

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580143

研究課題名（和文） ビート食物繊維は視床下部レプチンレセプター発現増加によりラットの食欲を低下させる

研究課題名（英文） Beet dietary fiber decreased body fat and increased hypothalamic gene expression of leptin receptor in rats.

研究代表者

岸田 太郎 (KISHIDA TARO)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：80304658

研究成果の概要（和文）：

レプチンレセプター（Ob-Rb）が機能欠損したラットではビート食物繊維（BF）の摂取エネルギーおよび体脂肪低下作用が消失し、作用機構において Ob-Rb 発現増加が支配的な役割を果たしていることが強く示唆された。BF 摂取により視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現が増加した際、各食欲関連因子の遺伝子発現の変動が確認された。迷走神経遮断実験により、BF の摂取エネルギー低下作用と視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現増加に迷走神経を介した脳-腸間の連絡は必要ないことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Lack of leptin receptor (Ob-Rb) function canceled effects of dietary beet fiber on energy intake and body fat. Ob-Rb might play predominant role in the mechanism. Dietary BF increased hypothalamic Ob-Rb gene expression and modified appetite regulating factors. Vagus nerve blocking technique revealed that brain-gut connection via vagus nerve might not be necessary to effects of dietary beet fiber on energy intake and body fat.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食物繊維、摂取エネルギー、レプチン、視床下部、ラット

1. 研究開始当初の背景

食物繊維の抗肥満効果

食物繊維の日常的な摂取が肥満の防止に有効である可能性が多くの疫学的調査や臨床試

験により報告されている1)。多くの食物繊維は食餌エネルギー密度低下、咀嚼回数の増加、胃の膨満感の増長、胃排泄や栄養素吸収の遅延により満腹感を長時間維持することにより

エネルギー摂取量を低下させるためであろうと考えられているが、その機構は未だ明確ではない2)。

1)Howarth NC, Saltzman E, Roberts SB., Dietary fiber and weight regulation., Nutr Rev., 59(5), 129-139, 2001.

2)Burton-Freeman B., Dietary fiber and energy regulation. J Nutr., 130(2S Suppl), 272S-275S, 2000.

食欲/脂肪燃焼/蓄積の制御

図1のように、消化管や脂肪組織で感知されたエネルギーの充足状況はホルモンや血糖値、迷走神経系シグナルとして視床下部での神経伝達物質の発現を刺激し、食欲や脂肪燃焼/蓄積を制御する3)。特に脂肪組織から分泌される食欲抑制ホルモン・レプチンは長期的なエネルギー恒常性の維持に重要な役割を果たしており、近年盛んに研究されている3)。レプチンは、他の食欲制御因子と相互作用していることがわかっており、インリン、コレシストキニン等の短期的なエネルギー摂取にตอบสนองする食欲抑制ホルモンと協調して作用することが報告されている。この機構もまだ明確ではないが、レプチンレセプターと相互作用し、レプチンの感受性を修飾している可能性が示唆されている。

3)Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, Brzozowski T., Brain-gut axis and its role in the control of food intake. J Physiol Pharmacol. 2004 Mar;55(1):137-54.

ビート食物繊維の混餌投与はラットの摂取エネルギーおよび体脂肪を低下させ、この際視床下部レプチンレセプター遺伝子発現の上昇が見られた。

先に我々は砂糖大根よりの製糖副産物であるビート食物繊維が摂取エネルギーおよび体脂肪を長期間にわたって低下させることを見出したが、この際同時に視床下部のレプチンレセプターの遺伝子発現が上昇した。

2. 研究の目的

ビート食物繊維摂取による視床下部レプチンレセプター遺伝子発現の増加は摂取エネルギー量の低下に関与しているか、またいかにして視床下部レプチンレセプター遺伝子発現を変更しうるのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) レプチン感受性欠損ラットを用いたビート食物繊維の抗肥満効果の機構の解明

レプチンレセプター欠損により過食制の肥満を引き起こす Zucker-obese ラットおよびその原生種 Zucker-lean ラットを20%高脂肪食で飼育し、ビート食物繊維を1~15%混餌投与し、8~12週間飼育し、飼料摂取量、体重増加量および体脂肪率を比較した。食欲調節ホルモン・CCKの感受性欠損により過食性の肥満を引き起こす OLETF およびその原生種 LETO ラットについても同様の実験を行った。

(2) 視床下部の食欲関連パラメーターのプロファイルの解析

SD系オスラット6週令に(1)と同様にビート食物繊維を混餌投与し、比較的短時間の様々なタイミングで経時的に脳をサンプリングし、視床下部での食欲制御に関わる神経伝達物質およびレプチンレセプターの遺伝子発現の定量をリアルタイム RT-PCR法で行い、レプチンの感受による摂食促進神経伝達物質 NPY、AGRP の減少や摂食抑制神経伝達物質 POMC、CART の発現上昇の有無を調べた。

(3) 迷走神経遮断実験による脳-腸連絡の経路の検討

迷走神経切断術またはカプサイシン投与を施した動物を用いて、いかなる経路にて視床下部レプチンレセプター遺伝子発現が変

更しているか検討した。

4. 研究成果

(1) レプチン感受性欠損ラットを用いたビート食物繊維の抗肥満効果の機構の解明

ビート食物繊維はレプチンレセプター正常動物においては摂取エネルギーを低下させ続けたが、レプチンレセプター欠損動物ではこの効果が消失した(図1)。この際、視床下部レプチンレセプターob-Rbの遺伝子発現は正常動物ではビート食物繊維が有意に上昇させたが、欠損動物では影響は見られなかった(図2)。これに対し、コレシストキニンの機能欠損動物ではビート食物繊維の摂取エネルギー低下作用は失われることは無かった(図3)。ビート食物繊維の摂取エネルギー低下作用の発現にはレプチンレセプターが正常に機能している必要があることが明らかになった。

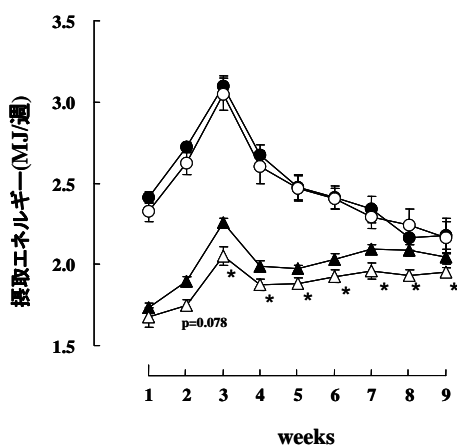


図1 レプチンレセプター欠損および正常ラットの摂取エネルギーに与えるビート食物繊維摂取の影響 丸印はレプチンレセプター欠損ラット、三角印はレプチンレセプター正常ラット、黒塗は無繊維食群、白抜はビート食物繊維添加食群を示す。*は同じラット種間で無繊維食群とビート食物繊維群との間にスチューデントの t-検定で有意差が認められたことを示す。

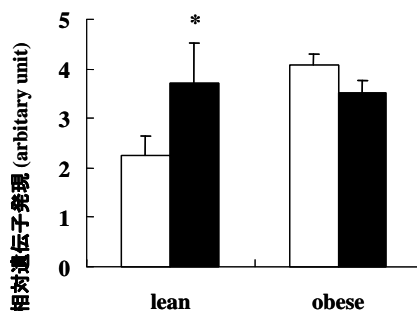


図2 レプチンレセプター欠損および正常ラットの視床下部 ob-Rb 遺伝子発現に与えるビート食物繊維摂取の影響 *は同じラット種間で無繊維食群とビート食物繊維群との間にスチューデントの t-検定で有意差が認められたことを示す。

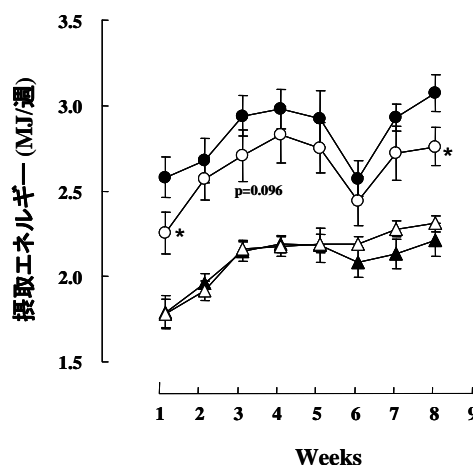


図3 コレシストキニンレセプター欠損および正常ラットの摂取エネルギーに与えるビート食物繊維摂取の影響 丸印はレプチンレセプター欠損ラット、三角印はレプチンレセプター正常ラット、黒塗は無繊維食群、白抜はビート食物繊維添加食群を示す。*は同じラット種間で無繊維食群とビート食物繊維群との間にスチューデントの t-検定で有意差が認められたことを示す。

(2) 視床下部の食欲関連パラメーターのプロファイルの解析

無繊維食では一日大きな変動が無かったのに対し、ビートファイバー摂取では自由摂取下でもっとも飼料摂取が頻繁な暗期の中

ろにピークとなるなどらかな変動が見られた。レプチンレセプター遺伝子発現の増加と同時またはこれに引き続いて、レプチンレセプターにその発現が調節されていることが明らかになっている食欲抑制因子 CRH および POMC が有意に増加し、食欲促進因子 NPY、AGRP にも低下の傾向が見られた (図 4)。

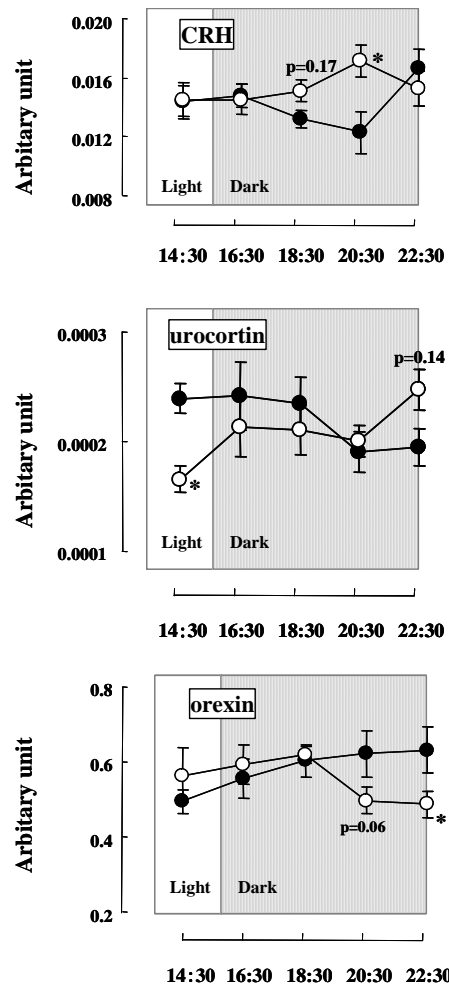
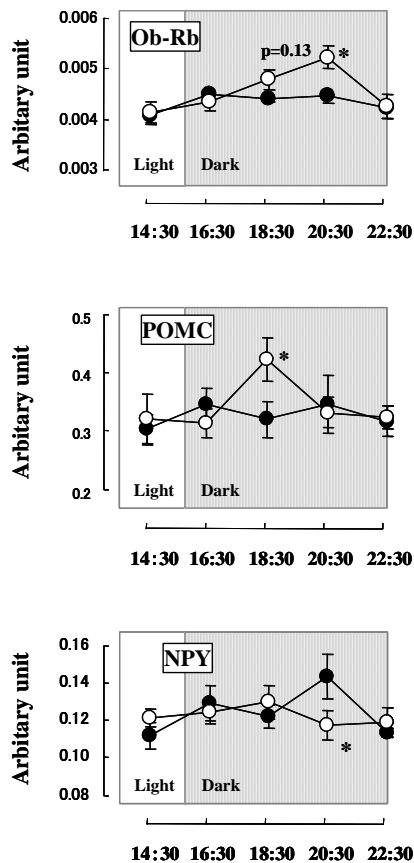


図 4 ビートファイバー摂取による摂食繁忙期(暗期)の視床下部食欲関連遺伝子発現の変動

6週令のSD系オスラットを予備飼育の後4週間、AIN-93G組成の飼料のセルロースを除き、コーン油で油脂含量を20%まで強化した無繊維-高脂肪飼料(●)またはこれに飼料全体との置き換えで食物繊維として5%となるようにビートファイバーを添加した飼料(○)を与えて、3:00~15:00を明期とした明暗サイクル下で飼育した。各飼料群について8匹ずつ5組のラットを用意し、暗期開始30分前より3時間毎に逐次解剖し視床下部をサンプリングした。

(3)迷走神経遮断実験による脳-腸連絡の経路の検討

迷走神経切断術を施すと BF の摂取エネルギー低下作用は消失したが、視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現の上昇は温存された (図 4)。摂取エネルギーは迷走神経切除により有意に低下しており、本質的に神経遮断により摂取エネルギー低下作用が消失したのではなく、摂取エネルギーが低下してしまったことにより BF が作用する余地がなくなった可能性がある。今後手術方法を再検討する必要がある。カプサイシン投与により迷走神経を遮断しても摂取エネルギー低下効果は全く失われなかったが、視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現の上昇は失われた (図 5)。摂取エネルギー低下に迷走神経により脳-腸連絡が必要ない可能性が強く示唆された一方、視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現の上昇は失われたにもかかわらず摂取エネルギーの低下作用が見られたことはレプチンレセプター欠損ラットによる結果と大きく矛盾する。

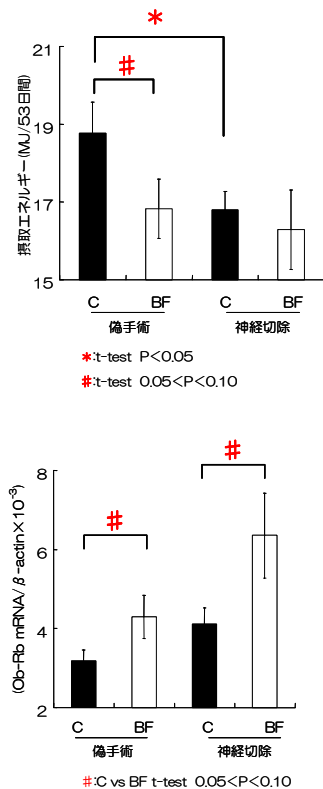


図 4 迷走神経切断術が BF の摂取エネルギー

一および視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現に与える影響

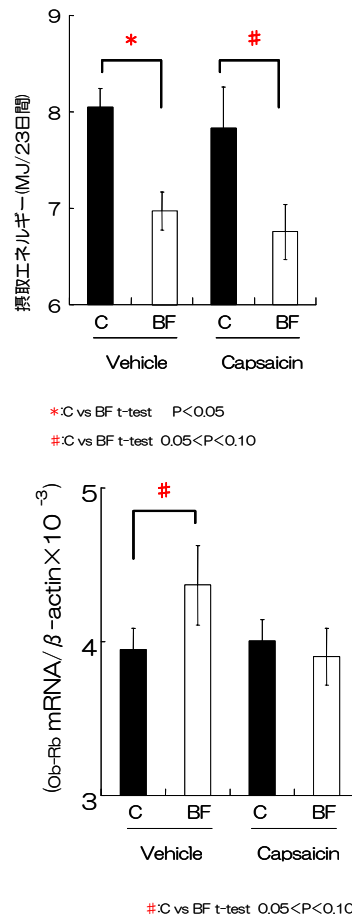


図 5 カプサイシン投与が BF の摂取エネルギーおよび視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現に与える影響

摂取エネルギー低下に迷走神経により脳-腸連絡が必要ない可能性が強く示唆された一方、視床下部 Ob-Rb 遺伝子発現の上昇は失われたにもかかわらず摂取エネルギーの低下作用が見られたことはレプチンレセプター欠損ラットによる結果と大きく矛盾する。今後詳細な解析が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

①岸田 太郎、水重 貴文、瀬島 浩一、海老原 清、自由摂取および 2 食制摂取においてビート食物繊維がラット体脂肪を低下さ

せ、この際視床下部レプチンレセプター遺伝子発現の増加が観察された、日本食物繊維学会誌（印刷中）、査読あり

② Mizushige T, Kawabata F, Uozumi K, Tsuji T, Kishida T, Ebihara K: Fast-twitch muscle hypertrophy partly induces lipid accumulation inhibition with Alaska Pollack protein intake in rats. *Biochem Res* 31(6), 347-352 (2010)、査読あり

〔学会発表〕（計 8 件）

① 柿原 文耶、小原 祐香、藤田 悠祐、森裕貴、岸田 太郎、海老原 清：食餌性肥満飼料におけるビートファイバーの摂取エネルギー低下効果～3食制限食餌条件からのアプローチ～、第 44 回日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会、岡山、2011 年 11 月 12-13 日、講演要旨集、19

② 小原祐香、森 裕貴、藤田 悠祐、水重 貴文、海老原 清、岸田 太郎：ビートファイバー摂取エネルギー低下効果と食餌性肥満度との関連性、第 65 回日本栄養・食糧学会大会、東京、2011 年 5 月 13-15 日、講演要旨集、121.

③ 岸田 太郎、海老原 清、ルミナコイドのコレステロール低下作用、コレステロール研究会（第 64 回日本栄養・食糧学大会関連集会）、徳島、2011 年 5 月 13-15 日.

④ 森 裕貴、小原 祐香、藤田 悠祐、森本明代、岸田 太郎、海老原 清：ビートファイバーの摂取エネルギー低下効果に対する消化管内容物粘性の関与、第 15 回、日本食物繊維学会学術集会、札幌、2010 年 11 月 23-24 日、講演要旨集、s94-s95

⑤ 小原 祐香、森 裕貴、藤田 悠祐、水重 貴文、岸田 太郎、海老原 清：ビートファイバーの摂取エネルギー低下効果と飼料中の α -コーンスターチの特性の関連、第 15 回日本食物繊維学会学術集会、札幌、2010 年 11 月 23-24 日、講演要旨集、s92-s93

⑥ 小原 祐香、森 裕貴、藤田 悠裕、水重 貴文、岸田 太郎、海老原 清：ビートファイバーの摂取エネルギー低下効果～食餌性肥満度の違いによる解析～、第 43 回日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会、高知、2010 年 11 月 6-7 日、講演要旨集、16

⑦ 森 裕貴、小原 祐香、藤田 悠裕、水重 貴文、岸田 太郎、海老原 清：ビートファイバーの摂取による血液および脳髄液中のレプチン変動、第 43 回日本栄養・食糧学会

中国・四国支部大会、高知、2010 年 11 月 6-7 日、講演要旨集、16

⑧ 森 裕貴、小原 祐香、藤田 悠祐、森本明代、岸田 太郎、海老原 清：ビートファイバー摂取による摂取エネルギー低下作用の機構解明-消化管ホルモンに与える影響-第 64 回日本栄養・食糧学会大会、徳島、2010 年 5 月 21-23 日、講演要旨集、122.

〔図書〕（計 1 件）

① 岸田 太郎：ルミナコイドによる摂食行動の調節、「ルミナコイド研究のフロンティア：食物繊維・オリゴ糖・レジスタントスターチの最新研究動向」（海老原清、早川享志。奥恒行編集）PP194-207、建白社、2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸田 太郎 (KISHIDA TARO)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：80304658