

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01971

研究課題名(和文) 神経系による食嗜好の制御メカニズムの解明；長寿遺伝子SIRT1に着眼して

研究課題名(英文) Elucidating the neuronal regulation of food preference; focusing on the longevity gene SIRT1

研究代表者

佐々木 努 (Sasaki, Tsutomu)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：50466687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マウスの脳でSIRT1発現を増減させると、油への嗜好性は増減、糖質への嗜好性は減増することが分かった。そして、単純糖質への嗜好性の調節は、摂取した単純糖質が肝臓からのFGF21分泌を促進し、FGF21が脳視床下部のオキシトシン神経を活性化し、脳内に放出されたオキシトシンが受容体に作用することにより、糖の摂取欲求が抑制されるFGF21-オキシトシン系によるネガティブ・フィードバック制御があることを明らかにした。そして、SIRT1はFGF21受容体の発現を生に調節することにより、このネガティブ・フィードバック制御を増強し、糖質への嗜好性を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣病とその関連疾患は、大きな社会問題となっている。これらの疾患の予防と治療のために食事療法が用いられるが、患者にとって指導を守ることが困難であることが、効果が得られない理由の一つとなっている。本研究の成果である糖分に対する食欲を調節する生体メカニズムが分かることにより、患者がなぜ甘いものを我慢できないのか、および、どうしたら食事療法を守れるようになるのか、などが分かるようになることが期待される。その結果、生活習慣病の予防と治療が進み、健康促進につながる意義がある。

研究成果の概要(英文)：We found that increasing or decreasing SIRT1 expression levels specifically in the brain altered nutrient preferences. Brain SIRT1 promoted fat preference whereas it suppressed sugar preference. We found that simple sugar preference is regulated by a negative feedback mechanism mediated by the FGF21-oxytocin system. Simple sugar ingestion induces the release of hepatokine FGF21, which activates oxytocin neuron in the hypothalamus. It leads to the release of oxytocin within the central nervous system, and the binding of oxytocin to its receptor suppressed simple sugar preference. We also found that SIRT1 promoted the expression of the FGF21 receptor, thereby improved FGF21 sensitivity and potentiated the negative feedback regulation of the simple sugar preference mediated by the FGF21-oxytocin system.

研究分野：生理学

キーワード：生体恒常性 摂食調節 臓器連関 FGF21 オキシトシン

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究に関連する国内外の動向及び位置づけ

生活習慣病は世界レベルの疫学的な問題となっているが、過食はその一因である。古来より「医食同源」と言われ食と健康の関係は明白であるが、健康に対する食嗜好の重要性は過小評価されている。実際、先進国においてヒトの食行動に最も影響を与えるのは食嗜好であると報告されている。

生活習慣病への対策として食事療法は有効だが、患者によるコンプライアンスの低さが問題となり、長期的な実効性が弱いという問題点が存在する。問題の解決には、全容が未解明である食嗜好の制御メカニズムの解明が必須である。

食嗜好の制御には脳が重要である。動物の食行動の制御に必要な情報には、感覚情報(味覚・嗅覚など)に加え、栄養素やホルモンなどの代謝情報(消化・吸収後の代謝性の変化を反映)がある。脳はこれらの情報を感知・統合し、食行動を制御する。また、生活習慣病の危険因子となる「太りやすさ(遺伝的素因)」を規定する遺伝子の大半は、神経系で機能していることが知られている。

以上をまとめると、生活習慣病の予防法を開発するには、過食と肥満の発症において重要な役割を担う神経系に着目し、食嗜好の制御メカニズムを解明する必要がある。

他方、様々な生物で健康寿命を延ばす食事療法として、カロリー制限が知られている。この効果を担う分子として、長寿遺伝子 SIRT1 が注目されている。SIRT1 はエネルギーセンサー分子として、体内の様々な代謝過程を制御する。

(2) 研究開始当初までの研究成果を踏まえた着想

申請者はこれまで、脳の SIRT1 がホルモン感受性の改善を通して食欲とエネルギー代謝および体重を制御することを解明してきた。次に、申請者は以下の点に着目し、「神経系の SIRT1 は、体の栄養素ニーズに応じて栄養素嗜好性を制御する」と推察した。

体の栄養状態に反応して、代謝情報を担う各種のホルモンが分泌される

脳は、代謝情報(栄養素やホルモンなど)をもとに、食行動を制御する

脳の SIRT1 は、ホルモンへの感受性を改善する

この仮説を検証するために、神経細胞特異的に SIRT1 遺伝子を増減させたマウスで食嗜好解析を行い、「神経系の SIRT1 は脂質への嗜好性を促進し、糖質への嗜好性を抑制する」ことを発見した。また、SIRT1 による糖質への嗜好性の抑制効果を担う分子候補としてオキシトシン(Oxt)を同定した。

食嗜好の制御には、ドーパミンが制御する脳内報酬系も関与することが知られている。糖質も脂質も報酬性の高い栄養素だが、神経系特異的な SIRT1 の増減による嗜好性の変化が脂質と糖質で逆方向であった。すなわち、神経系の SIRT1 による栄養素嗜好性は脳内報酬系では説明できず、「体のニーズに応じた恒常的な栄養素嗜好性の調節メカニズム」の存在が推察される。神経系の高次機能の解析をマウスで行うことは難しいが、恒常的な機能であれば進化学的に保存されている可能性があり、マウスで解析可能であると考えた。

2. 研究の目的

(1) 神経系による食嗜好の制御メカニズムの解明を目標として、「長寿遺伝子 SIRT1」という切り口から、糖質および脂質に対する嗜好性の制御分子メカニズムを、遺伝子改変マウスを用いて解析した。具体的に以下の3点に取り組んだ

神経系の SIRT1 による糖質嗜好性の制御メカニズムとして、SIRT1 による Oxt の制御メカニズムを解明した

神経系の SIRT1 による脂質嗜好性の制御メカニズムを解明に取り組んだ

解明した機序の生活習慣病治療への応用の可能性を、肥満モデルマウスで検証することに取り組んだ。

3. 研究の方法

(1) 神経系の SIRT1 による糖質嗜好性の制御メカニズムの解明

Oxt ニューロン特異的 SIRT1 欠損・過剰発現マウスでの糖質嗜好性の解析実験

SIRT1 が Oxt 発現量を正に制御すること、そして、神経系の SIRT1 による糖質嗜好性の制御には Oxt 受容体を介したシグナルが必要であること、を我々は発見した。そこで、「Oxt ニューロンの SIRT1 の増減は、糖質への嗜好性の制御に十分か」を検証した。そのために、Oxt ニューロン特異的 SIRT1 欠損・過剰発現マウスを作成し、糖質への嗜好性を評価した。

-1 実験用マウスの作出

Oxt ニューロン特異的 Cre マウスと、Cre リコンビナーゼ依存的に SIRT1 を欠損する flox マウス、および、Cre リコンビナーゼ依存的に SIRT1 を過剰発現できるマウス Rosa26-SIRT1 マウスを交配させ、実験用マウスを作成した。

-2 糖質への嗜好性の解析

食事選択試験(普通食 vs. 高シヨ糖食)と、各種の糖質溶液を用いた2瓶選択試験を行った。また、短時間(10分間)の提示実験により、糖質が持つ味覚刺激(感覚情報)への反応性を評価した。2日間の提示実験により、摂取した糖質の代謝性効果(代謝情報)への反応性を評価した。

-3 in vivo シグナル解析

単純糖質(単糖や二糖類)を摂取すると、肝臓から産生された FGF21 が脳に作用し、単純糖質の摂取を抑制する。そこで、SIRT1 による糖質嗜好性の制御に FGF21 が関与するか検証した。マウスへの FGF21 投与実験を行い、Oxt ニューロンへの作用や Oxt の産生・分泌に影響を与えるか検証した。そして、「FGF21 による Oxt の調節」に SIRT1 が関与するか検証する。

-4 Oxt 神経含有神経核を用いた Oxt 分泌調節の ex vivo 解析

Oxt 含有神経細胞は、脳内では2か所に存在する(視床下部視索上核および視床下部室傍核)。これらの神経核をマウス脳から切り出し、FGF21 添加により Oxt 分泌が誘導されるか検証した。

(2) Oxt を発現する視床下部細胞株 N41 を用いた SIRT1 による Oxt 調節メカニズムの解明

脳内の SIRT1 の増減に呼応して Oxt 発現量が増減するが、細胞株を用いてその分子メカニズムを検証した。また、各種の糖質負荷条件下において、血中 FGF21 と Oxt の発現量が並行して動くことから、「FGF21 の Oxt への作用」の可能性が推察されたため、FGF21 による Oxt の調節メカニズムも細胞株で検証した。そして、両者のシグナルのクロストーク解析を行った。

-1 N41 細胞での Oxt 発現解析

N41 細胞に対して、SIRT1 発現ウイルスベクターとノックダウンウイルスベクターを感染させ、SIRT1 発現量を増減させ、Oxt 発現量の変化を評価した。また、N41 細胞に対して FGF21 添加実験を行い、Oxt 発現量の変化を評価した。

-2 レポーターアッセイによる Oxt プロモーター解析

Oxt 遺伝子のプロモーターをクローニングし、レポーターアッセイを行った。Oxt プロモーター活性に対して SIRT1 発現量の調節や FGF21 添加が及ぼす影響を評価した。また、長さの異なる Oxt プロモーターのコンストラクトを作成・解析し、SIRT1 および FGF21 による転写制御の責任領域を同定し、転写制御を担う転写因子を探索・同定した。

FGF21 は、-Klotho/FGFR のヘテロダイマー受容体に作用し、細胞内で AKT や ERK シグナルを活性化することが知られている。そこで、Oxt の転写制御におけるこれらのシグナルの役割を、各所の阻害剤を用いて検証した。

(3) 神経系の SIRT1 による脂質嗜好性の制御メカニズムの解明

糖質への嗜好性調節を担う分子候補として Oxt を同定していたが、脂質への嗜好性調節を担う分子候補は未同定であった。そこで、まず分子標的(X)の探索・同定を試みた。

(4) 生活習慣病治療への応用の可能性の検討

Oxt 系への介入による食事性肥満予防の検証

Oxt ニューロン特異的 SIRT1 欠損・過剰発現マウスでの食事性肥満予防の検証

実験 1- で作出する遺伝子改変マウスに対して、食事性肥満を誘導する高脂肪高シヨ糖食による飼育を8週間行い、体重と血糖値への影響を評価することを予定した。この実験により、食事性肥満とそれに伴う耐糖能(血糖調節能力)の異常の発症が予防できるか検証する予定であった。

4. 研究成果

(1) 神経系の SIRT1 による糖質嗜好性の制御メカニズムの解明

Oxt ニューロン特異的 SIRT1 欠損・過剰発現マウスでの糖質嗜好性の解析実験

作出した Oxt ニューロン特異的 SIRT1 欠損・過剰発現マウスを用いて、食事選択試験(普通食 vs. 高シヨ糖食)と、各種の糖質溶液を用いた2瓶選択試験を行った。OXT 神経での SIRT1 の増・減により、高シヨ糖食への嗜好性、および、単純糖質溶液への嗜好性は減・増した。他方、FGF21 分泌を刺激しない人工甘味料や、デキストリン溶液に対する嗜好性には、差を認めなかった。また、シヨ糖溶液の短時間(10分間)の提示実験では差が認められず、糖質が持つ味覚刺激(感覚情報)への反応性には変化がなく、摂取した糖質の代謝性効果(代謝情報)への反応性をオキシトシン神経の SIRT1 が促進することを明らかにした。

また、マウスへの FGF21 投与実験の結果、FGF21 は、AKT 経路を介して Oxt 遺伝子の転写を促進し、ERK 経路を介して OXT 神経を活性化させることを明らかにした。他方、神経活性に依存しない樹状突起および細胞体からの OXT 放出には、FGF21 は影響を与えなかった。

(2) Oxt を発現する視床下部細胞株 N41 を用いた SIRT1 による Oxt 調節メカニズムの解明

N41 細胞に対して、SIRT1 発現ウイルスベクターとノックダウンウイルスベクターを感染させ、SIRT1 発現量を増減させた実験より、SIRT1 の増減に応じて、Oxt 発現量も増減するとともに、SIRT1 は FGF21 受容体を構成する KLB の発現を生に調節することにより、FGF21 感受性を促進することを解明した。また、FGF21 の添加刺激も、Oxt 発現量を促進することを明らかにした。

さらに、Oxt 遺伝子のプロモーターをクローニングし、レポーターアッセイを行った結果、転

写開始点の上流 2kb への転写因子 NRF2 の結合を FGF21 シグナルが促進して、Oxt 発現を促進すること、および、SIRT1 は NRF2 の同部位への結合を促進することにより、Oxt 発現を促進することを解明した。

(3) 神経系の SIRT1 による脂質嗜好性の制御メカニズムの解明

見同定であった脂質への嗜好性調節を担う分子候補 (X) の探索・同定を試みた。しかし、本研究費 (基盤研究 B) を最終年度前申請で基盤研究 A へと移行したため、基盤研究 B の期間にはこの研究は着手したのみで、成果は得られなかった。

(4) 生活習慣病治療への応用の可能性の検討

Oxt ニューロン特異的 SIRT1 欠損・過剰発現マウスでの食事性肥満予防の検証を当初予定していたが、上記と同様の理由により、本研究は着手する前に研究期間が終了した。また、成果 (1) (2) を踏まえ、Oxt ニューロン特異的な SIRT1 改変マウスよりも、Oxt ニューロン特異的 K1b 欠損マウス (オキシトシン神経特異的 FGF21 受容体欠損マウス) を解析することが、生物学的意義がより高いと考え、研究方針を変更した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 佐々木努	4. 巻 35(1)
2. 論文標題 糖への欲求を意識せずに抑えるメカニズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Diet Therapy	6. 最初と最後の頁 3-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 佐々木努	4. 巻 77(3)
2. 論文標題 糖への欲求を意識せずに抑えるメカニズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience & Industry	6. 最初と最後の頁 246-247
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 佐々木努	4. 巻 91(6)
2. 論文標題 単純糖質嗜好性の制御メカニズム：臓器連関と学習適応	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 790-794
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsui Sho, Sasaki Tsutomu, Kohno Daisuke, Yaku Keisuke, Inutsuka Ayumu, Yokota-Hashimoto Hiromi, Kikuchi Osamu, Suga Takayoshi, Kobayashi Masaki, Yamanaka Akihiro, Harada Akihiro, Nakagawa Takashi, Onaka Tatsushi, Kitamura Tadahiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Neuronal SIRT1 regulates macronutrient-based diet selection through FGF21 and oxytocin signalling in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4604
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-018-07033-z	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18件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 松居翔、北村忠弘、佐々木努
2. 発表標題 SIRT1 による糖質嗜好性制御メカニズムの解明
3. 学会等名 第24回アディポサイエンス・シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sasaki T, Matsui S, Kohno D, Kitamura T
2. 発表標題 Simple sugar preference is regulated by the FGF21-oxytocin negative feedback system.
3. 学会等名 42nd Annual meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、河野大輔、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 SIRT1による単純糖質嗜好性の制御を担うのは、視床下部室傍核のOxytocinニューロンである
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、河野大輔、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 視床下部室傍核オキシトシンニューロンのSIRT1が糖質嗜好性を制御する
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、河野大輔、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 視床下部室傍核オキシトシンニューロンのSIRT1がシヨ糖嗜好性を制御する
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木努
2. 発表標題 糖を食べたいと思うメカニズム
3. 学会等名 第40回日本臨床栄養学会・第39回日本臨床栄養協会大連合大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sasaki T, Matsui S, Kitamura T
2. 発表標題 Neuronal Sirt1 regulates macronutrient-based diet selection through FGF21 and oxytocin signalling in mice.
3. 学会等名 26th Annual meeting of the Society for the Study of Ingestive Behavior (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、河野大輔、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 SIRT1はシヨ糖摂食選択行動を制御する
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、河野大輔、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 SIRT1はFGF21-NRF2-oxytocinシグナルを介してショ糖嗜好性を制御する
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sho Matsui, Tsutomu Sasaki, Daisuke Kohno, Tadahiro Kitamura
2. 発表標題 Oxytocin neuron in the paraventricular nucleus of the hypothalamus regulates FGF21- and SIRT1-based simple sugar preference in mice
3. 学会等名 Keystone symposium on Functional Neurocircuitry of Feeding and Feeding Disorders (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsutomu Sasaki, Sho Matsui, Daisuke Kohno, Tadahiro Kitamura
2. 発表標題 Neuronal SIRT1 regulates macronutrient-based diet selection through FGF21 and oxytocin signalling in mice
3. 学会等名 Keystone symposium on Functional Neurocircuitry of Feeding and Feeding Disorders (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、橋本博美、河野大輔、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 FGF21によるオキシトシン発現制御機構の解析
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会 (2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsui S, Sasaki T, Kohno D, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T
2. 発表標題 Sirt1 regulates simple sugar selection through FGF21 and oxytocin.
3. 学会等名 Keystone Symposia: Neuronal Control of Appetite, Metabolism and Weight (2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sasaki T, Matsui S, Kohno D, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T
2. 発表標題 Sirt1 suppresses simple sugar preference by regulating oxytocin through NRF2.
3. 学会等名 Keystone Symposia: Aging and Mechanisms of Aging-Related Disease (2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsui S, Sasaki T, Kohno D, Yokota-Hashimoto H, Kobayashi M, Kitamura T
2. 発表標題 Sirt1 regulates simple sugar selection through FGF21 and oxytocin.
3. 学会等名 The 41th Annual meeting of the Japan Neuroscience Society (2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐々木努、松居翔、北村忠弘
2. 発表標題 脳SIRT1による栄養素嗜好性の制御メカニズム
3. 学会等名 第38回日本肥満学会 (2017) (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松居翔、佐々木努、河野大輔、橋本博美、小林雅樹、北村忠弘
2. 発表標題 SIRT1はFGF21-NRF2-oxytocinシグナルを介してシヨ糖嗜好性を制御する
3. 学会等名 第38回日本肥満学会 (2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sasaki T, Matsui S, Kohno D, Kitamura T
2. 発表標題 Brain SIRT1 regulates macronutrient-based diet selection behavior through FGF21, NRF2, and oxytocin.
3. 学会等名 Consortium of Biological Sciences (2017) (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 (門脇孝、山内敏正編) 佐々木努	4. 発行年 2019年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 158
3. 書名 糖尿病学2019	

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻栄養化学分野ホームページ
<http://www.nutrchem.kais.kyoto-u.ac.jp/>

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
---------	---------