

Elucidation of pathophysiology and treatment strategies of peripheral clock disruption

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-04-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Ando, Hitoshi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00053875

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【研究紹介】

末梢体内時計障害の病態解明と治療法の開発

Elucidation of pathophysiology and treatment strategies of peripheral clock disruption

金沢大学医薬保健研究域医学系 細胞分子機能学

安 藤 仁

はじめに

生体の様々な行動や生理機能には、約24時間を1周期とする概日リズム (circadian rhythm) が認められる。この概日リズムは時計遺伝子群からなる細胞内体内時計によって発振されていることが、1980年代にショウジョウバエの研究により明らかされた。この発見に対しては、2017年に米国の3氏にノーベル生理学・医学賞が授与されたことは記憶に新しい。1990年代には、哺乳類においても時計遺伝子群が同定され、ショウジョウバエと同様に、細胞内体内時計は時計遺伝子群の転写・翻訳フィードバックループにより構築されていることが明らかになった。哺乳類の体内時計は視床下部の視交叉上核に存在することは以前より知られていたが、時計遺伝子群の発見により、細胞内体内時計はほぼすべての細胞に存在することも判明した。視交叉上核の細胞内体内時計は、光刺激により時刻がセットされ、中枢時計として視交叉上核以外の細胞の体内時計 (末梢時計) の時刻を調節している一方、個々の臓器の生理機能のリズムは、直接的にはその臓器の末梢時計によって制御されている。我々は、末梢時計の障害がいわゆる生活習慣病の発症と密接に関連することを見出し、その病態の解明と治療法の開発を進めているので、本稿ではその一部を紹介する。

1. 肥満や2型糖尿病では末梢時計の障害が認められる

2型糖尿病患者や肥満者では、耐糖能や血中アディポサイトカイン濃度の日内リズムに変調をきたすことが報告されている。そこで、それらの病態では末梢時計が障害されているか否かを検討した。まず、動物モデルを用い、遺伝的に軽度肥満・インスリン抵抗性をきたすKKマウスと高度肥満・2型糖尿病を自然発症するKK-A^yマウスの末梢時計を、正常コントロールのC57BL/6Jマウスのもものと比較した。その結果、脂肪組織 (図1) および肝の体内時計機能は病態依存的に減弱し、それに合致して、アディポサイトカイン遺伝子を含む様々な遺伝子のmRNA発現リズムも肥満や耐糖能の悪化に伴って障害されることが判明した^{1,2)}。さらに、ヒトにおいても、非糖尿病患者では末梢血白血球の時計遺伝子mRNA発現量に日内リズムを認める一方、2型糖尿病患者ではそれらのリズムに変調が認められた³⁾。

2. 体内時計の障害は肥満や2型糖尿病をもたらす

次に、肥満や糖尿病と体内時計障害との因果関係を検討した。高度の肥満糖尿病を自然発症するob/obマウスでは、KK-A^yマウスと同様に、10週齢時には肝および脂肪組織の細胞内体内時計機能 (時計遺伝子mRNA発現リズム) の顕著な障害 (発現リズムの減弱) が認められた。そこで、体重や血糖値がコントロールマウスとまだ同等である3週齢時にも解析を行ったところ、コントロール

マウスに比し、ob/obマウスではすでに有意な時計遺伝子mRNA量の低下を認めていた⁴⁾。また、肥満や糖尿病のない健常人を対象に、午前9時の末梢血血液細胞を採取して解析したところ、時計遺伝子mRNA発現量には腹囲や空腹時血糖値との有意な負の相関が認められた⁵⁾。これらのことより、末梢時計の障害は肥満や2型糖尿病の発症に先行して認められることが判明した。

そこで、体内時計の障害が肥満や2型糖尿病を惹起するか否かについて、動物を用いて検討した。マウスを3時間明期・3時間暗期の照明条件下で飼育すると、体内時計が慢性的に障害されるようになる。若齢期の6週齢時からこの条件下で飼育したC57BL/6Jマウスでは、通常の12時間明期・12時間暗期で飼育したマウスと比べて、一過性の体重増加と耐糖能障害が摂餌量の増加なしに認められた。一方、成熟後の20週齢からこの照明条件下で飼育した場合には、体重増加なしに耐糖能が悪化した (未発表データ)。以上の結果より、体内時計の障害は肥満や2型糖尿病の結果ではなく、少なくともそれらの一因として寄与することが示唆された。

3. 脂肪細胞や肝細胞の体内時計は脂質・糖代謝を制御している

続いて、末梢時計障害が肥満や2型糖尿病を惹起する機序を解明するために、脂肪細胞や肝細胞で時計遺伝子発現を抑制あるいは欠損させたモデルを作製し、それらの細胞における細胞内体内時計の生理学的役割を解析した。まず、3T3-L1細胞にsiRNAを導入して時計遺伝子Dbpの発現を抑制したところ、脂肪細胞への分化の抑制と細胞内糖取り込みの減少が認められた⁶⁾。また、肝細胞特異的に時計遺伝子Bmal1を欠損させたマウスで

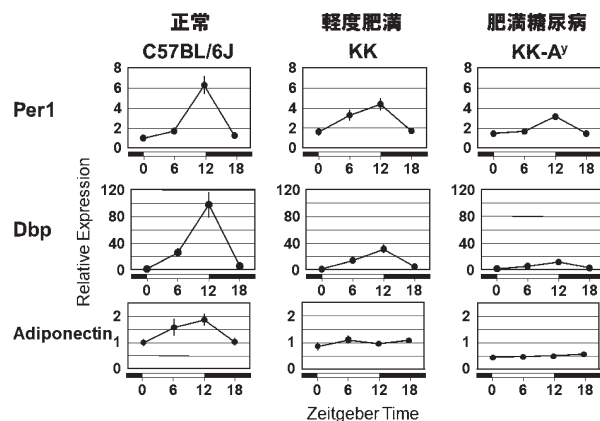
Data are means \pm SE of 5 mice at each time point.

図1. 脂肪組織における時計遺伝子およびアディポネクチンのmRNA発現リズム

は、肝糖新生・糖放出経路を担う分子の発現リズムが障害され、空腹時血糖の日内リズムが消失することも判明した⁷⁾。空腹時血糖は肝糖産生により制御されており、ヒトの場合は肝糖産生が亢進する早朝に上昇しやすいことが“暁現象”として知られている。この要因としては、深夜に分泌された成長ホルモンが早朝に肝のインスリン抵抗性を惹起することが示唆されている。しかしながら、少なくともマウスでは、ソマトスタチンアナログを投与して成長ホルモンの分泌を抑制した場合にも、休息期後半には空腹時血糖の上昇が認められたことから、暁現象は肝細胞の体内時計によって制御されていることが示唆された。このように、脂肪組織や肝細胞の体内時計は脂質・糖代謝を直接的に制御していることが明らかになった。

4. 末梢時計は薬物療法により制御可能である

現代は24時間社会であり、わが国では深夜業務に従事する労働者の割合が20%を超えている。したがって、健康に悪いと分かっているにもかかわらず夜間に光を浴びざるを得ず、体内時計障害が不可避である人々が多い。中枢時計は睡眠・覚醒リズムにも影響をおよぼすことから、交代勤務者や宿直者の場合には、中枢時計の時刻を固定する治療は適切でないと思われる。一方、各臓器の生理機能を直接的に制御する末梢時計であれば、睡眠・覚醒リズムとは無関係に制御できる可能性がある。そこで我々は、末梢時計を標的とした薬物療法を探索してきた。

ob/obマウスでは、高セルロース食負荷により摂取カロリーを制限すると、肥満や糖尿病は著明に改善する。しかしながら、その場合にも肝や脂肪組織の末梢時計障害は軽快しなかった。一方、レプチンを1日1回皮下投与した場合には、代謝異常のみならず、末梢時計機能も改善した⁴⁾。さらに我々は、ob/obマウスでは、末梢時計機能障害と関連して、時計遺伝子プロモーター領域のヒストンアセチル化レベルの低下が認められることを見出した。そこで、ob/obマウスにヒストン脱アセチル酵素阻害薬であるボリノスタットやバルプロ酸を投与したところ、ヒストンアセチル化レベルが回復し、末梢時計機能障害(時計遺伝子発現量の低下)も軽快した⁶⁾。

肝などの末梢時計の時刻をセットする同調因子は、中枢時計のように光刺激ではなく、食餌の刺激が主であることが知られている。インクレチンであるグルカゴン様ペプチド-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) は、摂餌後に下部消化管のL細胞から分泌され、直接的に、あるいは自律神経を介して間接的に、膵内分泌細胞からのホルモン分泌や肝糖放出、胃酸分泌などを調節している。そこで、GLP-1がこれらの液性因子や神経因子を介して末梢時計を制御している可能性を考え、GLP-1が末梢時計におよぼす作用を摂餌の影響と比較した。具体的には、C57BL/6Jマウスを用い、給餌時刻を休息期のみに限るとともに、GLP-1受容体作動薬であるエキセナチドを活動期の開始時に1日1回反復皮下投与した。その結果、末梢時計は摂餌開始時刻ではなく、エキセナチドの投与時刻への同調が認められたことから、エキセナチドは食餌よりも強力な同調因子であることが判明した⁹⁾。このように、末梢時計は薬物療法によっても制御可能である。

5. 今後の展望

近年、我々の報告以外にも、体内時計の障害が生活習慣病の一因であることを示唆するデータが集積してきており、末梢時計は生活習慣病の予防・治療のための重要な標的であると考えられる(図2)。現在、我々は、肝や

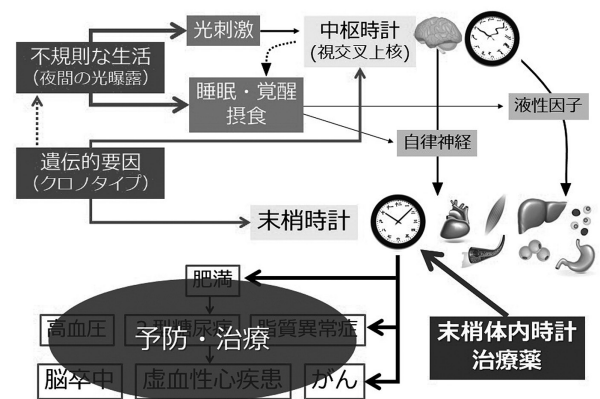


図2. 末梢体内時計治療薬による生活習慣病の予防・治療

白色脂肪組織に加え、エネルギー消費臓器である褐色脂肪組織や骨格筋における末梢時計についても研究を進めている。また、女性生殖器における末梢時計の役割や、時間帯とクロノタイプを考慮した効果的な運動方法⁹⁾を明らかにする共同研究にも着手しており、包括的に末梢時計の病態生理学的意義を解明し、末梢時計を標的とした生活習慣病の予防・治療法を確立したいと考えている。

謝 辞

これまでにご指導、ご鞭撻をいただきました多くの先生方、共同研究者の方々に深謝いたします。また、今回の寄稿の機会を与えて下さいました金沢大学十全医学会の皆様へ御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Ando H, Yanagihara H, et al. Rhythmic messenger ribonucleic acid expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue. *Endocrinology* 146:5631-6, 2005.
- 2) Ando H, Oshima Y, et al. Profile of rhythmic gene expression in the livers of obese diabetic KK-A^y mice. *Biochem Biophys Res Commun* 346(4):1297-302, 2006.
- 3) Ando H, Takamura T, et al. Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 52:329-35, 2009.
- 4) Ando H, Kumazaki M, et al. Impairment of peripheral circadian clocks precedes metabolic abnormalities in ob/ob mice. *Endocrinology* 152:1347-54, 2011.
- 5) Ando H, Ushijima K, et al. Associations of metabolic parameters and ethanol consumption with messenger RNA expression of clock genes in healthy men. *Chronobiol Int* 27:194-203, 2010.
- 6) Ishikawa-Kobayashi E, Ushijima K, Ando H, et al. Reduced histone H3K9 acetylation of clock genes and abnormal glucose metabolism in ob/ob mice. *Chronobiol Int* 29:982-93, 2012.
- 7) Ando H, Ushijima K, et al. Daily fasting blood glucose rhythm in male mice: A role of the circadian clock in the liver. *Endocrinology* 157:463-9, 2016.
- 8) Ando H, Ushijima K, Fujimura A. Indirect effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonist exendin-4 on the peripheral circadian clocks in mice. *PLoS One* 8:e81119, 2013.
- 9) Miyazaki R, Ando H, et al. Development and initial validation of the Morningness-Eveningness Exercise Preference Questionnaire (MEEPQ) in Japanese university students. *PLoS One* 13:e0200870, 2018.