

明周期が猫の皮下脂肪の遺伝子発現に与える影響の検討 ～ RNA シークエンス法を用いて～

森 昭 博

日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医保健看護学科 臨床部門 代謝・栄養学研究分野・講師

日獣生大研報 66, 6-7, 2017.

背 景

明周期は様々な哺乳動物において体重、身体活動、繁殖周期および脂肪細胞の遺伝子発現に季節性的変化を与えることが報告されている。特に松果体から分泌されるメラトニンは、季節性的変化に重要なシグナルを与えると考えられている。メラトニンは冬もしくは短日の季節において最も分泌され、夏もしくは長日の季節に低値を示す。明期の変化による影響は動物種により異なり、体重が増加する場合と低下する場合がある。シベリアンハムスターとハタネズミは短日で体脂肪や体重が減少し、ゴールデンハムスターや、プレーリーハタネズミおよびタヌキでは短日で体脂肪や体重が上昇する。猫はメラトニン分泌や性周期に関連して明周期に感受性があり、長日で活動性が上昇することが報告されている^{1,2)}。猫の肥満は近年増加傾向にあり、糖尿病や関節疾患および膀胱炎のリスクが上昇することが報告されている。肥満は脂肪細胞において分生物学的な変化を引き起こすことも報告されている。しかしながら猫において体重変動の要因となりうる明周期の変化が脂肪細胞に与える影響については研究されていない。一方、げっ歯類における研究で明周期は脂肪細胞の遺伝子発現に大きく影響を与えることが報告されている。そこで本研究では明周期が猫の脂肪細胞の遺伝子発現にどのような影響を与えるかについて検討を行うこととした。遺伝子発現の解析方法として猫においてはマイクロアレイによる遺伝子解析方法が確立されていないため、RNA シークエンス法を用いて脂肪細胞の遺伝子発現を網羅的に解析した。

材料と方法

10頭の健常猫（去勢雄、4歳齢）を用いてトータルで24週間の試験を行った。猫をランダムに5頭ずつ2群に振り分け、クロスオーバーデザインにより2回の12週の期間を短日飼育（8時間の明期；16時間の暗期）、もしくは長日飼育（16時間の明期；8時間の暗期）に分け照明をコントロールした。それぞれの明期での12週目において

皮下脂肪より脂肪細胞バイオプシーを行った。脂肪細胞よりRNA抽出後、RNA シークエンスライブラリーを作成し、次世代シークエンサーによりRNA シークエンスを行った。すべての猫は試験期間中市販のフードを与えられ、体重が変わらないようフード量を調整した。

結果および考察

猫は理想体重（平均4.6kg）を維持し、ボディコンディションスコアも試験期間中で一定の値を示した。そのため、本試験期間中では体重の変動がなく、明周期による脂肪細胞の遺伝子発現の変化を純粹に検討することができる。体重の変化がなかったにもかかわらず短日飼育では必要としたエネルギー摂取量（平均187kcal/day）は長日飼育（平均196kcal/day）よりも低い値であった。また、短日飼育では身体活動量が長日飼育よりも低下した。よって、短日飼育下で猫の理想体重を維持するためのエネルギー摂取量が低下し、それに伴い一日の身体活動量も低下することがわかった²⁾。次にRNA シークエンス法により脂肪細胞の遺伝子発現の解析を行った。トータルで5.78億のシークエンスが得られた（サンプルあたり2890万）。170種類の遺伝子において短日飼育および長日飼育で有意な違いが認められた。89種類の遺伝子が短日飼育で上昇し、24種類の遺伝子が短日飼育で減少した。その他の57種類の遺伝子は短日飼育および長日飼育で差があったものの既知の遺伝子ではなかったため、考察は行わなかった。結果として短日飼育下での猫の脂肪組織において上昇した遺伝子は、細胞の成長や分化に関わる遺伝子（e.g., myostatin; frizzled-related protein）、細胞の発生や骨格に関わる遺伝子（e.g., cytokeratins）、蛋白のプロセッシングやユビキチン化に関わる遺伝子などがあった（e.g., kelch-like proteins）。一方、短日飼育下での猫の脂肪組織において低下した遺伝子は、免疫機能に関わる遺伝子（e.g., plasminogen activator inhibitor 1; chemokine (C-C motif) ligand 2; C-C motif chemokine 5; T-cell activators）および炭水化物や脂質代謝に関連する遺伝子などがあった³⁾。

結 論

猫において明周期の変化は生理学的変化を与え、エネルギー摂取、エネルギー消費および身体活動に影響を与えることがわかった。さらに本研究で認められた遺伝子発現の変化は短日飼育において猫の脂肪細胞における脂肪生成の促進、炎症と酸化ストレスの低減および栄養代謝を変化させるものであると考えられた。また、本研究は猫にRNA シークエン্সという新しい遺伝子解析技術を用いた世界でも初めての研究であるといえる。今後の研究として猫において短日飼育あるいは長日飼育において、無制限に食事を給与し、体重が増加していく過程での脂肪細胞における遺伝子発現の変化を検討していく必要がある。将来的には猫において肥満を是正できるような生活スタイルもしくは照明の配慮がアドバイスできるような研究データが得られれば、今後の獣医臨床に還元できる重要な研究へと発展していくと考えられる。

謝 辞

この度は梅野信吉賞という名誉ある賞を頂き、大変感謝しております。阿久澤学長をはじめ、推薦をしていただきました獣医保健看護学科臨床部門の左向敏紀教授、選考委

員会の先生方、副賞を頂きました同窓会の皆様に心より感謝を申し上げます。また、受賞した研究題目についてご指導いただいたイリノイ大学の Kelly S Swanson 教授、留学を後押ししていただいた獣医学科基礎獣医学部門の新井敏郎教授、ならびに自分の留学を温かく見守っていただいた獣医保健看護学科臨床部門の教員の皆様、大学院生、学生に深く感謝しております。

参 考 文 献

- 1) LEYVA, H., MADLEY, T., STABENFELDT, G.H. (1989). Effect of melatonin on photoperiod responses, ovarian secretion of oestrogen, and coital responses in the domestic cat. *J. Reprod. Fertil.*, **39**, 135-142.
- 2) KAPPEN, K.L., GARNER, L.M., KERR, K.R., SWANSON, K.S. (2014). Effects of photoperiod on food intake, activity and metabolic rate in adult neutered male cats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, **98**, 958-967.
- 3) MORI, A., KAPPEN, K.L., DILGER, A.C., SWANSON, K.S. (2014). Effect of photoperiod on the feline adipose transcriptome as assessed by RNA sequencing. *BMC Vet. Res.*, **10**, 146.