

令和元年6月24日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03035

研究課題名(和文) エネルギー代謝を活性化する抗肥満機能性食品創出のための研究開発

研究課題名(英文) Research and development for energy expending anti-obesity functional food

研究代表者

太田 嗣人(Ota, Tsuguhito)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：60397213

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、アブラナ科野菜に含まれるスルフォラファン配糖体(SGS)による肥満関連疾患の予防改善効果を明らかにすることである。

野生型およびストレス応答転写因子Nrf2欠損マウスに高脂肪食、またはSGSを混ぜた高脂肪食を与え、体重や代謝表現型を比較検討した。野生型マウスでみられたSGS投与による肥満抑制、内臓脂肪や脂肪肝の減少、血糖値の低下は、Nrf2欠損マウスではみられず、抗肥満・抗糖尿病効果、エネルギー消費の増大がNrf2欠損マウスではほぼ完全に消失していた。スルフォラファンによるNrf2活性化が抗肥満や生活習慣病の予防に有効な可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の抗肥満薬は、食欲抑制や消化管の脂肪吸収阻害等、エネルギー摂取を低下させる作用が主であり、抑うつや下痢等の副作用が少なくない。ゆえに現在、エネルギー消費を増大させ、肥満を抑制する新たな薬物や食品因子が求められている。

本研究では、ブロッコリーの新芽(スプラウト)に多く含まれるスルフォラファンの肥満抑制効果が得られた。スルフォラファンはブロッコリー由来の食品因子であり、長年の食経験からその安全性は極めて高いと考えられる。また、経口摂取によるNrf2活性化と抗酸化作用による細胞保護効果も期待できるため、特色のある機能性食品や創薬シードになり得る。

研究成果の概要(英文)：Pharmacological activation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) alleviates obesity and insulin resistance in mice; however, Nrf2 inducers are not clinically available owing to safety concerns. Thus, we examined whether dietary glucoraphanin, a stable precursor of the Nrf2 inducer sulforaphane (SGS), ameliorates systemic energy balance, chronic inflammation, insulin resistance, and NAFLD in high-fat diet (HFD)-fed mice. SGS supplementation attenuated weight gain, decreased hepatic steatosis, and improved glucose tolerance and insulin sensitivity in HFD-fed wild-type mice but not in HFD-fed Nrf2-knockout mice. In HFD-fed mice, SGS increased energy expenditure and the protein expression of uncoupling protein 1 (Ucp1) in inguinal and epididymal adipose depots. By promoting fat browning, limiting metabolic endotoxemia-related chronic inflammation, and modulating redox stress, SGS may mitigate obesity, insulin resistance, and NAFLD.

研究分野：内分泌代謝学、栄養学

キーワード：肥満 褐色脂肪組織 炎症 脂肪肝 インスリン抵抗性 エネルギー代謝 腸内細菌 機能性食品 機

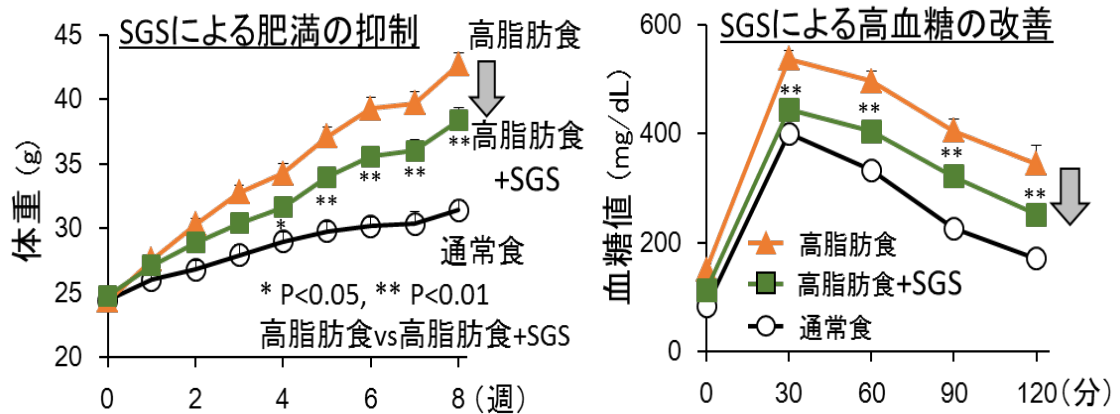
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

飽食の時代を迎えて久しい現代社会では、世界的に肥満人口が急増し、脂肪肝や糖尿病、メタボリック症候群等のインスリン抵抗性を背景とする生活習慣病が急増し、グローバルな社会問題となっている。過体重や肥満の是正は、このようば生活習慣病予防の観点から、特に重要視される。しかし一方、既存の抗肥満薬は、食欲抑制や消化管の脂肪吸収阻害等、エネルギー摂取を低下させる作用が主であり、抑うつや下痢等の副作用が少なくない。ゆえに現在、エネルギー消費を増大させ、肥満を抑制する薬剤や生理活性物質が求められている。

研究代表者は、最近、肥満を改善する食品因子のスクリーニングから、アブラナ科野菜、特にブロッコリーの新芽に特徴的に含まれるスルフォラファン配糖体 (SGS) が、肥満抑制および血糖降下作用を有することを見出した (図1)。

図1



スルフォラファンは、元来、がん予防効果が期待できる成分として解毒酵素誘導能を指標に見出された天然の化学物質 (フィトケミカル) である。また、スルフォラファンはアブラナ科の植物 (ブロッコリー、大根、キャベツ等) に特徴的に存在するイソチオシアネートの一種であり、特にブロッコリーの新芽 (ブロッコリースプラウト) に多く含まれる。ブロッコリーには、安定な前駆体であるグルコラファンとして存在し、ブロッコリー自体や腸内細菌叢がもつ酵素 (ミロシナーゼ) によって活性体であるスルフォラファンに変換された後、腸管から吸収される。これまでに、スルフォラファンが持つ抗酸化作用、解毒作用、および抗炎症作用によって発がん性物質、アルコール、および活性酸素種等のストレスから細胞・組織を保護することが実験動物やヒトにおいて多数報告されている。

スルフォラファンの多彩な生理作用の発現には酸化ストレス応答転写因子 Nrf2 (NF-E2 related factor 2) が深く関与している。ストレス非存在下において、Nrf2 には Cullin3 (Cul3) 型ユビキチンリガーゼ・Keap1 複合体が結合し、常にプロテアソームで分解されるため、転写因子としての機能は抑制されている。一方、種々のストレスやスルフォラファンの存在下では Nrf2 が Keap1 から遊離して核内に移行し、生体防御に関わる多数の抗酸化・解毒酵素遺伝子の発現を誘導する (Zhang Y, PNAS 1992 等)。さらに、近年、マイクロアレイや次世代シーケンサーによる網羅的な遺伝子解析によって、糖・脂質代謝、ならびに炎症性サイトカイン等、肥満の病態と深く関係する遺伝子群の発現制御においても Nrf2 が重要な役割を果たしていることが明らかにされた。しかし、肥満に対するスルフォラファン配糖体 (SGS) の効果は十分に明らかにされていなかったことから、著者らは高脂肪食を与えた肥満マウスにおいてその効果を検討した。

SGS は肥満モデル動物の食餌摂取量を増加させるにもかかわらず、体重増加を有意に抑制し、高血糖や脂肪肝を改善することを見出した (図1)。すなわち SGS は、エネルギー摂取と消費のバランスを消費優位へと大きく変化させることで、肥満および肥満に関連した代謝疾患を予防・抑制する可能性があると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究課題では、これまでの研究成果および予備の結果に基づき、以下の研究項目) を明らかにすることを目的とする。

- SGS が作用するエネルギー消費増大の作用メカニズムおよび褐色脂肪化・熱産生調節の分子機構の解明
- SGS による腸内細菌叢への作用を介した抗炎症作用とインスリン抵抗性の改善効果
- SGS の抗肥満・抗糖尿病効果の分子標的としての転写因子 Nrf2 の役割の解明

3. 研究の方法

ブロッコリースプラウトから熱水抽出した SGS を飼料に混ぜてマウスに与えた。抽出の過程でスプラウトに存在するミロシナーゼは失活するが、経口摂取された SGS はマウスの腸内細菌叢がもつミロシナーゼによってスルフォラファンに変換された後に吸収され、生理活性を示す。実際に、マウスの血液中と尿中にスルフォラファンとその代謝物が存在することを確認している。

4. 研究成果

実験では、SGS を混ぜた高脂肪の餌を与えたマウスと、SGS を混ぜていない高脂肪の餌を与えたマウスの体重を比較した。その結果、SGS を混ぜた餌を与えたマウスは体重増加率が約 15% 抑えられ、内臓脂肪量が約 20% 減少し、脂肪肝と血糖値の上昇が抑えられた。

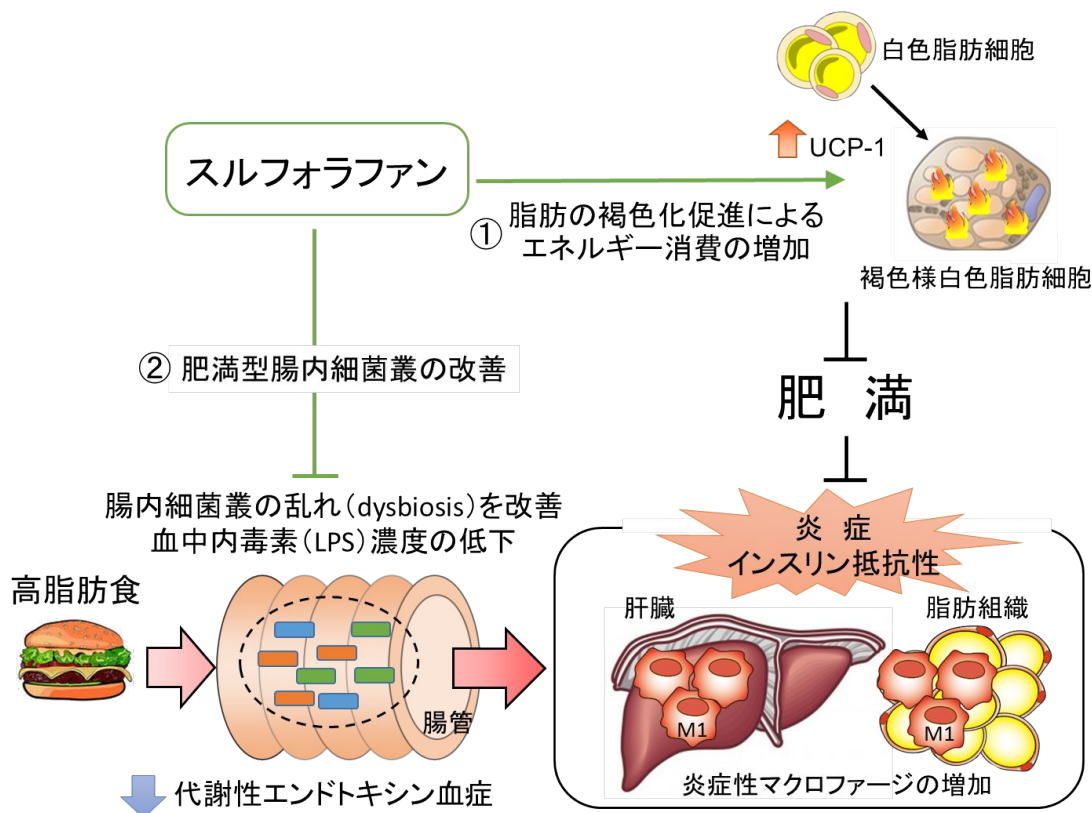
さらに、スルフォラファンが、脱共役タンパク質 1 (Uncoupling protein-1, UCP-1) を増加させ、エネルギー消費の増加と脂肪の燃焼をもたらす「脂肪細胞の褐色化」を促進することが明らかになり、また、スルフォラファンは、内毒素 (LPS, エンドトキシン) を過剰に産生するデスルフォビブリオ科の腸内細菌の増殖を抑制しており、血液中の内毒素を低下させ、代謝性エンドトキシン血症を改善するという作用を発見した。

以上から、脂肪の褐色化を促進することでエネルギー消費を増大させ、肥満を抑制する作用、高脂肪食による「肥満型」腸内細菌叢を改善し、代謝性エンドトキシン血症を抑える作用というスルフォラファンの新たな 2 つの作用が明らかとなった (図 2)。

さらに本研究では、遺伝的に Nrf2 を欠損したマウスに SGS を混ぜた餌を与えても、体重増加の抑制や褐色脂肪化による脂肪の燃焼といった効果は認められなかったことから、スルフォラファンによる肥満抑制の標的分子として Nrf2 が重要であることが明らかとなった。

今回明らかになった 2 つの作用には、肝臓や脂肪組織の炎症、インスリン抵抗性を改善させ、生活習慣病の予防につながる波及効果が期待される。今後はさらに研究を進め、基礎および臨床的な観点から、スルフォラファンの肥満予防効果、炎症やインスリン抵抗性に対する有効性と安全性を評価することで、エネルギー消費を増加させ、腸内環境を改善する機能性食素材や創薬シードとしてのスルフォラファンの新たな役割が期待される。

図 2 本研究で明らかになったスルフォラファンの新しいメカニズム



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

1. Nagashimada M, Ota T: Role of vitamin E in nonalcoholic fatty liver disease. IUBMB Life. 71(4):516-522, 2019. doi: 10.1002/iub.1991. [査読有]

2. Xu L, Nagata N, Ota T. Glucoraphanin: A broccoli sprout extract that ameliorates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Adipocyte* 7(3):218-225, 2018 doi.10.1080/21623945.2018.1474669
3. Xu L, Nagata N, Nagashimada M, Zhuge F, Ni Y, Chen G, Kamei J, Ishikawa H, Komatsu Y, Kaneko S, Ota T: A porcine placental extract prevents steatohepatitis by suppressing activation of macrophages and stellate cells in mice. *Oncotarget*, 9(19):15047-15060, 2018. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.05.028. [査読有]
4. Xu L, Nagata N, Nagashimada M, Zhuge F, Ni Y, Chen G, Mayoux E, Kaneko S, Ota T: SGLT2 Inhibition by Empagliflozin Promotes Fat Utilization and Browning and Attenuates Inflammation and Insulin Resistance by Polarizing M2 Macrophages in Diet-induced Obese Mice. *EBioMedicine*, 20:137-149, 2017. doi: 10.3390/ijms18050994. [査読有]
5. Kobori M, Takahashi Y, Sakurai M, Ni Y, Chen G, Nagashimada M, Kaneko S, Ota T: Hepatic Transcriptome Profiles of Mice with Diet-Induced Nonalcoholic Steatohepatitis Treated with Astaxanthin and Vitamin E. *Int J Mol Sci.*, 8;18(3), 2017. doi: 10.3390/ijms18030593. [査読有]
6. Nagata N, Xu L, Kohno S, Ushida Y, Aoki Y, Umeda R, Fuke N, Zhuge F, Ni Y, Nagashimada M, Takahashi C, Suganuma H, Kaneko S, Ota T: Glucoraphanin Ameliorates Obesity and Insulin Resistance Through Adipose Tissue Browning and Reduction of Metabolic Endotoxemia in Mice. *Diabetes*, 66(5):1222-1236, 2017. doi: 10.2337/db16-0662. [査読有]
7. Zhuge F, Ni Y, Nagashimada M, Nagata N, Xu L, Mukaida N, Kaneko S, Ota T: DPP-4 Inhibition by Linagliptin Attenuates Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance by Regulating M1/M2 Macrophage Polarization. *Diabetes*, 65(10):2966-79, 2016. doi: 10.2337/db16-0317. [査読有]
8. Ni Y, Zhuge F, Nagashimada M, Ota T: Novel Action of Carotenoids on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Macrophage Polarization and Liver Homeostasis. *Nutrients*, 8(7), 391, 2016. doi: 10.3390/nu8070391. [査読有]
9. Kimura K, Tanida M, Nagata N, Inaba Y, Watanabe H, Nagashimada M, Ota T, Asahara S, Kido Y, Matsumoto M, Toshinai K, Nakazato M, Shibamoto T, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H: Central Insulin Action Activates Kupffer Cells by Suppressing Hepatic Vagal Activation via the Nicotinic Alpha 7 Acetylcholine Receptor. *Cell Reports*, 15;14(10):2362-74, 2016. doi: 10.1016/j.celrep.2016.02.032. [査読有]
10. Ni Y, Nagashimada M, Zhuge F, Zhan L, Nagata N, Tsutsui A, Nakanuma Y, Kaneko S, Ota T.: Astaxanthin prevents and reverses diet-induced insulin resistance and steatohepatitis in mice: A comparison with vitamin E. *Sci Rep.* 25;5:17192. 2015. doi: 10.1038/srep17192. [査読有]

[学会発表](計 4 件)

- 1.長田 直人 ,牛田 悠介 ,菅沼 大行 ,Xu Liang ,Zhuge Fen ,太田 嗣人 スルフォラファンによる転写因子 Nrf2 活性化を介した肥満及び代謝異常抑制機構の解析 第59回日本糖尿病学会年次学術集会、国立京都国際会館、京都府 2016年5月21日
- 2.太田 嗣人,牛田 悠介,菅沼 大行,長田 直人 スルフォラファンによる転写因子 Nrf2 活性化

を介したエネルギー代謝調節機構の検討 第71回日本栄養・食糧学会大会, 沖縄コンベンションセンター 宜野湾 2017年5月20日

3. 長田 直人, 太田 嗣人, 安藤 仁 スルフォラファンによる転写因子 Nrf2 活性化を介した肥満及び脂肪肝抑制機構の検討 2017年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017), 神戸ポートピアホテル, 神戸 2017年12月8日

4 太田嗣人 NAFLD/NASHにおける新知見と治療の方向性第52回糖尿病学の進歩 福岡 2018年3月2日

〔図書〕(計 5 件)

1. 玉木陽穂, 太田嗣人: インスリン抵抗性改善薬 .NAFLD/NASH の治療学 NAFLD/NASH ~診断・治療の最新動向 日本臨床 77(5): 835-841, 2019
2. 坂上英充, 太田嗣人: 糖尿病薬と肝疾患治療, 糖尿病の最新治療 BIO Clinica 33(13):18-23, 2018
3. 太田嗣人: 食品因子による肥満・脂肪肝の予防, FOOD STYLE21 22(8):50-54, 2018 食品化学新聞社
4. 玉木陽穂, 太田嗣人: NASH/NAFLDの新知見, インスリン抵抗性改善化合物 肝胆膵 76: 751-757, 2018 アークメディア
5. 長田直人 太田嗣人: スルフォラファンの肥満抑制効果 BIO INDUSTRY 35(2):15-23, 2018 シーエムシー出版

6 . 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 長田直人

ローマ字氏名: Nagata Naoto

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。