

令和元年6月11日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01855

研究課題名(和文) エネルギー消費増加を目指した食事誘発性熱産生発生機構及び褐色脂肪組織の寄与解明

研究課題名(英文) The mechanism of diet-induced thermogenesis in brown adipose tissue for the increase in energy expenditure

研究代表者

山崎 聖美 (Yamazaki, Tomomi)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・国立健康・栄養研究所 臨床栄養研究部・山崎聖美

研究者番号：00218439

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)：マウスでたんぱく質、炭水化物、脂質により生じる食事誘発性熱産生を解析する系を構築した。マウス系統によりたんぱく質、炭水化物、脂質により生じる食事誘発性熱産生が異なった。この差には褐色脂肪組織のミトコンドリア脱共役蛋白質UCP1の活性の差が関与していると考えられた。PPAR ノックアウトマウスにも食事誘発性熱産生が観察され、ミトコンドリア活性、UCP1タンパク質量は野生型マウスと同程度であった。次に、Fenofibrateをマウスに投与した結果、野生型マウスでは食事誘発性熱産生が摂取したエネルギーの10%から20%へと2倍に増加したが、PPAR ノックアウトマウスでは増加はみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスを用いた食事誘発性熱産生の増加に関しては、体温上昇やエネルギー消費量上昇が指標にされていたが、本研究により構築された測定系により増加率が算出可能となった。これにより、様々な食品成分による食事誘発性熱産生亢進に関する詳細な研究が可能になると期待される。

研究成果の概要(英文)：A system to analyze diet-induced thermogenesis (DIT) from protein, carbohydrate, and lipid using mice was built. DIT from protein, carbohydrate, and lipid varied according to mouse strains. It was thought that a difference in activity of mitochondrial uncoupling protein UCP1 of the brown adipose tissue contributed to these differences. DIT was observed even in PPAR knockout mice, and the mitochondrial activity and the level of UCP1 protein were at the same level as wild type mice. Then, after giving fenofibrate to mice, DIT increased to double from 10% to 20% of energy that they took in with the wild type mice, but the increase was not seen in the PPAR knockout mice.

研究分野：分子栄養学

キーワード：食事誘発性熱産生 エネルギー代謝 褐色脂肪組織

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

エネルギー消費の増加は、肥満やメタボリックシンドローム発症予防及び改善に有効である。食事誘発性熱産生(diet-induced thermogenesis ; DIT)は総エネルギー消費の約1割を占め、一部は、ヒト成人で存在が明らかにされ肥満症治療や肥満予防のターゲットになると考えられている褐色脂肪組織 (brown adipose tissue; BAT) が担っている。BAT では、脂肪酸により活性化される核内転写因子の一つで、脂質の取り込み、合成、輸送、貯蔵、分解といった生理機能に関わるタンパク質発現を調節するペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (peroxisome proliferator-activated receptor ; PPAR) の一つ PPAR に発現制御を受ける脱共役タンパク質 (uncoupling protein; UCP) 1 が発現しており、ミトコンドリア内膜を挟んだプロトン勾配の解消を ATP 産生と共役することなく生じさせ、これが大量の熱産生につながる。ミトコンドリアでの熱産生の基質は主に脂肪酸で、褐色脂肪細胞が活性化すると脂肪酸の燃焼が亢進するが、これが ATP 産生と共役しないため、細胞内の ATP 保持のために解糖系も亢進し糖取込みも増大する。UCP1 は交感神経-ノルアドレナリン経路、すなわち、受容体を介して活性化される。BAT 内の脂肪は 受容体を介して活性化されたホルモン感受性リパーゼにより脂肪酸に分解され、UCP1 を活性化する。体重は、エネルギー摂取とエネルギー消費 (基礎代謝量(60%)+適応性熱産生(10%)+身体活動量(30%))のバランスによって規定されている。エネルギー消費のうち、適応性熱産生は、寒冷誘発性熱産生と DIT に分類される。寒冷誘発性熱産生は骨格筋による「ふるえ熱産生」と BAT による「非ふるえ熱産生」による。一方、DIT は摂取した栄養素の消化、吸収、輸送、貯蔵に使用されるエネルギーで、一部 BAT によって担われており、食事エネルギーの10%程度を占め、食事内容によって異なり、たんぱく質は約30%、炭水化物は6%、脂肪は4%程度とされる。しかし、BAT における 受容体刺激に至る過程が複雑かつ多岐にわたるため、BAT が各栄養素摂取により活性化され DIT を発生させる機序について全容は明らかにされていない。

### 2. 研究の目的

BAT の重要な機能である DIT 発生機序解明を行うことで DIT 増加を介したエネルギー消費増加による肥満メタボリックシンドローム発症予防および改善につなげる。そこで、主要栄養素により生じる DIT の違い、DIT における BAT の寄与と機能、BAT の概日リズムと熱産生について調べ、DIT 発生のメカニズムを解明する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 主要栄養素により生じる DIT の違い

マウスを用い、代謝測定用ケージにて飼育して酸素及び二酸化炭素量を測定し代謝エネルギーを計算した。さらに、横軸に活動量、縦軸にエネルギー消費量を取り、同じマウスを絶食条件下と摂食条件下で同様に測定、同じ活動量におけるエネルギー消費の差を DIT として解析を行った。主要栄養素について種々に割合を変化させたエサを与え、栄養素それぞれの DIT を算出した。

#### (2) DIT における BAT の寄与と機能

いくつかの異なる系統のマウスを用いて同様に解析し、それぞれのマウスの BAT ミトコンドリア活性について調べた。また、PPAR ノックアウトマウスを用いて DIT について同様に解析を行った。さらに、PPAR アゴニストである Fenofibrate をマウスに投与し同様の解析を行った。

### (3) BAT の概日リズムと熱産生

BAT から 4 時間おきに mRNA を調製し、BAT における時計遺伝子の変化について調べた。

## 4. 研究成果

### (1) 主要栄養素により生じる DIT の違い

マウスを用い、代謝測定用ケージにて飼育して代謝ケージ内の酸素および二酸化炭素量を測定し代謝エネルギーを計算し、たんぱく質、炭水化物、脂質により生じる食事誘発性熱産生を解析する系を新たに構築した。様々な系統のマウスについて検証を重ね、活動量の大きいマウス系統、小さいマウス系統、それぞれに適した測定系を構築した。食事誘発性熱産生は、食事エネルギーの 10% 程度であり食事内容によって異なり、たんぱく質は約 30%、炭水化物は 6%、脂肪は 4% 程度とされているが、本研究から得られた結果は、これらの値とは異なっていた。また、マウスの種類によってもたんぱく質、炭水化物、脂質により生じる食事誘発性熱産生が異なることを明らかにした。

### (2) DIT における BAT の寄与と機能

食事誘発性熱産生には褐色脂肪組織におけるミトコンドリア機能が必要である。そこで、褐色脂肪組織よりミトコンドリアを調製し、UCP1 の活性について詳細に解析を行った結果、マウスによる食事誘発性熱産生の差には UCP1 の活性が関与していると考えられた。UCP1 は PPAR によって制御されている、そこで、PPAR ノックアウトマウスを用いて食事誘発性熱産生について調べた結果、PPAR ノックアウトマウスにも食事誘発性熱産生が観察された。しかも、PPAR ノックアウトマウスのミトコンドリア活性、UCP1 タンパク質量は野生型マウスと同程度であることが明らかになった。ただし、たんぱく質および炭水化物による食事誘発性熱産生量は野生型マウスと同程度であったが、脂質による食事誘発性熱産生量には差が見られた。次に、PPAR アゴニストである Fenofibrate をマウスに投与したところ、野生型マウスでは食事誘発性熱産生が摂取したエネルギーの 10% から 20% へと 2 倍に増加したが、PPAR ノックアウトマウスでは 10% で変わらず、増加はみられなかった。エネルギー消費量は野生型マウスでは食事誘発性熱産生増加分増加したが、PPAR ノックアウトマウスでは変化が見られなかった。

### (3) BAT の概日リズムと熱産生

さらに、褐色脂肪組織の時計遺伝子について調べた結果、Per1 は肝臓と白色脂肪組織に、Per2 は白色脂肪組織に、Per3 は肝臓に Ror は肝臓と白色脂肪組織に、Ror は肝臓に近いパターンを示したが、Ror は肝臓とも白色脂肪組織とも異なるパターンを示した。また、マウスに高脂肪食を投与すると褐色脂肪組織内の PPAR の発現が 24 時間を通して普通食摂取マウスに比べて増加したが、Clock、Bmal1、Per2、Per3、Cry1、Cry2 といった時計遺伝子の発現は 24 時間を通して減少し、Per2、Per3、Cry1、Cry2 では発現リズム（振幅）が観察されなくなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

- 1) Yamazaki T, Li D, Ikaga R., Effective Food Ingredients for Fatty Liver: Soy Protein -Conglycinin and Fish Oil., Int J Mol Sci. 19(12): 4107, 2018. 査読有  
DOI: 10.3390/ijms19124107.
- 2) Li D, Ikaga R, Yamazaki T., Soya protein -conglycinin ameliorates fatty liver and obesity in diet-induced obese mice through the down-regulation of PPAR ., Br J Nutr. 119(11): 1220-1232, 2018. 査読有

DOI: org/10.1017/S0007114518000739

3) Ikaga R, Li D, Yamazaki T., Dietary  $\alpha$ -conglycinin prevents acute ethanol-induced fatty liver in mice., *Biochem Biophys Res Commun.* 493(1): 542-547, 2017.

DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.08.155

4) Shintani T, Higashi S, Suzuki R, Takeuchi Y, Ikaga R, Yamazaki T., Kobayashi K, Noda M. PTPRJ Inhibits Leptin Signaling, and Induction of PTPRJ in the Hypothalamus Is a Cause of the Development of Leptin Resistance. *Sci Rep.* Sep 14;7(1):11627, 2017. 査読有

DOI: 10.1038/s41598-017-12070-7

5) 伊香賀玲奈, 山崎聖美., 運動負荷期間・時間帯がマウス高脂肪食誘発性脂肪肝発症に及ぼす影響, *日本栄養・食糧学会誌.* 70(2): 69-75, 2017. 査読有

DOI: <https://doi.org/10.4327/jsnfs.70.69>

6) Yamazaki T., Okawa S, and Takahashi M., The Effects on Weight Loss and Gene Expression in Adipose and Hepatic Tissues of Very-low Carbohydrate and Low-fat Isoenergetic Diets in Diet-induced Obese Mice., *Nutr Metab (Lond)*, Nov 8;13:78, 2016. 査読有

DOI: 10.1186/s12986-016-0139-1

〔学会発表〕(計 28 件)

1) 山崎聖美., 非アルコール性脂肪肝・アルコール性脂肪肝の発症・改善に対する大豆たん白質及び魚油の効果, 第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会シンポジウム, 2018.

2) 山崎聖美., 伊香賀玲奈, 中江悟司, 田中茂穂, マウスを用いた食事誘発性体熱産生測定法の検討, 第 38 回日本肥満学会, 2018.

3) 高橋真由美, 袁勲梅, 山崎聖美., 菅波孝祥, 小川佳宏, 母獣の 3PUFA 摂取による仔の肝臓における DNA メチル化の検討, 第 38 回日本肥満学会, 2018.

4) 李冬陽, 伊香賀玲奈, 小川温子, 山崎聖美., 高脂肪食及び高砂糖食摂取により脂肪肝を発症した ddY マウスの肝臓における概日リズム変化, 第 90 回日本生化学会, 2018.

5) 山崎聖美., 伊香賀玲奈, 大豆タンパク質  $\alpha$ -コングリシニンによるアルコール性脂肪肝発症予防効果, 第 72 回日本栄養・食糧学会大会, 2018.

6) 高橋真由美, 袁勲梅, 山崎聖美., 菅波孝祥, 橋本貢士, 小川佳宏, 母獣が摂取する食餌性脂肪酸による仔の肝臓における DNA メチル化修飾の形成と維持についての検討, 第 72 回日本栄養・食糧学会大会, 2018.

7) 新谷隆史, 東覚, 鈴木亮子, 竹内靖, 伊香賀玲奈, 山崎聖美., 小林憲太, 野田昌晴, 受容体型プロテインチロシンホスファターゼ PTPRJ によるレプチンシグナルの制御機構とレプチン抵抗性への関与, 2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 第 90 回日本生化学会, 第 40 回日本分子生物学会年会, 2017.

8) 李冬陽, 伊香賀玲奈, 小川温子, 山崎聖美., 高脂肪食及び高砂糖食摂取による肥満発症における白色脂肪組織及び褐色脂肪組織の概日リズム変化の解析, 2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 第 90 回日本生化学会, 第 40 回日本分子生物学会年会, 2017.

9) 伊香賀玲奈, 李冬陽, 田中茂穂, 山崎聖美., 食事誘発性熱産生に三大栄養素やマウス系統が及ぼす影響, 2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 第 90 回日本生化学会, 第 40 回日本分子生物学会年会, 2017.

10) Tomomi Yamazaki., Reina Ikaga, The effects of very-low carbohydrate diets on weight loss and hepatic lipids and gene expressions in diet-induced obese mice, IUNS 21<sup>st</sup> ICN

International Congress of Nutrition, 2017.

- 11) Dongyang Li, Tomomi Yamazaki, High-fat diet disrupts peripheral circadian clocks in white and brown adipose tissues, IUNS 21<sup>st</sup> ICN International Congress of Nutrition, 2017.
- 12) 伊香賀玲奈、山崎聖美, 大豆タンパク質 -コングリシニン<sup>1</sup>はアルコール性脂肪肝発症を予防する, 第 38 回日本肥満学会, 2017.
- 13) 新谷隆史、東覚、鈴木亮子、伊香賀玲奈、山崎聖美、野田昌晴, 受容体型プロテインチロシンホスファターゼ PTPRJ はレプチンシグナルを抑制している, 第 38 回日本肥満学会, 2017.
- 14) 高橋真由美、袁勳梅、山崎聖美、橋本貢士、小川佳宏, 母獣の食餌性脂肪酸による仔の肝臓における遺伝子発現と DNA メチル化の検討, 第 38 回日本肥満学会, 2017.
- 15) 山崎聖美, 食事誘発性肥満マウス<sup>2</sup>の大豆たん白質 -コングリシニンによる肥満及び脂肪肝改善効果, 第 64 回日本栄養改善学会学術総会, 2017.
- 16) 李冬陽、伊香賀玲奈、山崎聖美, 高脂肪食及び高砂糖食摂取による肥満発症における肝臓の概日リズム変化の解析, 第 4 回時間栄養科学研究会, 2017.
- 17) 李冬陽、小川温子、山崎聖美, 脂肪肝及び肥満に対する大豆たんぱく質 -conglycinin の改善効果及びその分子機序の解明, 平成 29 年度日本生化学会関東支部例会, 2017.
- 18) 山崎聖美、伊香賀玲奈, 低炭水化物食長期投与の肥満マウスに対する肥満改善効果, 第 71 回日本栄養・食糧学会大会, 2017.
- 19) 李冬陽、山崎聖美, 大豆たん白質 -コングリシニンは高脂肪食摂取により肥満したマウスの肥満及び脂肪肝を改善する, 第 71 回日本栄養・食糧学会大会, 2017.
- 20) 高橋真由美、袁勳梅、山崎聖美、橋本貢士、小川佳宏, 母獣が摂取する飽和脂肪酸および n-3 系脂肪酸油脂による仔の肝臓での DNA メチル化への影響, 第 71 回日本栄養・食糧学会大会, 2017.
- 21) 山崎聖美, 肥満マウスに対する長期低炭水化物食投与の肥満改善効果, 第 37 回日本肥満学会, 2016.
- 22) 高橋真由美、袁勳梅、山崎聖美、橋本貢士、小川佳宏, 母獣の食餌性脂肪酸による仔の肝臓における遺伝子発現制御の検討, 第 37 回日本肥満学会, 2016.
- 23) 山崎聖美, 肥満マウスへの長期低炭水化物食投与による肥満改善への影響, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.
- 24) 伊香賀玲奈、山崎聖美, 運動による肥満及び脂肪肝発症予防機序解明, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.
- 25) 李冬陽、山崎聖美, 大豆タンパク質 -conglycinin は高脂肪食摂取により発症した肥満及び脂肪肝を改善する, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.
- 26) 山崎聖美、斉藤孝太、桑田有, 肥満及び脂肪肝発症予防における運動の効果と発症予防機序解明, 第 63 回日本栄養改善学会学術総会, 2016.
- 27) 山崎聖美, 肥満マウスに対する肥満改善における低炭水化物食の短期効果と各組織への影響, 第 70 回日本栄養・食糧学会大会, 2016.
- 28) Tomomi Yamazaki, The Effects of Weight Loss in Very-low Carbohydrate and Low-fat Isoenergetic Diets in Diet-induced Obese Mice, The XIII International Congress on Obesity, 2016.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：