慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	若齢期の食・運動習慣が肝臓・褐色脂肪の脂質代謝・熱産生関連遺伝子に及ぼす長期効果
Sub Title	Long term effects of diet and exercise in childhood on lipid metabolism and heat production related gene expression in liver and brown adipose tissue
Author	木村, 真規(Kimura, Masaki)
Publisher	
Publication year	2022
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では，若齢期の食·運動習慣が成熟期の肝臓·褐色脂肪組織の脂質代謝·熱産生関連遺伝子の発現変化に及ぼす長期的効果についてマウスを用いた基礎的検討を行った． 網羅的遺伝子発現解析の結果，若齢期の肥満·運動経験によって肝臓および褐色脂肪で長期的に変化する遺伝子は約1,700～3,300個ほど確認され，脂質代謝·熱産生に関係する遺伝子の他，老化関連遺伝子などが含まれていた．そこで白色脂肪組織中に発現する老化関連遺伝子について調べたところ，統計的に有意な長期的効果が確認された． また老齢マウスを遊具などが設置された社会的に豊かな環境で飼育したが，寿命などに対する影響を確認することはできなかった． The purpose of this study was to investigate the long-term effects of diet and exercise in childhood on lipid metabolism and heat production related gene expression in liver and brown adipose tissue of adult mice. In our results of microarray gene expression analysis, we found about 1,700～3,300 candidate genes that might show legacy effect after diet and exercise intervention in childhood. These genes contained lipid metabolism, heat production, and senescence related genes. Therefore, we checked the expression of senescence related gens in white adipose tissue, and then we found the statistically significant long-term effect of exercise in these genes. In another experiment, the old mice did not show any significant changes in life span using environmental enrichment. These data suggested that the further investigation is needed to create a more effective environment on the longevity of life span.
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2019～2021 課題番号：19K11773 研究分野：生理学, 運動生理学, 病態生理学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19K11773seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　 ６ 月　 ６ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2019～2021
課題番号：１９Ｋ１１７７３

研究課題名（和文）若齢期の食・運動習慣が肝臓・褐色脂肪の脂質代謝・熱産生関連遺伝子に及ぼす長期効果

研究課題名（英文）Long term effects of diet and exercise in childhood on lipid metabolism and heat production related gene expression in liver and brown adipose tissue

研究代表者

木村　真規（KIMURA, Masaki）

慶應義塾大学・薬学部（芝共立）・講師

研究者番号：４０３８３６６６

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）：　本研究では，若齢期の食･運動習慣が成熟期の肝臓･褐色脂肪組織の脂質代謝･熱産生関連遺伝子の発現変化に及ぼす長期的効果についてマウスを用いた基礎的検討を行った．
網羅的遺伝子発現解析の結果，若齢期の肥満･運動経験によって肝臓および褐色脂肪で長期的に変化する遺伝子は約1,700～3,300個ほど確認され，脂質代謝･熱産生に関係する遺伝子の他，老化関連遺伝子などが含まれていた．そこで白色脂肪組織中に発現する老化関連遺伝子について調べたところ，統計的に有意な長期的効果が確認された．
また老齢マウスを遊具などが設置された社会的に豊かな環境で飼育したが，寿命などに対する影響を確認することはできなかった．

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究はマウスを用いた基礎的研究ではあるが，得られた結果を検証することによって，ヒトへの応用展開に対してある程度の知見を提供することが可能となると考えている．本研究の結果を広義に解釈することによって，子供の頃(若齢期)の食習慣および運動習慣が成人後(成熟期)の肝臓や褐色脂肪組織の機能に対して長期的に影響を及ぼす可能性が示され，白色脂肪組織では老化にも関与する可能性が示唆された．
また行動範囲が広く，活動内容に多様性があり，他者と接する機会の多い社会的に豊かな環境での生活は寿命を延長させる可能性が示唆されているが，より効果的な環境を模索・整備する為には今後も更なる検討が必要と思われた．

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate the long-term effects of diet and exercise in childhood on lipid metabolism and heat production related gene expression in liver and brown adipose tissue of adult mice.
In our results of microarray gene expression analysis, we found about 1,700～3,300 candidate genes that might show legacy effect after diet and exercise intervention in childhood. These genes contained lipid metabolism, heat production, and senescence related genes. Therefore, we checked the expression of senescence related gens in white adipose tissue, and then we found the statistically significant long-term effect of exercise in these genes.
In another experiment, the old mice did not show any significant changes in life span using environmental enrichment. These data suggested that the further investigation is needed to create a more effective environment on the longevity of life span.

研究分野：生理学，運動生理学，病態生理学

キーワード：長期的効果　運動習慣　食習慣　高脂肪食　肝臓　褐色脂肪　豊かな環境　レガシー効果

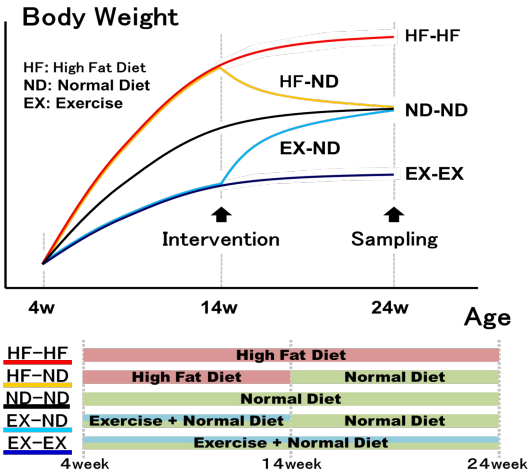
※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　C－１９、F－１９－１、Z－１９、CK－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

(1)　これまで我々は，厳格な食事療法，運動療法，薬物療法の実施によって，実験的環境下では肥満症やメタボリックシンドロームは改善可能であることを報告してきた(Kimura ら 2006, Shinozaki ら 2008)．しかし，現実には肥満を経験した後に長期に亘って適正体重を達成･維持できる者は少なく，多くの者が治療抵抗性を示している(Pirozzo ら 2003)．また我々の先行研究では，高脂肪食摂取による若齢期の肥満は，その後の食生活の改善によっても完全には是正されず，体脂肪量，血糖，血清脂質がいずれも高値となることを経験した．この現象は，あたかも肥満状態が新しいエネルギーバランスのセットポイントとして記憶されているかのようであり，過去の肥満経験が何らかの因子を活性/抑制することによって，食生活改善後においても脂肪の蓄積を積極的に維持し，糖･脂質代謝異常を誘起している可能性が示唆された(肥満経験による負の長期的(レガシー)効果)．

(2)　また我々は，過食性肥満モデルラットに対する若齢期の運動習慣が，その後の成熟期･老齢期においても低めの体重を維持する現象を報告した(鈴木ら 2007)．この場合においては摂餌量や活動量に変化は認められないにも拘わらず，体脂肪量や糖･脂質代謝は良好な状態を維持していたことから，過去の運動経験によっても何らかの因子が変化することによって，成熟期･老齢期において脂肪の蓄積を抑制し，糖･脂質代謝を良好に維持する可能性が示唆された(運動経験による正のレガシー効果)．



(3)　更に我々の先行研究では，これらのレガシー効果の観察された白色脂肪組織中に発現する遺伝子の網羅的解析を行ったところ，PGC-1αやUCP-1，β3 アドレナリン受容体などの熱産生系遺伝子が運動によって長期間変化する現象が観察された．これらの遺伝子は通常，骨格筋や褐色脂肪組織などの熱産生組織で強く発現が誘導される遺伝子であることから，運動経験によるレガシー効果はこれらの組織でもより強く観察される可能性が示唆された(Suzuki ら 2011)．

２．研究の目的

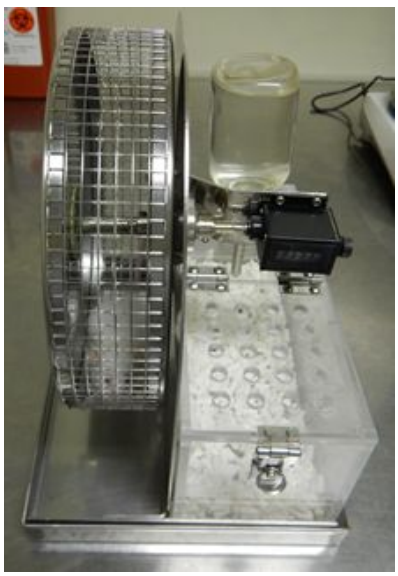
(1)　そこで本研究では，若齢期の食･運動習慣がその後の成熟期･老齢期に及ぼすレガシー効果とその機序について，肝臓および褐色脂肪組織中に発現する脂質代謝・熱産生関連遺伝子の変化から明らかにすることを試みた．

(2)　実施内容としては，肝臓および褐色脂肪組織中の肥満・運動記憶因子を探索する為に，①若齢期の肥満･運動経験によって長期間変化する遺伝子の網羅的発現解析，②老齢期の健康･長寿を導く若齢期の生活環境(豊かな環境)の探索，の 2 点について検討を行った．

３．研究の方法

(1)対象および飼育方法

　まず検討①として，3 週齢の雄性 ICR マウス(40 匹)を対象に，普通食(CE-2，日本クレア)にて集合ケージ(15×12×21cm/4 匹)を用いた 1 週間の予備飼育を行った．4 週齢時に個別ケージ(8×8×21cm)に移動させ，平均体重が一致するように以下の 5 つに群分けをした．1) 普通食(ND-ND)群：4 週齢より普通食を与えて 24 週齢時にサンプリングを行った．2) 高脂肪食(HF-HF)群：4 週齢より高脂肪食(Quick Fat，日本クレア)を与えて 24 週齢時にサンプリングを行った．3) 高脂肪食→普通食(HF-ND)群:4 週齢より高脂肪食を与えて 14 週齢まで飼育した．14 週齢時に高脂肪食を普通食へ変更し，24 週齢まで飼育してサンプリングを行った．4) 運動(EX-EX)群：4 週齢より回転ホイール(周囲長 67cm，幅 5cm)付の個別ケージ(8×8×21cm)を用いて 24 週齢まで自発運動が可能な環境で飼育した．餌は普通食とした．5) 運動→普通食(EX-ND)群：4 週齢より回転ホイール付個別ケージを用いて 14 週齢まで飼育した．14 週齢時に回転ホイールにアクセスできないように敷居扉を閉鎖して運動を中止し，24 週齢まで飼育してサンプリングを行った．餌は普通食とした．

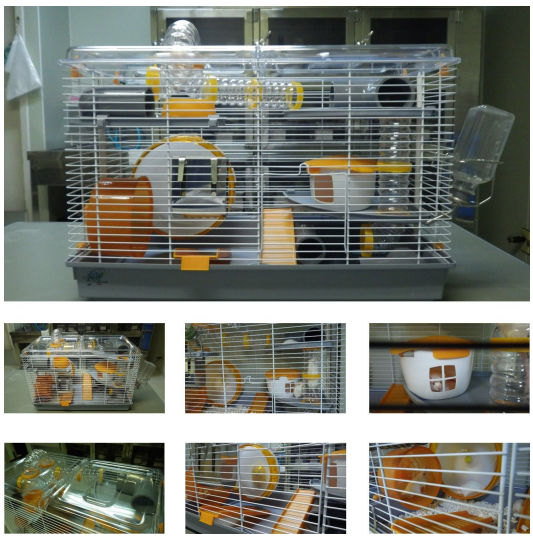


　次に検討②として，普通食(CE-2，日本クレア)にて集合ケージ(15×12×21cm/4 匹)で長期間飼育した 88 週齢の雄性 C57BL/6 マウス(12 匹)を対象に，環境エンリッチメント

(EE)条件(約 56×30×38㎝ の大型ケージ内に回転ホイールやトンネル，梯子，隠れ家などの遊具を設置)での飼育と，普通ケージ(CO：約 30×20×12㎝)での飼育で比較を行った．

(2)サンプリングおよび解析方法

各種のモデル動物作成後，イソフルラン吸入麻酔下(～5%)にて腹部下大静脈からの全血採血を行った．得られた血液は遠心分離後，上清を-80℃で保存して，後日，糖・脂質代謝マーカーの測定を行った．また下肢骨格筋(前脛骨筋，長趾伸筋，腓腹筋，ヒラメ筋，足底筋)および各種脂肪組織(褐色脂肪，副睾丸周囲脂肪，後腹膜脂肪）を摘出して秤量し，ドライアイスにて急速凍結し，-80℃で保存した．得られた組織から RNeasy Lipid Tissue Kit (QIAGEN 社)を用いて Total RNA を抽出し，cDNA 化して Agilent Technologies 社の SurePrint G3 Mouse GE 8x60K Microarray を用いて網羅的遺伝子発現データを解析して候補遺伝子の選出を行った．DNA マイクロアレイ解析を行った検体は HF-HF 群，ND-ND 群，EX-EX 群においては体重が群内平均に最も近い個体を，HF-ND 群および EX-ND 群においては ND-ND 群から選抜された個体の体重に最も近い個体を対象とした(全部で n=5 を選抜)．その後，DNA マイクロアレイ解析によって選出された肥満・運動記憶因子の候補遺伝子を Realtime-PCR 法にて定量評価した．

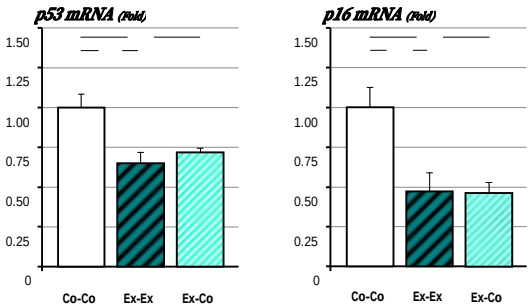


４．研究成果

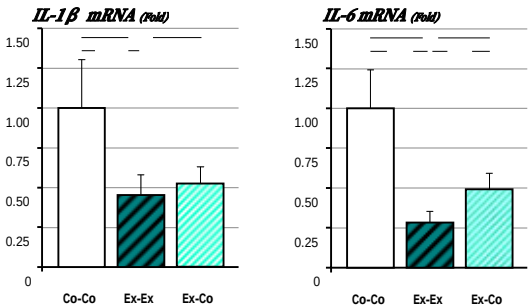
(1)　肝臓および褐色脂肪組織を対象とした約 55,000 個の遺伝子の網羅的発現解析では，若齢期の高脂肪食摂取によって肝臓で 2 倍以上に増加した遺伝子は 4,648 個，1/2 以下に減少した遺伝子は 3,466 個であり，その内，増加した遺伝子の 1,640 個，減少した遺伝子の 954 個は高脂肪食摂取を中止してもその発現変化が維持されていた．同様に若齢期の運動によって肝臓で 2 倍以上に増加した遺伝子は 3,668 個，1/2 以下に減少した遺伝子は 1,980 個であり，その内，増加した遺伝子の 1,226 個，減少した遺伝子の 510 個は運動を中止してもその発現変化が維持されていた．

一方，若齢期の高脂肪食摂取によって褐色脂肪組織で 2 倍以上に増加した遺伝子は 2,703 個，1/2 以下に減少した遺伝子は 3,419 個であり，その内，増加した遺伝子の 716 個，減少した遺伝子の 2,052 個は高脂肪食摂取を中止してもその発現変化が維持されていた．同様に若齢期の運動によって褐色脂肪組織で 2 倍以上に増加した遺伝子は 2,416 個，1/2 以下に減少した遺伝子は 12,193 個であり，その内，増加した遺伝子の 885 個，減少した遺伝子の 2,414 個は運動を中止してもその発現変化が維持されていた．

高脂肪食摂取および運動を中止した後も発現変化が維持された遺伝子には，交感神経刺激によってエネルギー消費の増加に関与する Adrb3，食欲・脂質代謝に関与する npy, apol10b，炎症・マクロファージ機能に関係する ccl4，TNF，，Il1b, Il6，老化関連遺伝子である p21 (cdkn1a)，p16 (cdkn2a)，癌幹細胞マーカーの cd44，エピジェネティクスに関与する dnmt3b などが含まれており，これらの遺伝子は肥満・運動経験のレガシー効果に関与する有力な候補分子としての可能性が示された．



(2)　また若齢 ICR マウスを用いて，遊具などが設置された社会的に豊かな EE 環境で飼育を行ったところ，当初の予想と反して，EE 環境での飼育では「喧嘩」や「いじめ」のような異常行動が観察され，これらが原因と思われる個体の死亡(8 匹中 2 匹)もみられた．そこで老齢の C57BL/6 マウスを用いて飼育を行ったところ，これらの異常行動は観察されなかったが，寿命延長効果に差は認められなかった．今後，EE 環境での飼育開始時期や飼育期間などについて更に詳細な検討を行う必要性が感じられた．



(3) 更にこれまでの研究成果では，肝臓，白色・褐色脂肪組織の網羅的遺伝子発現解析において，若齢期の運動によって老化関連遺伝子にレガシー効果が生じる可能性が示唆されたことから，まず白色脂肪組織において Realtime-PCR 法による定量評価を行った．その結果，老化関連遺伝子の p53 および p16，老化関連炎症マーカー(SASP)の IL-1β および IL-6 においてレガシー効果が観察された(Kimura ら 2020)．今後はこれらの長期的効果の機序解明を目指して，網羅的遺伝子発現解析においてレガシー効果が示唆されたエピジェネティクス的機序の関与について検討する必要性が感じられた．

＜引用文献＞

① Masaki Kimura, Tomokazu Shinozaki, Naoto Tateishi, Emi Yoda, Hideki Yamauchi, Masato Suzuki, Makoto Hosoyamada, Toshiaki Shibasaki (2006) Adiponectin is regulated differently by chronic exercise than by weight-matched food restriction in hyperphagic and obese OLETF rats. Life Sciences, 79: 2105-2111.

② Tomokazu Shinozaki, Masaki Kimura, Makoto Hosoyamada, Toshiaki Shibasaki. (2008) Fluvoxamine inhibits weight gain and food intake in food restricted hyperphagic Wistar rats. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 31(2): 2250-2254.

③ Pirozzo S, Summerbell C, Cameron C, Glasziou P. (2003) Should we recommend low-fat diets for obesity?. Obesity Review, 4(2):83-90.

④ Masato Suzuki, Daisuke Shindo, Masaki Kimura, Hidefumi Waki. (2011) Effects of exercise, diet, and their combination on metabolic- syndrome- related parameters in OLETF rats. International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism, 21(3):222-232.

⑤ Masaki Kimura, Seiya Suzuki, Atsushi Moriya, Kazuki Nogami, Ryoei Uchida, Yoshimasa Saito, Hidetsugu Saito. (2021) The Effects of Continuous and Withdrawal Voluntary Wheel Running Exercise on the Expression of Senescence-Related Genes in the Visceral Adipose Tissue of Young Mice. International Journal of Molecular Sciences 22: 264, https://doi.org/10.3390/ijms22010264.

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計1件（うち査読付論文　1件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　1件）

１．著者名 Kimura Masaki、Suzuki Seiya、Moriya Atsushi、Nogami Kazuki、Uchida Ryoei、Saito Yoshimasa、Saito Hidetsugu	４．巻 22
２．論文標題 The Effects of Continuous and Withdrawal Voluntary Wheel Running Exercise on the Expression of Senescence-Related Genes in the Visceral Adipose Tissue of Young Mice	５．発行年 2020年
３．雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	６．最初と最後の頁 264～264
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22010264	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

〔学会発表〕　計3件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

１．発表者名 木村真規，鈴木聖矢，森谷淳司，松崎潤太郎，齋藤義正，齋藤英胤
２．発表標題 自発走運動が若齢マウス脂肪組織の老化関連遺伝子発現に及ぼすレガシー(長期的)効果.
３．学会等名 第76回 日本体力医学会大会
４．発表年 2021年

１．発表者名 木村真規，鈴木聖矢，森谷淳司，野上和幹，内田諒英，松崎潤太郎，齋藤義正，齋藤英胤
２．発表標題 自発走運動の継続および中止がマウス脂肪組織の老化関連遺伝子発現に及ぼす影響.
３．学会等名 第21回 日本抗加齢医学会総会
４．発表年 2021年

１．発表者名 木村真規，柴川　涼，松本吉弘，齋藤義正，齋藤英胤
２．発表標題 個別および集団飼育におけるマウスの活動量および体温変化に及ぼす環境エンリッチメントの影響
３．学会等名 第74回 日本体力医学会大会
４．発表年 2019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