

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870478

研究課題名(和文) 青色LED光刺激による脳内非視覚的作用を介した脂質代謝への影響

研究課題名(英文) Influence on lipid metabolism through non-image forming effect by blue LED light stimulation

研究代表者

中川 忠彦 (NAKAGAWA, Tadahiko)

徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・学術研究員

研究者番号：40634275

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)：眼から入る光刺激は内因性光感受性網膜神経細胞を介し脳内ホルモンやコルチコステロイドの分泌を促進する。このため日常生活における照明光は脂質代謝に影響を及ぼし、脂質代謝異常症の発症や増悪に関与する可能性が考えられる。本研究では、普及の進む新たな照明源であるLED光によって生じる脳内ホルモンならびに脂質分解・合成酵素の変化についてマウスを用いて評価した結果、脂質代謝に影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Light stimulation from the eye promotes the secretion of brain hormones and corticosteroids through the endogenous light-sensitive retinal nerve cells. Thus the illumination light in daily life affects the lipid metabolism. It is considered likely to be involved in the onset or exacerbation of dyslipidemia. In this study, the results of evaluation using a mouse for changes in the brain hormone and lipid metabolism enzyme produced by the LED light is a new illumination sources increasingly widespread, was suggested effect on the lipid metabolism.

研究分野：分子生物学

キーワード：非視覚的作用 LED光 脂質代謝

1. 研究開始当初の背景

脂質異常症は、我が国の患者数が約 2,000 万人に達し、動脈硬化を進行させて虚血性心疾患や脳卒中の原因となるため、新しい予防法・治療法の確立は急務である。申請者はこれまで、肝臓や脂肪組織における中性脂肪の合成には脂質合成律速酵素 Glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) の発現および酵素活性が重要であること (Biochim Biophys Acta. 2009)、脂質転写制御因子 Sterol regulatory element-binding protein (SREBP) が脂質合成酵素の遺伝子発現を調節すること (FEBS Lett. 2010、Biochem Biophys Res Commun. 2008) を見出した。また、脂質異常症の病態に GPAT と SREBP が大きく関与し、食生活や運動量に加えストレスや大気汚染などの生活環境によって影響を受け、脂質異常症の改善や増悪が生じることが明らかとなっている。

眼から入る光刺激は、網膜の視覚に関与しない内因性光感受性網膜神経細胞を介した非視覚的作用 (Non-Image Forming Effect) により、メラトニンや副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) などの脳内ホルモンを分泌し、生体時計を維持する。日常生活における自然光や蛍光灯といった光環境は、このメラトニン分泌により概日リズムを調節し (Physiol Rev. 2010)、腹外側視索前野を介して睡眠を調節する (Proc Natl Acad Sci U S A. 2008)。日本では節電の取り組みによって、照明用 LED の普及率が倍増傾向にある。LED は、蛍光灯などの従来の光源とは異なり、特定波長の狭小帯域の光を照射できる。この LED の特性を活かした研究が活発に行われ、青色 LED 灯設置による列車飛び込み自殺の減少 (J Affect Disord 2012) など、特定の波長の光が情動作用に影響を及ぼすことが明らかとなってきた。しかし、特定波長の光が人体の脂質代謝に及ぼす影響については検討されていない。

申請者が行った予備実験で、各種波長の可視光を正常マウスに照射したところ、青色 LED 光のみが脳内の室傍核 (ホルモン分泌・ストレス反応の中核) および視交叉上核の神経細胞に、神経細胞活性化のマーカー蛋白である c-fos を誘導することを免疫組織化学的に確認した。このことより、青色光は、他の光より強い作用を生体に及ぼす可能性が考えられる。

さらに、他の予備実験で、LED 光照明の非視覚的作用によってマウスの副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の分泌が波長特異性に促進され、血中濃度が上昇することを見出した。以上のことより、青色 LED 光は、室傍核を介して下垂体の ACTH 分泌を促進することによって、生体に影響を及ぼす可能性が考えられる。

ACTH の刺激は、副腎でのコルチゾールの産生や分泌を促進する。急性期ストレスによっ

て分泌されるコルチゾールは、ホルモン感受性リパーゼを活性化し、脂肪組織での脂質分解を促進する。また、ミトコンドリアにおける糖質、脂質、アミノ酸の利用を亢進する。これに対し、コルチゾールの慢性的な過剰分泌は、脂肪酸関連酵素を活性化することによって、脂質蓄積を亢進する。

以上より、眼から入る青色 LED 光刺激は、コルチゾールの分泌を介して脂質代謝に影響を及ぼす可能性が考えられる。しかし、青色 LED 光照明による脂質代謝への影響に関する研究は行われていない。そこで本申請では、青色 LED 光照射による脳内活性部位をさらに詳しく調べ、脳内ホルモン分泌に及ぼす効果を調べるとともに、肝臓や脂肪組織での脂質分解酵素 (HSL)、合成酵素 (GPAT) および脂質転写制御因子 (SREBP) に対する影響を明らかにする。さらに青色 LED 光照明をうまく制御することにより、脂質代謝を調節し、脂質代謝異常を改善させる可能性が期待される。

2. 研究の目的

本研究では、どのような条件の青色 LED 光が脳内ホルモンを介し脂質代謝に影響を及ぼすかを調べ、青色 LED 光を用いた脂質異常症の予防・治療の可能性を検討する。具体的に以下の検討を行う。

(1) 正常マウスを用いて、脂質分解を促進する作用を有する青色 LED 光照明の照射条件を抽出する。脳内活性部位を MRI と c-fos の免疫染色によって観察し、下垂体の ACTH の発現、血中ホルモン濃度 (ACTH、コルチゾール)、血中脂質、血糖値、腸間膜脂肪組織と肝臓の重量および脂質分解・合成酵素の遺伝子発現、蛋白質発現、GPAT の酵素活性の変化を調べる。

(2) 正常マウスにおいて、脂肪が蓄積する青色 LED 光照明の照射条件を明らかにする。

(3) 上記 (1)(2) の結果を基に、青色 LED 光照明による脂質異常症の治療の可能性を検討する。正常マウスで抽出した LED 光照射条件を用い、脂質異常症モデルマウス (db/db マウス) に対して、青色 LED 光照射を行い、動物用 CT を用いて内臓脂肪量の推移を観察する。また、分子イメージング技術を用い、生きた状態での肝臓および脂肪組織において肥満脂肪組織で見られる肥大した脂肪細胞と小型脂肪細胞分化、血管新生の有無を調べる。さらに、コールターカウンターを用いて脂肪細胞の数とサイズを測定し、組織レベルの影響を確認する。

本研究では、脂質関連因子の遺伝子発現や蛋白質発現だけではなく、脂質合成律速酵素 GPAT の酵素活性を測定することで、脂質代謝への影響を確認する。小動物用 CT スキャンにより非侵襲的に内臓脂肪の減少あるいは蓄積を経時的に観察することができる。脂肪細胞や血管内皮を生体分子イメージングで観察することで青色 LED 光照明による細

胞レベルでの脂質異常症の改善・増悪を明らかにする。コールターカウンターによる組織の脂肪細胞の数とサイズを測定することで組織レベルでの脂質代謝への影響をみる。このように青色 LED 光による脳内の活性から生体に及ぼす影響を経過観察しながら、代謝調節機構だけでなく、細胞レベルと組織レベルで網羅的に解析することが本研究の非常に特色ある点であると言える。また、現在、徳島大学で行っている「LED によるライフ・イノベーション特色研究」の実験装置、実験環境、ノウハウを活かすことができる。青色 LED 光照明の脂質代謝への影響を解明し、脂質代謝に有害または有用な照明光を抽出できれば、適切な青色 LED 光照明を行うことによって、脂質異常症の増悪や発症を抑制し、治療薬を減量・中止できる可能性が考えられる。

3. 研究の方法

正常マウスに各種条件の青色 LED 光照明を短期間（12 時間×1~3 日間）照射した際の脳内活性化部位、脳下垂体の ACTH の発現、血中ホルモン濃度（ACTH、コルチゾール）、腸間膜脂肪組織と肝臓の脂質分解・合成酵素の遺伝子発現、酵素活性、蛋白質発現の変化を調べ、脂質代謝に影響を及ぼす LED 光照射条件を抽出する。

（1）正常マウスへの青色 LED 照明光の短期間照射実験

急性ストレスで分泌されるコルチゾールは脂質の分解を促すことが報告されている。LED 光照明によってコルチゾールの分泌が促進され、脂質分解が生じるか検討するために、波長（445, 465, 475 nm）、照度（1, 15, 50 W/cm²）照射期間（1, 2, 3 日間）の組み合わせによる各種条件の青色 LED 光を正常マウスに短期間照射し、ACTH・コルチゾール系および脂質分解・合成酵素の変化を調べることによって、脂質代謝に影響を及ぼす LED 光照明条件を抽出する。

マウスには、申請者らの施設で使用している小動物用テレメトリー生体情報モニターを装着し、非侵襲的に血圧、脈拍、体温を照射 1 日前から 5 分毎に観察する。明期 12 時間、暗期 12 時間の明暗サイクルに馴化させた後、LED 照射パネルを用いて明期の 12 時間青色 LED 光を照射する（図 1）。

1, 2, 3 回目の照射終了直後に以下の項目を評価する。

脳内活性化部位：小動物用 MRI を用いて脳内全体の活性化部位を確認する。さらに、中枢神経の神経活動の評価指標である Fos 蛋白の視床（視覚などの感覚の中継核）、室傍核（ホルモン分泌、ストレス反応の中枢）の発現の状況を免疫染色で確認する。

脳下垂体の ACTH 発現：免疫染色により ACTH の局所発現の状況を調べる。

血中 ACTH、コルチゾール濃度：ACTH、コルチゾールの血中濃度を ELISA で測定する。

脂質代謝関連蛋白質の遺伝子発現、酵素活性、蛋白質発現への影響：脂質合成酵素 GPAT と脂質代謝転写制御因子 SREBP、脂質分解酵素 HSL の遺伝子発現量を定量的リアルタイム RT-PCR 法により解析する。

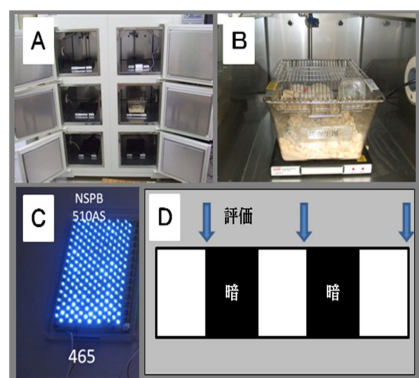


図 1. LED 光照射飼育システム

A: 動物飼育制御装置、B: 小動物用生体情報モニタリングシステム、C: 学内の医工連携により作成した小動物用 LED 照射パネル、D: LED 照射時間と評価時期

4. 研究成果

対照群と青色 LED 光照明群における体重および副腎重量を比較したところ、両群における有意な差は見られなかった（図 2、図 3）。

青色 LED 光照明の非視覚的作用によってマウスの副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）の血中濃度が上昇した（図 4）。

また、定量的リアルタイム RT-PCR 法により解析した結果、対照群と比べて、青色 LED 光照明群では脂質合成酵素 GPAT と脂質代謝転写制御因子 SREBP、脂質分解酵素 HSL の遺伝子発現量が高い傾向が確認された。

以上より、普及の進む新たな照明源である LED 光によって生じる脳内ホルモンならびに脂質分解・合成酵素の変化についてマウスを用いて評価した結果、脂質代謝に影響を及ぼす可能性が示唆された。

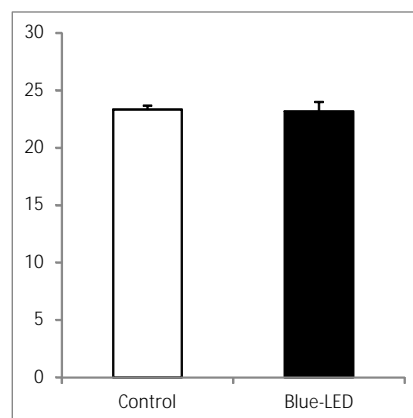


図 2 . 対照群と青色 LED 光照明群における体重 (g) の比較

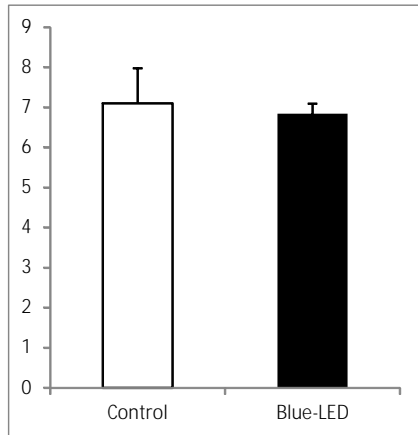


図3．対照群と青色LED光照明群における副腎重量（mg）の比較

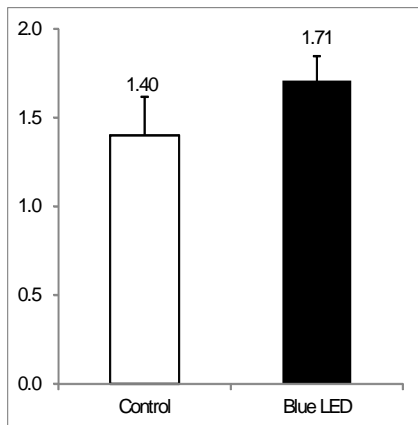


図4．対照群と青色LED光照明群における血中ACTH濃度（ng/ml）の比較

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0件)

6．研究組織

(1)研究代表者

中川 忠彦 (NAKAGAWA, Tadahiko)
 徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・学術研究員
 研究者番号：40634275