

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：32682

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19710

研究課題名(和文)視床下部機能制御を標的とする食シグナル学の構築：次世代型機能性食品開発に向けて

研究課題名(英文)Construction of food signal science targeting hypothalamic function

研究代表者

金子 賢太郎(Kaneko, Kentaro)

明治大学・農学部・専任講師

研究者番号：30636999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は最近、腸管ホルモンGIPによる視床下部ホルモン感受性制御機構を解明し、視床下部ホルモン感受性が腸脳連関による内・外因性リガンドの制御下にあることを示した。そこで本研究では、食由来成分とレプチンの視床下部での相互作用実態の解明を目指し、独自の視床下部器官培養系を用い、視床下部レプチン感受性を亢進するペプチドYHIEPVを同定した。YHIEPVを肥満マウスに経口投与することにより、視床下部のRap1、炎症性サイトカイン、SOCS-3活性化を抑制することでレプチン感受性を改善し、抗肥満効果を発揮することを見出した。本研究より、食による視床下部Rap1系を介したレプチン感受性制御機構を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

視床下部の食欲中枢機能は栄養情報を脳に伝えるホルモンにより制御されている。我々は研究期間全体において、植物由来の食品タンパク質を経口摂取することにより消化管において派生する食由来シグナルが視床下部Rap1活性化を抑制することでレプチン感受性を改善し抗肥満効果を発揮することを明らかにした。本研究を端緒とすることで、食成分がシグナル分子として視床下部のホルモン感受性制御を行っているという新しい概念を提示することが可能となり、食シグナル学という新しい研究領域の創設を行っていきたい。さらには、植物性食資源を従来とは違った視点から有効活用できることから、SDGsの達成に貢献できるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Recently, we have clarified the regulation mechanism of hypothalamic hormone sensitivity by the intestinal hormone GIP and demonstrated that hypothalamic hormone sensitivity is under the control of endogenous and exogenous ligands through gut-brain linkage. In this study, we aimed to elucidate the interaction between food-derived components and leptin in the hypothalamus. We found that oral administration of food-derived YHIEPV to obese mice improved leptin sensitivity by suppressing activation of hypothalamic Rap1, inflammatory cytokines, and SOCS-3, and exhibited anti-obesity effects. Therefore, we demonstrated that food-derived signal regulates leptin sensitivity via the hypothalamic Rap1 system.

研究分野：栄養生化学

キーワード：レプチン感受性 視床下部 抗肥満 食シグナル Rap1

## 1. 研究開始当初の背景

視床下部の食欲制御ニューロンの機能は栄養状態を伝えるホルモンにより調節され、特に、食欲抑制ホルモンであるレプチンやインスリンが重要であると考えられている。一方、グルコースや脂肪酸等の食成分も視床下部ニューロンを直接活性化し、食欲制御に関わっている。つまり、視床下部でホルモンと食成分によるシグナル伝達は密接な相互連関により食欲を制御しているものと考えられるが、その分子的全容は未解明である。

研究代表者は現在まで一貫して視床下部における栄養異常や食成分による食欲制御機構を研究し、最近、高脂肪食による視床下部の低分子量 G タンパク質 Rap1 の活性化がレプチン感受性障害と肥満の発症に関わることを Rap1 の遺伝学的・薬理的阻害により明らかにした (*Cell Rep* 2016)。さらに Rap1 活性化因子を探索し、高脂肪食誘導肥満において腸管ホルモン GIP が Rap1 経路を介してレプチン・インスリン感受性を障害する液性因子であることを解明した (*J Clin Invest* 2019, *Endocrinology* 2020, *JCI Insight* 2021)。本研究の重要性は、視床下部のホルモン感受性制御機構が腸脳連関を介した内因性リガンドのみならず外因性リガンドの制御下にある可能性を示したことにある。

## 2. 研究の目的

視床下部の食欲中枢機能は栄養情報を脳に伝えるホルモンにより制御されている。しかし、高脂肪食摂取等の過栄養状態においては、脂肪細胞から分泌される抗肥満ホルモンのレプチンの視床下部における感受性が障害される結果、過食や体重増加が惹起される。上述の通り、我々は最近、腸管ホルモン GIP の視床下部 Rap1 活性化を介したホルモン感受性制御機構を解明し、視床下部のホルモン感受性が腸脳連関を介した内因性・外因性リガンドの制御下にあること示した。そこで本研究では“食品由来リガンドによる視床下部 Rap1 経路を介したホルモン感受性の制御”という仮説を提唱し、食シグナルとレプチンシグナルの視床下部における相互作用の実態解明と食による抗肥満作用の実証を目指した。

## 3. 研究の方法

(1) *ex vivo* 視床下部器官培養系は、マウス新生仔 (約9日齢)より作製した視床下部スライス (250  $\mu$ m)を用いており、*in vivo* に極めて近い条件で視床下部における細胞内ホルモン感受性を評価できる研究代表者独自の実験系である。本評価系を用い、食由来成分の視床下部レプチン感受性への効果を解析した。具体的には、食成分で前処理した後にレプチン依存性 STAT3 リン酸化を指標として、免疫組織化学、ウェスタンブロット、qPCR 等によりレプチンシグナル伝達における食成分の効果を体系的に解析した。

(2) 普通食飼育ならびに高脂肪食誘導肥満マウス個体に食由来成分を経口/腹腔内/脳室内投与することにより、体重増加やレプチン感受性への効果を検証した。レプチン感受性評価については、肥満マウス個体に食成分を経口投与した後、レプチンを脳室内投与することにより、レプチン依存的な体重減少効果、摂食抑制効果、視床下部 STAT3 リン酸化を指標に解析を行った。脳室内投与の場合は、麻酔下においてガイドカニューラを側脳室に留置した後、1週間以上の回復期間を経て実験を実施した。

(3) 高脂肪食誘導マウスに食成分を経口/脳室内投与した後の視床下部サンプルを用い、レプチンシグナルの阻害因子として知られている SOCS-3 や炎症性サイトカイン、低分子量Gタンパク質 Rap1 の影響を解析した。

#### 4. 研究成果

(1) 食品由来成分と視床下部におけるレプチンシグナルの相互作用の実態解明とその視床下部分子メカニズムの解明を目指して実験を行った結果、緑葉タンパク質ルビスコの消化管酵素消化によって派生する6残基ペプチドYHIEPVが視床下部の細胞内レプチン感受性を増強することを明らかにした。独自の視床下部器官培養系を用い、コントロール群と比較してYHIEPV添加群では、レプチンによるSTAT3リン酸化の有意な増強を確認した。さらには、高脂肪食の主要脂質であり、かつ、炎症反応を惹起するパルミチン酸が視床下部器官培養系においてレプチン抵抗性を誘導することを示すとともに、パルミチン酸によるレプチン抵抗性の誘導がYHIEPVの共添加によって改善することを見出した。これらの結果より、緑葉由来ペプチドYHIEPVが視床下部における細胞内レプチン感受性を増強することを明らかにした。

(2) 次にマウス個体を用いた検討を実施した。高脂肪食飼育マウスにおいては、レプチン単独投与によるSTAT3リン酸化の有意な増加を確認できず、本マウスにおいてレプチン感受性が減弱していることを確認した。一方、YHIEPVを経口投与した群ではレプチンによる有意なSTAT3リン酸化を確認し、YHIEPVがマウス個体においてもレプチン感受性を増強することを明らかにした。これらの結果より経口摂取した緑葉ペプチドYHIEPVが視床下部の細胞内レプチン感受性を増強することを明らかにした。

(3) YHIEPVによるレプチン感受性制御機構の解明を目指した解析を実施した。YHIEPVを肥満マウス個体に投与することにより、視床下部においてレプチンシグナルの阻害因子として知られているSOCS-3や炎症性サイトカインのmRNA発現量が減少することを明らかにした。低分子量Gタンパク質 Rap1 は高脂肪食摂取により活性化が誘導され、レプチン感受性障害を惹起する細胞内分子である。器官培養系を用いて、Rap1経路の活性化によるレプチン依存性STAT3リン酸化の阻害が、YHIEPVで前処理することによりブロックされることを確認した。さらに脳内における高脂肪食誘導 Rap1 活性化がYHIEPVにより抑制できることを明らかにした。したがって、YHIEPVが経口投与により、視床下部の Rap1 活性化を抑制することでレプチン感受性を改善することを見出した。

研究期間全体において、食品タンパク質を経口摂取することにより消化管において派生する食由来シグナルが視床下部レプチン感受性を改善する、食による視床下部レプチン感受性の制御実態を解明することができた (*Sci Rep* 2022)。

#### 引用文献

Kentaro Kaneko *et al.*, *Cell Reports*, 16(11)・3003-3015, 2016

Kentaro Kaneko *et al.*, *The Journal of Clinical Investigation*, 129(9)・3786-3791, 2019

Yukiko Fu, Kentaro Kaneko (Co-first Author) *et al.*, *Endocrinology*, 161(9)・bqaa102, 2020

Kentaro Kaneko *et al.*, *JCI Insight*, 142545, 2021

Kentaro Kaneko *et al.*, *Scientific Reports*, 12(1)・8599-8599, 2022

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 Kaneko Kentaro, Takekuma Yukihiro, Goto Tsuyoshi, Ohinata Kousaku	4. 巻 12
2. 論文標題 An orally active plant Rubisco-derived peptide increases neuronal leptin responsiveness	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8599
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-12595-6	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金子賢太郎、Hsiao-Yun Li、付友紀、Pradip K. Saha、Ana B. De la Puente-Gomez、Yong Xu、大日向耕作、Peter Chen、Alexei Morozov、福田真
2. 発表標題 視床下部腹内側核におけるRap1活性化を介した糖代謝制御
3. 学会等名 第42回 日本肥満学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kentaro Kaneko, Yuki Tokuyama, Eriko Taniguchi, Shimon Abe, Junya Nakato, Hiroshi Iwakura, Masaru Sato, Atsushi Kurabayashi, Hideyuki Suzuki, Akira Ito, Yuki Higuchi, Ryoko Nakayama, Kimiko Uchiyama, Hajime Takahashi, Kousaku Ohinata
2. 発表標題 A DISCOVERY OF NOVEL BIOACTIVE PEPTIDES FROM RICE PROTEIN CONTROLLING GHRELIN RELEASE
3. 学会等名 第58回 ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kentaro Kaneko, Yuki Tokuyama, Eriko Taniguchi, Shimon Abe, Junya Nakato, Hiroshi Iwakura, Masaru Sato, Atsushi Kurabayashi, Hideyuki Suzuki, Akira Ito, Yuki Higuchi, Ryoko Nakayama, Kimiko Uchiyama, Hajime Takahashi, Kousaku Ohinata	4. 発行年 2021年
2. 出版社 THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY	5. 総ページ数 177
3. 書名 PEPTIDE SCIENCE 2021	

〔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
---------	---------