPK 1, AMPK 2, および酸化ストレス応答関連因子 Nrf2 (NF-E2-related factor 2) の mRNA 発現レベルを Real-time RT-PCR 法を用いて測定した。また血清総 adiponectin 濃度、血清酸化度 (diacron-reactive oxygen metabolites, d-ROMs), 血清抗酸化度 (biological antioxidant potential, BAP) を測定した。

4. 研究成果

(1) カロリー制限量とカロリー制限方法の相違が予防医学的応答に及ぼす影響

隔日絶食を施した IF 群の総摂取カロリー量は、Con 群のそれに対して 20% 程度のカロリー制限となっていることが確認された。すなわち平均的には、摂食日に Con 群の摂取カロリーの 1.8 倍量を摂取していたものと考えられる。肝臓の SIRT1 と PGC-1 の mRNA 発現レベルは、CR40, IF, および CRIF のい

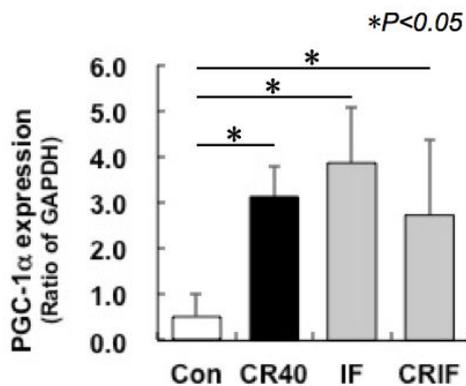


図1 肝臓PGC-1α mRNA発現レベル

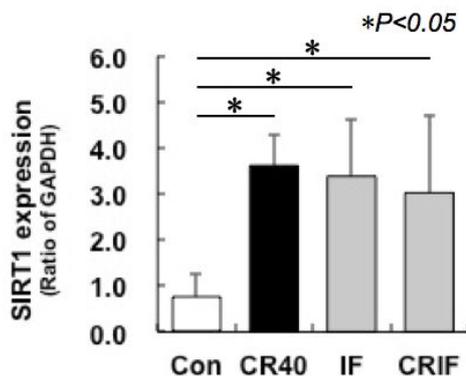


図2 肝臓SIRT1 mRNA発現レベル

ずれの群においても Con 群と比して顕著に増

大し、制限カロリーの多寡 (40% vs. 20%) や制限形態の相違 (毎日制限食 vs. 隔日絶食) は大きな影響を及ぼさないことが観察された (図 1, 図 2)。つまりカロリー制限、および間歇的絶食という異なる摂餌方法ではあるが、両者共通して摂取エネルギーの不足が誘因となって SIRT1 や PGC-1α の mRNA 発現を刺激している可能性が示唆された。

(2) 運動の効果に対する CR, および IF の修飾作用

肝臓の SIRT1, PGC-1, AMPK 1, AMPK 2, および酸化ストレスに対するホルミシス効果を仲介する分子と考えられる Nrf2 の mRNA 発現レベルに関して、運動トレーニングに食事介入を加えた場合の顕著な影響は観察されなかった (図 3-図 7)。

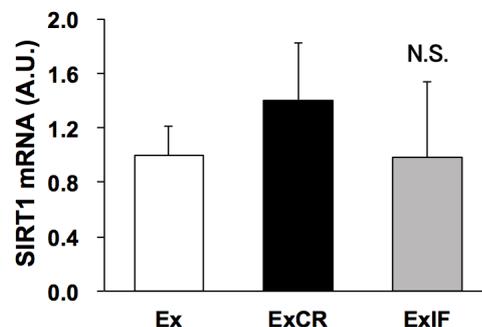


図3 SIRT1に対する運動と食事介入の影響

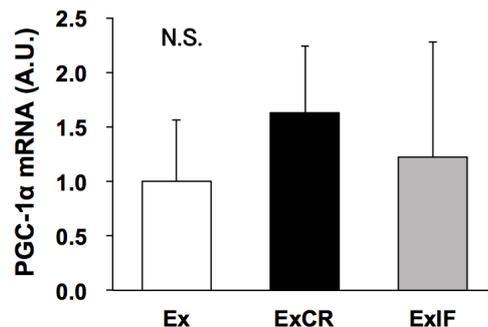


図4 PGC-1αに対する運動と食事介入の影響

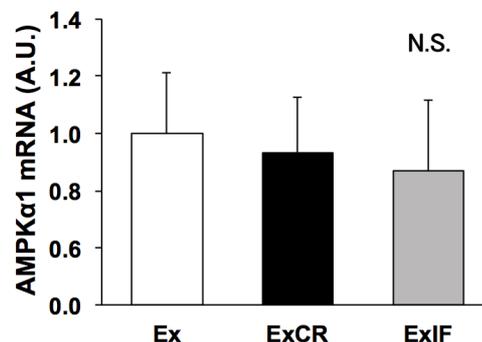


図5 AMPKα1に対する運動と食事介入の影響

一方、長寿関連遺伝子や転写活性化補助因子の発現調節に関わる総アディポネクチンの血中濃度は運動トレーニングで高まることが知られているが、食事介入はその作用を

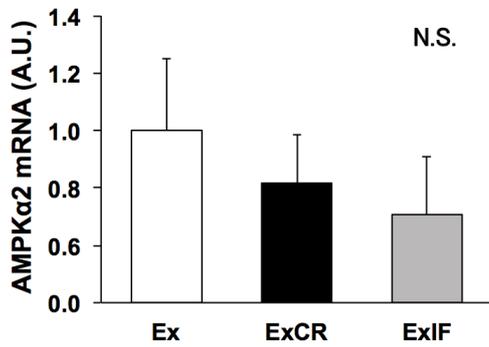


図6 AMPK α 2に対する運動と食事介入の影響

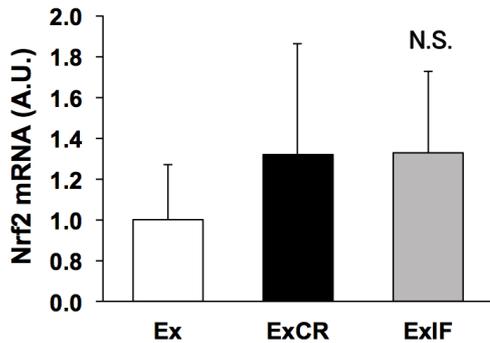


図7 Nrf2に対する運動と食事介入の影響

さらに有意に増大させた(図8)。特にIFによる相乗作用が顕著であり、CRの効果と比較して有意に大きなものであった。血中のアディポネクチンレベルに対して、IFが運動効果を助長する機序は本研究で明らかにすることができない。しかし少なくとも食事介入(CRとIF)は運動トレーニングによる健康増進効果を説明する各種マーカーの挙動に影響を及ぼすと考えられ、それらの修飾作用は遺伝子の転写調節レベルと体液レベルとで異なる可能性が示唆された。今後はPGC-1 α 等の鍵因子のタンパクレベルや機能に関して詳細な検証が求められる。

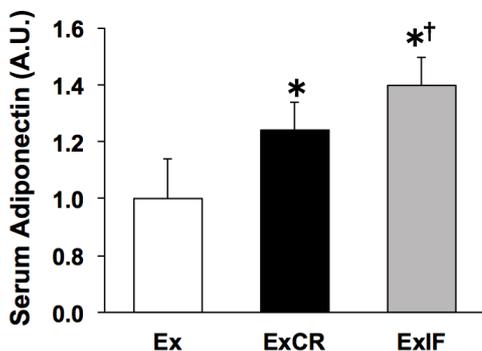


図8 血中総Adiponectin濃度に対する運動と食事介入の影響

*P < 0.05 vs. Ex, †P < 0.05 vs. ExCR

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)

[学会発表](計2件)

Sugiyama S., Miyata M., Dobashi S., Sagara Y., Ando D., Koyama K. 「Effects of low intensity exercise training and caloric restriction on the expression of aging-related genes」, American College of Sports Medicine, 2014年5月29日, Orange Convention Center, Orlando, Florida USA

杉山将太, 相良裕子, 土橋祥平, 木内政孝, 安藤大輔, 山北満哉, 小山勝弘, 「カロリー制限と間歇的絶食が老化関連遺伝子, および転写活性化因子の発現レベルに及ぼす影響」, 第69回日本体力医学会大会, 2014年9月20日, 長崎大学(長崎県長崎市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

小山 勝弘 (KOYAMA, Katsuhiko)

山梨大学・総合研究部・教授

研究者番号: 30313779

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし