

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2012

課題番号：24659441

研究課題名（和文） ショ糖嗜好性形成における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割

研究課題名（英文） Role of fatty acid elongase Elovl6 in the sucrose preference formation

研究代表者

島野 仁 (SHIMANO HITOSHI)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：20251241

研究成果の概要（和文）：Elovl6 は炭素数 12-16 の飽和および一価不飽和脂肪酸を基質とし、炭素数 18 の長鎖脂肪酸の合成を行う脂肪酸伸長酵素である。本研究では、Elovl6 欠損マウスを用いて摂食調節機構における Elovl6 の役割について検討した。野生型マウスおよび Elovl6 欠損マウスを用い、普通食、高ショ糖食、高脂肪食を単独または選択条件で与え、その摂食パターンと摂食量を経時的に観察した。野生型と比較して、Elovl6 欠損マウスは普通食および高脂肪食の摂食量は変わらなかったが、高ショ糖食では摂食量が有意に増加した。また、普通食と高ショ糖食を同時に与えて餌を選択させた場合、普通食と高ショ糖食を合わせた総摂食量は野生型マウスと Elovl6 欠損マウスで同等であるが、Elovl6 欠損マウスは高ショ糖食をより多く摂食し、普通食の摂食量が減少した。したがって、Elovl6 による脂肪酸組成の変化は、恒常性維持のための摂食には影響せず、ショ糖のような嗜好性に基づいた摂食に影響をおよぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： We investigated the effects of Elovl6 deficiency on the food intake and food preference in mice. Three types of diets were used in this study, with one or two diets simultaneously available to wild-type (WT) and Elovl6 knockout (KO) mice. In Experiment 1, mice were fed a standard chow, high fat, or high sucrose diet. In Experiment 2, WT and Elovl6KO mice were fed one of three pairs of diet, chow and HF, HS and HF, or chow and HS. Food intake was sequentially monitored in individually caged mice. In Experiment 1, Elovl6KO mice showed an enhanced ingestion of HS diet than WT mice. In contrast, the standard chow and HF diet intake were similar between WT and Elovl6KO mice. In Experiment 2, as compared with WT mice, Elovl6KO mice showed a greater preference for HS diet than a chow diet, but exhibited an equivalent preference for chow versus HF diet, or HS versus HF diet. With chow and HS diets, the total amount of food and calorie intake, which are the sum of HS and chow diet, were similar between WT and Elovl6 KO mice because chow diet consumption was decreased at all time point in Elovl6KO mice. Elovl6KO mice demonstrated a clear enhanced preference for HS diet. These results indicate that Elovl6 may play a specific and unique role in the control of hedonic eating such as sucrose palatability, but have no effect on homeostatic eating.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：内分泌学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：脂肪酸、嗜好性

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、我が国では、肥満の増加とそれに伴った生活習慣病の患者数が増加し、大きな社会問題になっている。肥満の原因とその分子機序を明らかにすることは、生活習慣病の根幹を治療することにもつながり、きわめて重要である。エネルギーを過剰に摂取する行動（過食）は、摂食調節機構が何らかの理由で破綻したときに起こり、結果として肥満を誘発すると考えられる。摂食には、生命機能を維持するための摂食と、食事のおいしさに主に誘導される嗜好性に基づく摂食がある。後者の嗜好性に基づく摂食の過剰亢進がおいしい食物、すなわち甘味料を多く含む加工食品や高脂肪・高シヨ糖含有食といった高カロリー食の過剰摂取の背景要因であり、肥満を誘導すると考えられるが、食餌嗜好性形成の要因については十分明らかにされていない。Elongation of very long chain fatty acids member 6 (Elovl6)は、我々が脂質合成転写因子 SREBP の標的遺伝子としてクローニングした脂肪酸伸長酵素であり、炭素数 12-16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし、炭素数 18 以上の長鎖脂肪酸の合成に重要なリポジェニック酵素である (*J Lipid Res.* 43:911, 2002.)。我々は Elovl6 欠損マウスの作製・解析により、食餌性および遺伝性肥満モデルマウスにおいて、Elovl6 の欠損が脂肪酸組成の変化により肥満や脂肪肝の改善を介さずにマウスをインスリン抵抗性から保護すること (*Nat. Med.* 13:1193, 2007) や、Elovl6 の欠損がマクロファージの泡沫化の抑制や動脈硬化モデルである LDL 受容体欠損マウスの高脂肪食による動脈硬化の発症の抑制に寄与すること (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31:1973, 2011.) を報告し、脂肪酸の量だけでなく、鎖長や不飽和度といった脂肪酸の質が細胞機能に重要であることを明らかにしてきた。さらに我々は、野生型マウスと比べて Elovl6 欠損マウスでは、高シヨ糖食を与えた場合の摂食量が増加することを見出した。普通食や高脂肪食では野生型と Elovl6 欠損マウスの摂食量に差が認められないことから、Elovl6 欠損マウスではシヨ糖に対する嗜好性が増加していると考えられる。

2. 研究の目的

そこで本研究では、Elovl6 欠損マウスの高シヨ糖食の摂食亢進の要因、特に脳内機構について解析し、肥満を誘導する嗜好性に基づいた摂食亢進や、ストレスに起因した嗜好性食品の過食のような摂食障害の分子基盤の解明に貢献することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) Elovl6 欠損マウスおよび脳特異的 Elovl6 欠損マウスの摂食行動解析

野生型マウス、Elovl6 欠損マウス、flox マウス、脳特異的 Elovl6 欠損マウスに普通食、高シヨ糖食、高脂肪食を単独で与えた場合、またこれらを 2 種類組み合わせさせて選択させた場合の摂食量および摂食パターンを、自動摂食量測定装置を用いて経時的に解析する。

(2) シヨ糖嗜好性亢進に関与する脳部位とその細胞特性の検索

普通食や高シヨ糖食摂食、絶食 - 再摂食、普通食-シヨ糖選択摂食など様々な条件下での脳の c-Fos 免疫陽性細胞の変化を検索する。また、摂食調節への関与が報告されている神経ペプチドや受容体と c-Fos との二重染色を行い、Elovl6 の欠損により変化する c-Fos 陽性細胞の機能特性を明らかにする。

(3) 視床下部における遺伝子発現解析

上記(3)の摂食条件でのマウスから視床下部を摘出後、RNA を抽出し、リアルタイム PCR により脂質代謝関連遺伝子や摂食関連ペプチドなどの発現を解析する。

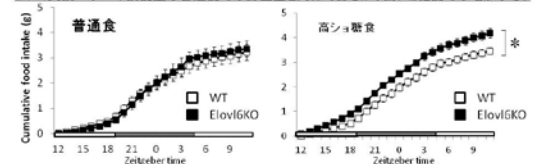
(4) 化合物投与が Elovl6 欠損マウスのシヨ糖嗜好性におよぼす影響の解析

野生型マウス、Elovl6 欠損マウス、flox マウス、脳特異的 Elovl6 欠損マウスに、摂食調節やシヨ糖嗜好性への関与が報告されている因子やそのアゴニスト・アンタゴニストを投与し、摂食行動や嗜好性の変化を解析する。

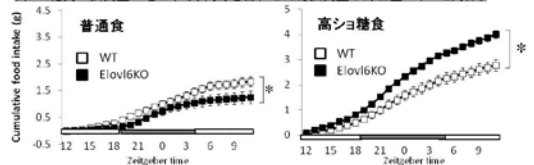
4. 研究成果

野生型マウスと比較して、Elovl6 欠損マウスは普通食および高脂肪食の摂食量は変わらなかったが、高シヨ糖食では摂食量が有意に増加した。また、普通食と高シヨ糖食を同

普通食または高シヨ糖食を単独で与えた場合、Elovl6 欠損マウスの摂食量は普通食では野生型と同様であるが、高シヨ糖食では増加する。



普通食および高シヨ糖食を選択させた場合、Elovl6 欠損マウスは普通食の摂食量が減り、高シヨ糖食の摂食量が増加する。両方を合わせた総摂食量は野生型マウスと同様。



時に与えて餌を選択させた場合、普通食と高シヨ糖食を合わせた総摂食量は野生型マウスと Elov16 欠損マウスで同等であったが、Elov16 欠損マウスは高シヨ糖食をより多く摂食し、普通食の摂食量が減少した。Elov16 欠損マウスの高シヨ糖食摂取量の亢進は、暗期、明期ともに認められたが、特に明期での摂食量亢進が顕著であった。脳特異的 Elov16 欠損マウスでもシヨ糖嗜好性の亢進が認められた。

野生型マウスおよび Elov16 欠損マウスに普通食または高シヨ糖食を与え、脳の活性化部位を c-Fos 免疫染色により検索したところ、Elov16 欠損マウスでは視床下部室傍核の c-Fos 陽性細胞のパターンが野生型マウスと異なっていた。

そこで、野生型マウスおよび Elov16 欠損マウスの普通食または高シヨ糖食摂食下での視床下部の遺伝子発現をリアルタイム PCR 法にて解析した。摂食調節ペプチドや受容体、シヨ糖嗜好性への関与が報告されている遺伝子の中で、オキシトシンの遺伝子発現が Elov16 欠損マウスの視床下部で低下していた。

CPT-1 阻害剤やカンナビノイド受容体阻害剤の投与は、Elov16 欠損マウスのシヨ糖嗜好性に影響を与えなかった。

これらの結果から、Elov16 欠損マウスのシヨ糖嗜好性の亢進は脳での Elov16 欠損に起因し、特に視床下部室傍核のオキシトシンが関与する可能性が示唆された。今後、Elov16 欠損によるシヨ糖嗜好性亢進の脳内機構を分子レベルで解明することが、摂食障害の原因解明と治療法開発に寄与すると期待される。

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4件)

(1) Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Iwasaki H, Takeuchi Y, Satoh A, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Yatoh S, Shimada M, Yahagi N, Suzuki H, Sone H, Yamada N, Shimano H. TFE3 inhibits myoblast differentiation in C2C12 cells via down-regulating gene expression of myogenin. *Biochem Biophys Res Commun.* 430(2):664-669, 2013. 査読有

(2) Matsuzaka T, Atsumi A, Matsumori R, Nie T, Shinozaki H, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Nakagawa Y, Ishii K, Shimada M, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Takekoshi K, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Murata S, Nakamuta M, Yamada N, Shimano H.

Elov16 promotes nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 56(6): 2199-2208, 2012. 査読有

(3) Fujimoto Y, Nakagawa Y, Shingyouchi A, Tokushige N, Nakanishi N, Satoh A, Matsuzaka T, Ishii KA, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yahagi N, Urayama O, Yamada N, Shimano H. Dicer has a crucial role in the early stage of adipocyte differentiation, but not in lipid synthesis, in 3T3-L1 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 420(4): 931-936, 2012. 査読有

(4) Iwasaki H, Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice. *302(7): E896-902*, 2012. 査読有

[学会発表] (計6件)

(1) 島野 仁、アディポサイエンスからみた動脈硬化性疾患予防の展望、第13回動脈硬化教育フォーラム、2013年2月3日、国立京都国際会館、京都

(2) Yuta Nakano, Takashi Matsuzaka, Nie Tang, Marii Suzuki, Noriko Suzuki-Kemuriyama, Motoko Kuba, Keita Shoshi, Tomotaka Yokoo, Yoshimi Nakagawa, Kiyooki Ishii, Masako Shimada, Hitoshi Iwasaki, Kazuto Kobayashi, Shigeru Yatoh, Akimitsu Takahashi, Naoya Yahagi, Hiroaki Suzuki, Nobuhiro Yamada, Hitoshi Shimano. Deletion of Elov16 protects against the failure of pancreatic beta-cell mass and function in db/db mice. 第35回日本分子生物学会年会、2012年12月11日、マリンメッセ福岡、福岡

(3) Takashi Matsuzaka, Tang Nie, Noriko Suzuki-Kemuriyama, Motoko Kuba, Yoshimi Nakagawa, Kiyooki Ishii, Masako Shimada, Kazuto Kobayashi, Shigeru Yatoh, Akimitsu Takahashi, Hirohito Sone, Naoya Yahagi, Hiroaki Suzuki, Makoto Nakamuta, Nobuhiro Yamada, Hitoshi Shimano. Elov16 promotes nonalcoholic steatohepatitis in mice and humans. 9th IDF-WPR Congress and 4th AASD Scientific Meeting, 2012年11月26日、国立京都国際会館、京都

(4) 島野 仁、糖尿病へのアプローチ：病態メカニズムオリエンテッドとエネルギー代謝ネットワーク的視点、第1回日本くすりと糖尿病学会学術集会、2012年9月23日、星薬科大学 本館メインホール・新星館

(5) 松坂 賢、齋藤 亮、唐澤 直義、松森

理恵、煙山 紀子、中川 嘉、石井 清朗、
岩崎 仁、小林 和人、矢藤 繁、高橋 昭
光、曾根 博仁、鈴木 浩明、矢作 直也、
山田 信博、島野 仁。マクロファージ泡沫
化および動脈硬化における脂肪酸伸長酵素
Elovl6 の役割。第 55 回日本糖尿病学会年次
学術集会、2012 年 5 月 19 日、バンフィコ横
浜、横浜

(6) 島野 仁、脂質の質に視点をおいた脂質
代謝疾患治療戦略、第 85 回日本内分泌学会
学術総会、2012 年 4 月 21 日、名古屋国際会
議場、名古屋

[その他]

ホームページ等

<http://www.u-tokyo-endocrinology.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島野 仁 (SHIMANO HITOSHI)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：20251241

(2) 研究分担者

松坂 賢 (MATSUZAKA TAKASHI)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：70400679

中川 嘉 (NAKAGAWA YOSHIMI)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：80361351