

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14805

研究課題名（和文）大豆イソフラボン腸内細菌代謝物エコール抱合体の雌特異的食欲抑制作用の機構解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of female-specific anorectic effect of the microbial-derived isoflavone metabolite S-Equol

研究代表者

藤谷 美菜 (Fujitani, Mina)

愛媛大学・農学研究科・講師

研究者番号：70737402

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：大豆イソフラボン・ダイゼインの摂取が雌ラットにおいて食欲を抑制するメカニズムには、ラットでは雌特異的に生成されるエコール4'位グルクロン酸抱合体が重要な役割を果たしていることが示唆された。また、本作用への視床下部ウロコルチンの関与については否定的な結果が得られたものの、これに関しては実験系を再検討し、さらなる研究が必要である。本研究は、食品中の非栄養素と食欲調節機構との相互作用を理解するために重要な知見を提供するものであり、今後の研究においてこれらの知見がさらに深められることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

過食の防止は肥満をはじめとした生活習慣病の予防・改善に重要であるが、長期間食欲をコントロールし続けることは容易ではない。大豆イソフラボンのダイゼインの摂取が遺伝子変異およびエストロゲン欠乏による過食性の肥満ラットでも長期に渡って食欲と体重を低下させることから、この作用メカニズムを解明できれば、新規の肥満予防および改善法の確立に貢献できると考えられる。本研究では食欲抑制作用にはダイゼインの代謝物が関与していることが強く示唆されたが、この成果は抗肥満を志向した機能性食品の開発にのたために基礎的知見を提供するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The study indicates that the mechanism by which dietary soy isoflavone daidzein suppresses appetite specifically in female rats involves the equol 4'-glucuronide conjugate, a female-specific equol metabolite in rats. Although the findings did not support the role of hypothalamic urocortin in this anorectic effect, this requires further investigation and reconsideration of the experimental design. This study provides significant insights into the interaction between non-nutrient compounds in food and appetite regulation mechanisms, and it is anticipated that future studies will further elucidate this interaction.

研究分野：栄養科学

キーワード：大豆イソフラボン 食欲 抱合体 エコール 胃排出 ウロコルチン

1. 研究開始当初の背景

肥満は、耐糖能障害、脂質異常症、高血圧、冠動脈疾患、脳梗塞など、さまざまな疾患の危険因子であり健康維持・増進のために肥満の予防・対策は重要であることが広く一般に認識されているにも関わらず、日本だけでなく世界各国で肥満者の割合は減少しておらず、むしろ増加している。肥満は、摂取エネルギーが消費を上回った結果として起こることから、その予防・対策として食欲をコントロールしエネルギーの過剰摂取を抑えることが重要と考えられるが、長期間食欲をコントロールし続けることは容易ではない。食欲制御メカニズムが解明され、理想的な肥満予防・対策法が確立されることが望まれている。

食欲制御メカニズム解明を目指し、消化管と脳とのネットワークについて精力的に研究されているが、食品中の非栄養素が食欲とどのようなかわりを持っているかについてはまだまだ知見が少ない。我々は、雌ラットにおいて大豆イソフラボン腸内細菌代謝物エコールが、胃排出を遅延させ、胃が食物で満たされているとき特異的に飼料摂取量を減少させることを見出した。本研究は、エコールが「なぜ雌特異的に」「なぜ胃が食物で満たされているとき特異的に」食欲を抑制するのかを明らかにすることを目的とし、非栄養素が食欲制御メカニズム、特に脳視床下部の食欲制御系にどのようにして影響を与えるのかを追求するものである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、大豆イソフラボン・ダイゼイン摂取による雌特異的なラットの食欲抑制作用の機構を解明することである。先の研究において、ダイゼイン摂取による食欲抑制作用には胃内容排出の遅延が関与している可能性が示された。さらに、食欲抑制と胃排出遅延に關与する視床下部ウロコルチンの遺伝子発現の有意な増加が見られた。プレプログレリンに由来するデスアシルグレリンやオベスタチンは視床下部ウロコルチンニューロンの活性化を介して胃排出を遅延させ食欲を抑制することが報告されているが、ダイゼインを摂取したラットで小腸粘膜プレプログレリン遺伝子発現の有意な増加が見られた。これらのことから、ダイゼイン摂取により小腸粘膜プレプログレリン遺伝子発現が増加することで、オベスタチンおよびデスアシルグレリンの分泌が増加し、それらが視床下部ウロコルチン遺伝子発現を増加させ、食欲抑制作用を起こす可能性が考えられた。そこで、本研究では、ダイゼイン摂取により視床下部ウロコルチン遺伝子発現の増加が見られた際に、小腸粘膜プレプログレリン遺伝子発現および血中オベスタチン、デスアシルグレリン濃度が増加するのかを検討した。また、ダイゼイン摂取による食欲抑制作用に視床下部ウロコルチンが関与するのかを明らかにするため、ウロコルチン受容体の阻害剤を中枢投与し、ウロコルチンの作用をブロックしたときにはダイゼインの食欲抑制作用が見られるのかを検討した。この際、ラットの摂食タイミングを揃えるため制限食条件で実験を行ったが、制限食下でウロコルチン受容体の阻害剤を投与した報告はほぼなく、実験系の妥当性を確認する必要があったため、ウロコルチン受容体阻害剤の投与がウロコルチンの食欲抑制作用を打ち消すのかも検証した。

ラットが摂取したダイゼインは腸内細菌によりエコールへと代謝され、さらにエコールは肝臓や小腸で抱合体へと代謝される。先の研究で、エコールは4'位グルクロン酸抱合体と7'位硫酸抱合体として大部分が腸肝循環中に存在すること、4'位グルクロン酸抱合体は雌ラットにおいて卵巣の有無を問わず胆汁中でメジャーな抱合体であるが、雄ではほとんど存在しないことから、我々は、腸肝循環しているエコール4'位グルクロン酸抱合体が雌特異的な食欲抑制作用に關与すると推測しているが、体循環中エコールについてはこれまで抱合体濃度を検討してこなかった。また、ラットの肝臓UDPグルクロン酸トランスフェラーゼ2B1(Ugt2b1)がエコールの4'位グルクロン酸抱合体への代謝に關与していることが報告されているが、Ugt2b1遺伝子発量の雌雄差については不明であった。そこで、本研究では、Ugt2b1遺伝子発現とエコールの抱合体代謝が雌雄でどのように異なるのか、それらは卵巣摘出によって変化するのかを検討した。

3. 研究の方法

研究1では、6週齢雌SD系ラットをダイゼイン無添加または添加飼料(300mg/kg飼料)を与え、2食制(1日2食各1時間、食間2時間)で1週間飼育した。解剖は2食目摂食中に行い、飼料摂取量、視床下部ウロコルチン遺伝子発現、小腸粘膜プレプログレリン遺伝子発現、血中オベスタチンおよびデスアシルグレリン濃度を測定した。

研究2では、中枢ウロコルチンがダイゼインの食欲抑制作用に關与するかを検証するため、雌SD系ラットの側脳室にカニューレを留置し、ダイゼイン無添加または添加飼料を与えて6週間制限食下で11日間飼育した。本研究ではクロスオーバー法を用いた。ダイゼイン摂取による食欲抑制作用は摂食開始2時間以降で見られたため、ダイゼイン摂取7、11日目の摂食開始2時間後に対照群およびダイゼイン群にリン酸緩衝生理食塩水またはウロコルチン受容体阻害剤(Astressin 2B)を脳室内投与し、飼料摂取量を測定した。また、制限食下でのウロコルチンおよびAstressin 2Bの効果を確認するため、クロスオーバー法を用いて飼育開始1、5、9日目の摂食開始直前にリン酸緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水+ウロコルチン、Astressin 2B+

ウロコルチンを脳室内投与し、飼料摂取量を測定した。

研究 3 では、Ugt2b1 mRNA 発現とエコールの抱合体代謝が雌雄でどのように異なるのかを明らかにするため、まず、雌雄 SD 系ラットをダイゼイン無添加または添加飼料 (150 mg/kg 飼料) で 2 週間飼育し、肝臓 Ugt2b1 mRNA 発現と血中エコール抱合体濃度を測定した。次に、卵巣摘出ラットをダイゼイン無添加または添加飼料 (150 mg/kg 飼料) で、偽手術ラットをダイゼイン無添加飼料で 4 週間飼育し、肝臓 Ugt2b1 発現と血中エコール抱合体濃度を測定した。

4. 研究成果

研究 1 の成果

飼料摂取量は、1 食目ではダイゼイン摂取による影響は見られなかったが、2 食目ではダイゼイン摂取により有意に減少していた。そこで、2 食目摂食中の視床下部を採取したところ、以前の実験と同様にウロコルチンの遺伝子発現がダイゼイン摂取により増加していた。小腸粘膜プレプログレリン遺伝子発現もダイゼイン摂取によって増加したが、デスアシルグレリンやオベスタチンの血中濃度にはダイゼイン摂取の影響は見られなかったため、これらはダイゼイン摂取による視床下部ウロコルチン遺伝子発現の増加および食欲抑制作用に関与しないと考えられた。しかし、オベスタチンは血液だけでなく迷走神経を介して視床下部ウロコルチンニューロンを活性化させる報告もあるため、迷走神経を介してオベスタチンが作用し、視床下部ウロコルチンを増加させることでダイゼインによる食欲抑制作用が起こる可能性も考えられる。

研究 2 の成果

Astressin 2B を投与した直後から 4 時間の飼料摂取量を測定した結果、リン酸緩衝生理食塩水および Astressin 2B 投与のどちらにおいてもダイゼイン摂取によって飼料摂取量が有意に低下し、Astressin 2B によってダイゼインの食欲抑制作用は阻害されなかった。また、制限食下でのウロコルチンおよび Astressin 2B の効果を確認しようと試みたが、リン酸緩衝生理食塩水のみでの投与と比較してウロコルチン投与による飼料摂取量低下は見られず、Astressin 2B 投与によるウロコルチンの作用の阻害は確認されなかった。ダイゼインの食欲抑制作用は視床下部ウロコルチン遺伝子発現増加によるものではない可能性が示唆されたが、6 時間制限食下でウロコルチンおよび Astressin 2B の効果を確認できておらず、今後両者の効果が確認できる系での再検討が必要である。

研究 3 の成果

肝臓 Ugt2b1 mRNA 発現にダイゼイン摂取の影響は見られなかったが、雄に比して雌で有意に高かった。雌ラットにおいて、胆汁中と同様に血中でもエコール 4'位グルクロン酸抱合体がメジャーであった。肝臓 Ugt2b1 mRNA 発現は卵巣摘出により低下した。卵巣摘出ラットの血中でもエコール 4'位グルクロン酸抱合体がメジャーであったが、雌無手術ラットと比較してその濃度は低かった。これらのことから、ダイゼインの雌特異的食欲抑制作用には雌特異的に体内に存在するエコール 4'位グルクロン酸抱合体が重要であり、その生成には雌で発現量の多い肝臓 Ugt2b1 が関与していることが示唆された。

研究 1、2、3 から、大豆イソフラボン・ダイゼインの摂取が雌ラットにおいて食欲を抑制するメカニズムには、腸肝循環中のエコール 4'位グルクロン酸抱合体が重要な役割を果たしていることが示唆された。また、視床下部ウロコルチンの関与については否定的な結果が得られたものの、これに関しては実験系を再検討し、さらなる研究が必要である。本研究は、食品中の非栄養素と食欲調節機構との相互作用を理解するために重要な知見を提供するものであり、今後の研究においてこれらの知見がさらに深められることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Fujitani Mina, Mizushige Takafumi, Adhikari Sudhashree, Bhattarai Keshab, Kishida Taro	4. 巻 12
2. 論文標題 Mechanism of Soy Isoflavone Daidzein-Induced Female-Specific Anorectic Effect	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 252 ~ 252
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/metabo12030252	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木遥, 石田彩華, 林真理, 金子菜奈, 得能真思, 藤谷美菜, 岸田太郎
2. 発表標題 大豆イソフラボン腸内細菌代謝物エコールの雌特異的食欲抑制作用の機構解明 胃排出遅延の関与と視床下部ウロコルチンおよび消化管ホルモンの関与について
3. 学会等名 日本ポリフェノール学会 第14 回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石田彩華, 屋敷哲良, 鈴木 遥, 藤谷美菜, 岸田太郎
2. 発表標題 大豆イソフラボン・ダイゼイン摂取による雌特異的な食欲抑制作用の機構解明 胃排出遅延と食欲低下の関連性の検討
3. 学会等名 第54回日本栄養・食糧学会 中国・四国支部大会 第7回日本栄養改善学会四国支部学術総会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤谷美菜, 鈴木遥, 石田彩華, 林真理, 吉良真結, 屋敷哲良, 阿部恭大, 小林拓広, 岸田太郎
2. 発表標題 ダイゼイン摂取は卵巣摘出ラットの胃排出を遅延させ、食欲を抑制する
3. 学会等名 日本農芸化学会 2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田さゆり、屋敷哲良、小林拓広、金子菜奈、石田彩華、林真理、山本暁音、八塚愛実、藤谷美菜、岸田太郎
2. 発表標題 ダイゼイン腸内細菌代謝産物エコールの雌特異的食欲抑制作用の機構解明－雌特異的に胆汁に存在するエコール4'位グルクロン酸抱合体の作用への関与－
3. 学会等名 第56回日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会
4. 発表年 2023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

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