

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H02909

研究課題名（和文）油脂の嗜好性が肥満を誘導する機構と肥満を抑制する機構

研究課題名（英文）Mechanism of suppression and induction of obesity by dietary fat

研究代表者

松村 成暢（Matsumura, Shigenobu）

大阪公立大学・大学院生活科学研究科 准教授

研究者番号：70467413

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、油脂の摂取により肥満を抑制する機構と肥満を誘導する機構の解明に取り組んだ。油脂の摂取は褐色脂肪組織および肝臓における脂肪酸酸化を促進することにより、肥満を抑制することを発見した。一方で骨格筋では油脂の摂取による代謝の変化はわずかなものであった。次に脳内の転写因子CREBが油脂欲求と代謝に与える影響を検討した。肥満関連因子であるMC4Rを発現する神経特異的にCREBの活性を抑制すると、マウスの油脂欲求が高まるとともにエネルギー代謝が低下し肥満することが明らかとなった。このことよりMC4R神経のCREB活性が油脂摂取による肥満の鍵となることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により油脂摂取にともない代謝が変化する臓器として肝臓と脂肪組織が明らかとなった。これらの臓器の代謝が肥満予防に重要であるとともに、これらの臓器の代謝不全が肥満の一因となることが予想される。このため、肝臓および脂肪組織の代謝を健全に保つことが健康の維持に重要であると考えられる。また、脳内の一部の神経細胞が油脂欲求を制御していることが明らかとなった。この神経群が油脂摂取による過食の原因であるとともに過食治療の鍵となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We tried to clarify the mechanism that suppresses obesity or promotes obesity by dietary fat ingestion. We found that dietary fat ingestion suppresses obesity by accelerating fatty acid oxidation in brown adipose tissue and liver. In contrast, dietary fat ingestion did not affect skeletal muscle fat metabolism. Next, we examined the role of transcription factor CREB on the addictive behavior for dietary fat. We found that the inhibition of CREB activity only in MC4R neurons caused the increase in fat ingestion and the decrease in energy consumption. Consequently, the mice became obesity. These results suggest that CREB activity in MC4R neurons plays an important role on the regulation of fat ingestion, appetite and energy metabolism.

研究分野：生理学

キーワード：油脂 嗜好 肥満 糖尿病 転写因子

1. 研究開始当初の背景

(1) 味細胞における油脂の受容と嗜好性

油脂を多く含む食品は格別な美味しさ(嗜好性)を持つ。油脂は食品の美味しさを格段に上げる作用を持つがその詳細な機構は不明であった。食品の美味しさを感知するのは舌上に点在する味細胞と呼ばれる細胞である。食品に含まれる特定の物質が味細胞を興奮させ、味覚神経を介して脳へとシグナルが伝達されることによりヒトは美味しさを感じることができるのである。我々の研究グループはこれまでに、脂肪酸輸送担体 CD36、脂肪酸受容体 GPR120 (G-protein coupled receptor120)が舌状の味細胞に発現していることを発見してきた(Fukuwatari et al., 1997 *FEBS Lett*, Matsumura et al., 2008, *Neurosci. Lett*)。さらに油脂は味覚神経を介して脳を刺激し、食欲を調節することを明らかにしている(Sakamoto et al., 2015, *Physiol. Behav*)。これらの結果は油脂が他の5基本味と同様に味細胞を刺激することにより油脂の‘嗜好性’がうまれる可能性を示すものである。これは我々研究グループのオリジナル概念であり、現在では世界中の研究者により受け入れられている(Laugerette et al., 2005 *J Clin Invest*, Cartoni et al., 2010, *J Neurosci*)。

(2) 油脂の嗜好性とストレスがエネルギー代謝に与える影響

これまで油脂の嗜好性が肥満の要因であると考えられてきた。しかしながら、近年、我々はマウスに油脂を好きなだけ自由に摂取させても肥満しないことを発見した。そして、油脂は食欲を増進させると同時に交感神経-褐色脂肪組織熱産生を介してエネルギー消費を増加させることを新たに見出した(Matsumura et al., 2018 *Mol Nutr Food Sci*)。さらに擬似ストレスマウスモデルを作成し、マウスがストレスを受けている状況下で油脂を摂取させると非常に短期間で顕著な肥満になることを発見した。ストレスは脳内摂食促進ペプチドである AgRP (Agouti related protein)を増加させ、油脂への欲求を高めるとともに、エネルギー消費を抑制するという新たな肥満誘導機構を明らかにした。一方で、ストレスを与えていない健全なマウスでは油脂を摂取しても肥満しないことから、油脂の摂取そのものが肥満をもたらすのではなく、ストレスを含めた何らかの身体の不調が合わさることにより肥満が誘導されることが示された。

(3) 転写因子 CREB (cAMP-response element binding protein)が食欲調節およびエネルギー代謝に与える影響

米国 Salk Institute の Marc Montminy 教授らとの共同研究により、脳神経細胞に発現する CREB の活性を阻害すると、油脂への欲求が高まるとともにエネルギー代謝が低下し、顕著な肥満になることが明らかとなっている。神経細胞の CREB は遺伝子発現を介して神経細胞の機能を調節することにより、食欲とエネルギー代謝を制御していることがはじめて明らかとなった。また、褐色脂肪組織に発現する CREB を欠損させると、褐色脂肪細胞に接続する交感神経の密度が増加するとともに血管密度の増加することが明らかとなった。さらに、褐色脂肪細胞の熱産生能力の増強、脂肪燃焼能力の増加が観察された。このような変化によりマウスは油脂を摂取しても全く肥満にならないことを見出した。一方で褐色脂肪組織の CREB を選択的に活性化すると、熱産生能力の低下と脂肪燃焼能力の低下を引き起こし全身のエネルギー消費を低下させた。以上一連の結果より、末梢組織の転写因子 CREB が肥満の一因となることを見出した。

2. 研究の目的

油脂の摂取が交感神経を活性化し、末梢臓器のエネルギー代謝に影響を与えるという仮説を基に、油脂摂取により影響を受ける臓器の特定を行う。この実験は、(1) 油脂摂取が末梢臓器の代謝に与える生理学的な意義の解明を目的とする。また、過食が動物を肥満へと導くが、食事をどれだけ摂取すべきかを決定するのは脳内で摂食を調節する一部の神経群である。そこで、油脂の摂取とストレスがこの神経群の機能変化を引き起こすことが肥満の原因であることを証明する。これにより(2) 嗜好性、摂食調節、ストレス適応という生きる上で最も根本的な要素の間にある相互作用の解明を目指す。

健康のために油脂の摂取を控えることが一般に推奨されている。しかしながら、油脂は食品の嗜好性を著しく高めるため、油脂を控えることは食の楽しみを奪うことになる。本研究の最終目標は油脂の嗜好性とエネルギー代謝調節機構の詳細を明らかにし、食を楽しみながら健康を維持できる方法を探索することである。

3. 研究の方法

(1) 油脂摂取により影響を受ける臓器の特定

我々はこれまで油脂の摂取が交感神経を介して、肩甲骨間褐色脂肪組織の熱産生能力を向上させるとともにエネルギー代謝を活性化させ、エネルギー消費を促進することを明らかとした。これにより動物は油脂摂取により過剰に摂取したカロリーを燃焼することを発見した。動物は多量に摂取した油脂を燃焼させるために褐色脂肪組織の代謝を亢進させることにより代謝適応

を行い、肥満しないことを発見した。しかしながら、褐色脂肪組織だけで全身のエネルギー代謝を制御し、摂取した余剰な脂肪を消費しているとは考えられない。油脂の摂取は特に骨格筋や白色脂肪組織、肝臓にも影響を及ぼしていると考えられる。そこで、油脂を継続的に摂取した後の各臓器の変化を遺伝子レベルで解析を行い、最も影響が強く見られる臓器の特定を行なった。

野生型マウスに油脂を4週間自由摂取させ、褐色脂肪組織、骨格筋、肝臓を採取した。採取した組織より mRNA を抽出し、qPCR により代謝に関連する遺伝子の発現量を調べた。

(2) 交感神経によるアドレナリン受容体を介したエネルギー消費亢進作用の解明

交感神経末端より放出されるノルアドレナリンがアドレナリン受容体に結合すると脂肪燃焼や糖質燃焼の促進、そして熱産生など様々なかたちでエネルギー消費が亢進する。油脂の摂取により代謝が変化する臓器特異的にアドレナリン受容体を欠損させた動物を作製し、油脂嗜好性がエネルギー代謝に与える影響の解明を行なった。

骨格筋において交感神経より放出されるノルアドレナリンはアドレナリン beta2 受容体 (ADRB2) を介して生理作用を発揮する。そこで骨格筋特異的に ADRB2 を欠損するマウスの作成を行なった。このマウスの作成には Cre recombinase およびその標的配列 (loxP) を利用する Cre/loxP システムを応用した。作製した骨格筋特異的 ADRB2 欠損マウス (SM-ADRB2KO) に油脂を摂取させ、体重増加、エネルギー消費量を測定した。また、骨格筋を採取し、代謝に関連する遺伝子の発現量を調べた。

骨格筋や褐色脂肪組織のアドレナリン受容体はリガンドであるアドレナリンやノルアドレナリンが結合すると細胞内 cAMP 濃度を上げることにより様々な生理作用を引き起こす。しかしながら、骨格筋や褐色脂肪細胞の cAMP 上昇がどのような生理作用を持つのか明らかではない。そこで、cAMP を上昇させる作用を持つ G タンパク質の Gs とカップルした Gs-DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) を骨格筋細胞または脂肪細胞特異的に発現したマウスを新たに作成し検討を行った。

骨格筋細胞または脂肪細胞特異的に発現したマウスに DREADD 作動薬である Deschloroclozapine (DCZ) を投与し、呼吸ガス分析装置によりエネルギー消費量を測定した。また DCZ 投与後に組織を採取し、遺伝子発現量を調べた。

(3) 脳神経細胞の機能変化が過食と肥満を誘導する因子の解明

Melanocortin-4 receptor (MC4R) は食欲とエネルギー代謝を調節する脳神経細胞に発現する受容体である。MC4R の遺伝的欠損や変異による機能喪失はヒトやげっ歯類において、過食を誘導し、肥満を招くことが報告されている。MC4R は G タンパク共役型の受容体であり、リガンドとの結合により細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、転写因子 CREB を活性化する。MC4R を発現する神経における CREB が遺伝子発現を介して神経機能を制御し、油脂への欲求を調節しているという仮説を立て検討を行った。本実験では Cre/loxP システムを利用して MC4R 発現細胞特異的に CREB coactivator である CRTC1 (CREB regulated transcription coactivator-1) を欠損したマウスを作製し検討を行なった。

4. 研究成果

(1) マウスに油脂を自由摂取させると、これまでの研究と同様に褐色脂肪組織でエネルギー消費に関わるタンパク質である UCP1 (uncoupling protein-1) の mRNA 発現上昇が確認された。また、脂肪酸取り込みに関連するタンパク質や脂肪酸燃焼に関わるタンパク質の mRNA 上昇が観察された。次に、骨格筋では UCP2 および UCP3 の発現が油脂の摂取により上昇していることが明らかとなった。これに加えて脂肪酸酸化に関わる遺伝子群の増加も観察された。肝臓では UCP2 のおおよび脂肪酸取り込みに関与する CD36 の発現増加が観察された。

これらの結果より、油脂の摂取や褐色脂肪組織のみならず骨格筋や肝臓の脂肪酸代謝に大きな影響を与えていることが明らかとなった。そして、これらの代謝変化により、油脂を大量に摂取する条件下でも動物は恒常性を維持することができる可能性が示された。

(2) 骨格筋特異的 ADRB2 欠損マウス (SM-ADRB2KO) の作成を行なった。骨格筋特異的に cre を発現するマウスと ADRB2 遺伝子の中に loxP 配列を挿入したマウス (ADRB2 floxed マウス) を交配させることにより SM-ADRB2KO マウスを得た。SM-ADRB2KO マウスの骨格筋を解析したところ、ADRB2 の顕著な発現低下が確認された。一方で ADRB1 および ADRB3 はわずかに発現の増加が観察された。また、褐色脂肪組織や肝臓では全ての ADRB に変化は観察されなかった。

SM-ADRB2KO マウスに油脂を与え、体重変化を観察した。油脂摂取により欠損マウスと野生型マウスで体重変化に大きな変化は見られなかった。しかしながら、欠損マウス筋肉内で ADRB1 および ADRB2 の発現増加が確認されたことを鑑みると、これらの受容体が ADRB2 欠損に対し、相補的に働いた可能性が考えられた。以上の結果より、骨格筋は ADRB2 を介して油脂摂取による交感神経活性化の影響をあまり受けないことが明らかとなった。

次に骨格筋の cAMP 濃度の上昇が代謝に与える影響を検討した。この実験を行うにあたり骨格筋特異的 GsDREADD マウス (Muscle-GsD) の作成に取り組んだ。

DREADD 作動薬 DCZ を Muscle-GsD マウスに投与すると骨格筋のみで cAMP 濃度の上昇が確認された。一方で他の臓器、肝臓や脂肪組織では変化が見られなかった。DCZ を Muscle-GsD マウスに投与すると、わずかなエネルギー消費の低下と摂食量の低下が観察された。一方で GsDREADD を発現しないコントロールマウスに DCZ を投与してもエネルギー消費や摂食量に変化はみられなかった。また、DCZ 投与後に骨格筋を採取し、糖代謝や脂肪酸代謝に関わる遺伝子を調べた DCZ 投与による大きな変化は確認できなかった。

次に、脂肪細胞特異的 GsDREADD マウス (Adipo-GsD) でも同様に検討を行った。このマウスに 1 DCZ を投与すると、エネルギー消費の顕著な増大と摂食量の低下が観察された。

以上の結果より細胞内 cAMP 濃度上昇に伴うエネルギー消費の亢進は骨格筋ではあまり起こらず、白色および褐色脂肪組織で強く引き起こされることが示唆された。交感神経が活性化されるとその末端からノルアドレナリンだけではなく様々な神経伝達物質が放出されることが報告されている。このため、ノルアドレナリン以外の神経伝達物質が油脂摂取により放出され骨格筋細胞に作用し、代謝を変化させる可能性が考えられる。もしくは油脂摂取に伴う血液中の遊離脂肪酸やトリグリセライドおよびこれらの代謝産物が骨格筋の代謝を変化させているのかもしれない。

(3) MC4R 神経特異的 CRT1 欠損マウスは市販の標準食を与えて飼育すると野生型マウスと同様の成長、体重増加を示した (図 1)。しかしながら高脂肪食を与えると MC4R 神経特異的 CRT1 欠損マウスは顕著に肥満することが明らかとなった。

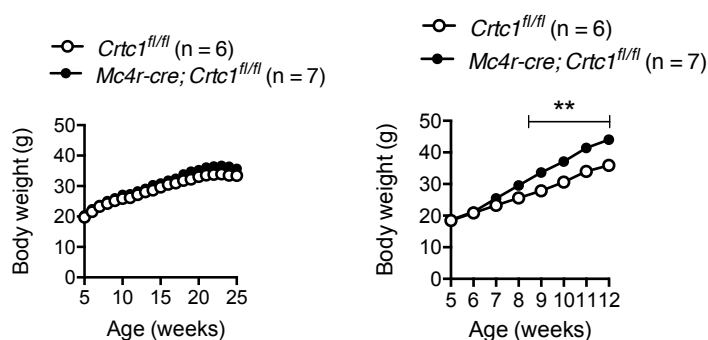


図 1 MC4R 神経特異的 CRT1 欠損マウスの体重変化

MC4R 神経特異的 CRT1 欠損マウスは高脂肪食を過剰に摂取するとともにエネルギー代謝の低下が観察された。このため MC4R 神経の CREB/CRT1 は油脂の過食を抑制し、エネルギー代謝を亢進する役割を持っていることが示唆された。また、MC4R 神経特異的 CRT1 欠損マウスは高脂肪食を摂取することにより高血糖、高インシュリンを示し、糖尿病を発症することが明らかとなった (図 2)。

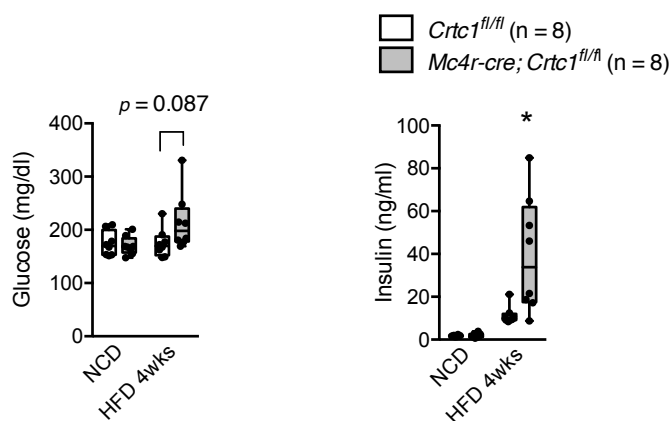


図 2 血清中グルコース濃度およびインシュリン濃度

またグルコース負荷試験およびインシュリン負荷試験により MC4R 神経特異的 CRT1 欠損はグルコース代謝に異常がみられることが明らかとなった (図 3)。

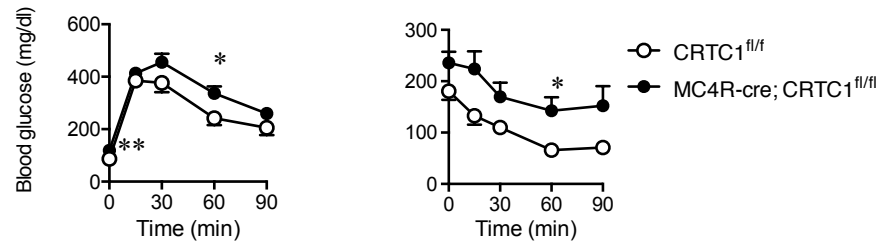


図3 高脂肪食摂取後のグルコース負荷試験（左図）インシュリン負荷試験（右図）

以上の結果より、MC4R 神経の CRTC1 は油脂摂取を調節していること、さらにグルコース代謝を制御していることが示された。CRTC1 は転写因子 CREB の補助因子であることから遺伝子の発現調節を行なっていると考えられる。CRTC1/CREB により発現制御を受ける特定の遺伝子が、油脂摂取とグルコース代謝を制御する因子であると推測されるが、本研究ではどの遺伝子であるのか特定には至らなかった。今後、CRTC1/CREB の標的遺伝子を同定するとともに、油脂摂取調節とグルコース代謝調節がどのような機序で行われているのか検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsumura Shigenobu, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Terkelsen Mike Krogh, Ravnskjaer Kim, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Goto Tsuyoshi, Inoue Kazuo	4. 巻 162
2. 論文標題 Loss of CREB Coactivator CRTC1 in SF1 Cells Leads to Hyperphagia and Obesity by High-fat Diet But Not Normal Chow Diet	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/endo/bqab076	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 該当する
1. 著者名 Yoon Young-Sil, Liu Weiyi, Van de Velde Sam, Matsumura Shigenobu, Wiater Ezra, Huang Ling, Montminy Marc	4. 巻 4
2. 論文標題 Activation of the adipocyte CREB/CRTC pathway in obesity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02735-5	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 該当する
1. 著者名 Tanaka Jin, Ishikawa Fuka, Jinno Tomoki, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Sasaki Tsutomu, Yokokawa Takumi, Goto Tsuyoshi, Inoue Kazuo, Matsumura Shigenobu	4. 巻 17
2. 論文標題 Disruption of CRTC1 and CRTC2 in Sim1 cells strongly increases high-fat diet intake in female mice but has a modest impact on male mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0262577	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 該当する
1. 著者名 Matsumura Shigenobu, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Kyo Satomi, Shima Daisuke, Yokokawa Takumi, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Goto Tsuyoshi, Momma Keiko, Ishihara Kengo, Berdeaux Rebecca, Inoue Kazuo	4. 巻 322
2. 論文標題 Stimulation of Gs signaling in MC4R cells by DREADD increases energy expenditure, suppresses food intake, and increases locomotor activity in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E436 ~ E445
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpendo.00439.2021	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 該当する

1. 著者名 Matsumura Shigenobu, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Kyo Satomi, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Fujita Kotomi, Yokokawa Takumi, Goto Tsuyoshi, Momma Keiko, Takenaka Shigeo, Inoue Kazuo	4. 巻 36
2. 論文標題 CRTC1 deficiency, specifically in melanocortin 4 receptor expressing cells, induces hyperphagia, obesity, and insulin resistance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 e22465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202200617R	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 松村成暢
2. 発表標題 CREB coactivator CRTC1欠損マウスは高脂肪食摂取により糖尿病を発症する
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

〔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
研究分担者	佐々木 勉 (Sasaki Tsutomu) (20534879)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授 (14401)	

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