

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K20180

研究課題名（和文）塩分過剰摂取が高脂肪食による肥満症発症を助長する機序の解明

研究課題名（英文）Clarification of the effects of dietary sodium chloride on the obesity and its related diseases

研究代表者

高木 博史（Takagi, Hiroshi）

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10792004

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：内臓脂肪蓄積を基盤とするメタボリック症候群が蔓延する中、その対策は喫緊の課題である。研究代表者は肥満症の発症・進展に關与する食事由来の因子として食塩過剰摂取に着目し、マウスモデルを用いて検討した。高脂肪食によって肥満を誘導するマウスモデルにおいて、食塩過剰摂取を伴った場合の変化を検証した結果、脂質と食塩の過剰摂取によって、体重増加は抑制されるにも関わらず、精巣周囲脂肪組織の増加、インスリン分泌不全による耐糖能障害を引き起こすことを明らかにした。本研究の結果、糖尿病やメタボリック症候群の発症・進展予防において減塩療法が重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食塩過剰摂取の肥満や糖尿病に対する影響は明らかになっていない。今回の私達の検討によって、脂質の過剰摂取に食塩過剰摂取が伴うと、体重増加は抑制されるもののインスリン分泌不全による耐糖能障害の誘因になることが明らかとなった。ヒトにおいても同様の影響があるかについては今後の研究が望まれる。本研究結果に基づき、食塩摂取量の適正化による内臓脂肪蓄積と臓器障害進展の抑制という新たな観点からの減塩療法の有用性が確立することに繋がることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Excessive intake of sodium chloride is known as a risk factor of hypertension or cardiovascular diseases. However, it has not been elucidated whether excessive sodium chloride intake accompanied with a high fat diet affects obesity and metabolic diseases. We showed that body weight gain was decreased, but weight of epididymal white adipose tissue was increased in mice fed a high fat plus high salt diet compared to high fat diet. Mice fed a high fat plus high salt diet had higher blood glucose concentrations in an intraperitoneal glucose tolerance test. Excessive sodium chloride intake accompanied with a high fat diet suppresses body weight gain but exacerbates glucose intolerance with impairment in insulin secretion. Proliferation of beta cells in islet induced by high fat diet was impaired in mice fed a high fat and high salt diet. This study suggests the importance of appropriate intake of sodium chloride to prevent the development and the progression of diabetes.

研究分野：糖尿病学

キーワード：糖尿病 肥満症 インスリン分泌不全 食塩

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界的に内臓脂肪蓄積を基盤とするメタボリック症候群が蔓延する中、その対策は喫緊の課題である。内臓脂肪蓄積を抑制するための食事療法の基盤はカロリー制限であるが、その実施は容易ではなく、エビデンスに基づいた有効かつ適切なアドバイスが求められる。

研究代表者は、内臓脂肪蓄積を促進する食事由来の因子として食塩過剰摂取に着目した。日本における1人あたりの1日摂取カロリーは戦後2,000kcal前後と一定であるにも関わらず、肥満患者は増加しており、その原因として、動物性脂肪由来の飽和脂肪酸の摂取の増加が指摘されている。一方で、日本人の食塩摂取量は1日平均10.0gと先進国の中でも多いとされている。食塩過剰摂取は、食欲亢進、ソフトドリンク摂取量増加などを引き起こし、二次的に肥満を促進する可能性もあるが、食塩過剰摂取が内臓脂肪蓄積に対して直接的に作用するか否かは明らかになっていない。日本人の伝統的な食習慣である食塩摂取が飽和脂肪酸を多く含有する欧米型の食生活と組み合わせることによって、肥満症やメタボリック症候群が蔓延する素地を形成しているのではないかと着想し本研究課題に着手した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脂質の過剰摂取に食塩過剰摂取が加わると、内臓脂肪蓄積を促進し、臓器障害や代謝障害を進展させるという仮説を検証することである。本研究によって、減塩療法の有用性を明らかにし、食塩の適切な摂取を勧奨した栄養指導や新しい概念の薬物療法に繋げ、メタボリック症候群に対する有効な治療法の確立につなげることを目指す。

3. 研究の方法

(1) 高脂肪・高塩分食による内臓脂肪蓄積型肥満モデルマウスの解析

8週齢C57/BL6雄マウスを用い、それぞれ、普通食(CE2:食塩濃度0.78%)、普通食+高塩分食(食塩濃度4.0%)、高脂肪食(Test Diet 58Y1:食塩濃度0.38%)、高脂肪+高塩分食(食塩濃度4.0%)を給餌し、体重変化、摂餌量を比較した。食塩負荷による体組成の変化を検証するため、38週齢において、精巣周囲脂肪組織、皮下脂肪組織、肝、筋、褐色脂肪組織の重量を比較した。

(2) モデル動物の代謝動態の検討

マウスを代謝ケージ内で飼育し、酸素消費量、エネルギー消費量、活動量を比較した。32週齢において腹腔内ブドウ糖負荷試験、33週齢において腹腔内インスリン負荷試験、35週齢においてピルビン酸負荷試験を施行し、耐糖能、インスリン感受性、肝糖新生を解析した。

(3) 組織学的解析・遺伝子発現解析

精巣周囲脂肪組織、肝、筋において、ヘマトキシリン-エオジン染色、オイルレッド染色による組織学的所見を比較検討した。精巣周囲脂肪組織、肝、筋、皮下脂肪組織、褐色脂肪組織における遺伝子発現を解析した。

(4) 膵の組織学的解析・単離膵島の遺伝子発現解析

膵の組織学的所見を解析した。Ki67の免疫組織化学を用いて膵細胞の増殖を検討した。単離膵島における遺伝子発現の差異を検討した。

4. 研究成果

(1) 高脂肪・高塩分食による内臓脂肪蓄積型肥満モデルマウスの解析

普通食群と普通食+高塩分食群を比較した結果、体重、摂餌量、組織重量に差を認めなかった。高脂肪食群と高脂肪+高塩分食群を比較した結果、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、体重増加が抑制され、30週において精巣周囲脂肪組織重量が有意に増加し、肝重量が有意に低下していた。皮下脂肪組織、ヒラメ筋、褐色脂肪組織重量に差は認めなかった。高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して摂餌量が有意に低下していた。

(2) モデル動物の代謝動態の検討

マウスを代謝ケージ内で飼育し、酸素消費量、エネルギー消費量、活動量を比較した結果、高脂肪食群と高脂肪+高塩分食群との間に有意な差を認めなかった。普通食群と普通食+高塩分食群を比較した結果、腹腔内ブドウ糖負荷試験、腹腔内インスリン負荷試験には有意な差を認めなかった。高脂肪食群と高脂肪+高塩分食群を比較した結果、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比

較して、腹腔内ブドウ糖負荷試験で血糖値が有意に高く、腹腔内インスリン負荷試験で血糖値が有意に低かった。高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較してピルビン酸負荷試験で血糖値が有意に高かった。ブドウ糖負荷試験において、負荷前と負荷 15 分後の血漿中インスリン濃度を比較した結果、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、ブドウ糖負荷 15 分後の血漿インスリン濃度が有意に低かった。以上の結果から、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、耐糖能悪化、インスリン感受性亢進、肝糖新生亢進を示すことが明らかとなった。

(3) 組織学的解析・遺伝子発現解析

精巣周囲脂肪組織のヘマトキシリン-エオジン染色の結果、高脂肪食群と高脂肪+高塩分食群との間で脂肪細胞のサイズに有意な差異は認めなかった。肝、ヒラメ筋のオイルレッド染色の結果、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、オイルレッドの染色性が低下しており、脂肪の沈着が軽減していることが示唆された。q-PCR 法を用いた遺伝子発現解析の結果、精巣周囲脂肪組織、肝における TNF、F4/80、CD11c の遺伝子発現に有意な差を認めなかった。肝においては、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、PEPCK の遺伝子発現が低下していた。

(4) 膵の組織学的解析・単離膵島の遺伝子発現解析

膵の免疫組織化学の結果、30 週において、普通食群と普通食+高塩分食群の間に有意な差は認めなかったが、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、膵島の面積・数ともに有意に低下していた。高脂肪食または高脂肪+高塩分食を給餌して 3 日後の膵島における Ki67 の局在を免疫組織化学で検討した結果、高脂肪食群は普通食群と比較して膵島の Ki67 陽性細胞数が有意に増加したが、高脂肪+高塩分食群では有意な増加を認めなかった。また、給餌開始後 7 日目に膵島を単離し遺伝子発現を比較した結果、高脂肪食群は普通食群に対して、Ki67、Cyclin B1、Cyclin D1 の遺伝子発現が有意に増加したが、高脂肪+高塩分食群ではこれらの遺伝子発現の増加を認めなかった。

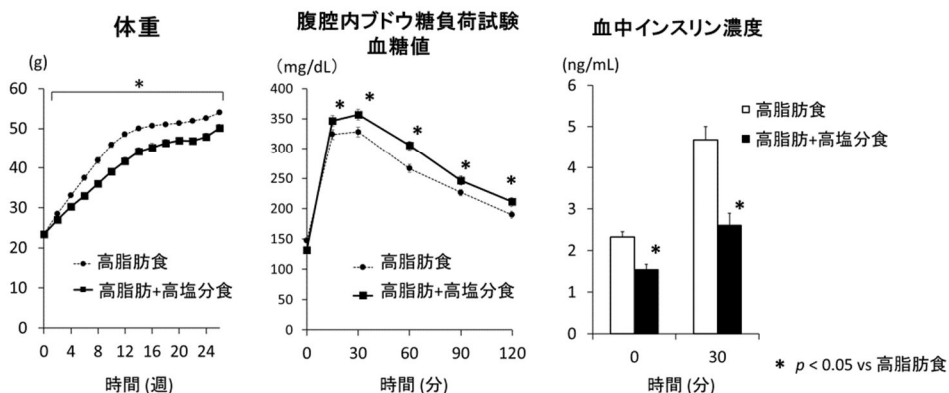
以上の結果から、高脂肪+高塩分食群は高脂肪食群と比較して、体重増加が抑制されるにも関わらず、精巣周囲脂肪組織の重量が増加し、インスリン分泌不全、耐糖能悪化を示した。一方で、肝や筋における脂肪沈着は減少し、インスリン抵抗性は減弱していた。高脂肪食摂取によって膵細胞の増殖が促進されるが、食塩過剰摂取が伴うとその増殖が抑制されることが示唆された(図)。一方で、普通食または普通食+高塩分食を与えた 2 群を比較した場合は、両群の体重、内臓脂肪量、耐糖能、インスリン感受性に差異を認めなかった。膵の解析結果から、脂質の過剰摂取に食塩過剰摂取が加わると膵細胞の増殖が抑制されることでインスリン分泌不全と耐糖能悪化が引き起こされることが示された。

本研究の結果、糖尿病の発症・進展防止において減塩療法が重要である可能性が示唆された。また、食塩過剰摂取は内臓脂肪を増加させるものの肝・筋における異所性脂肪沈着は抑制したことから、臓器毎に影響が異なることが示唆された。今後、これらの機序の解明が求められるとともに、ヒトにおける検証が必要である。

本研究成果を、研究期間中、国内学会において 2 回、国際学会において 1 回発表し、最終的には論文として発表した (PLOS ONE 2021 16:e0248065)。

図

高脂肪食に食塩過剰摂取が加わると、体重増加抑制、耐糖能悪化、インスリン分泌不全を呈する



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 Keigo Taki, Hiroshi Takagi, Tomonori Hirose, Runan Sun, Hiroshi Yaginuma, Akira Mizoguchi, Tomoko Kobayashi, Mariko Sugiyama, Taku Tsunekawa, Takeshi Onoue, Daisuke Hagiwara, Yoshihiro Ito, Shintaro Iwama, Hidetaka Suga, Ryoichi Banno, Daisuke Sakano, Shoen Kume, Hiroshi Arima	4. 巻 16
2. 論文標題 Dietary sodium chloride attenuates increased β -cell mass to cause glucose intolerance in mice under a high-fat diet	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0248065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0248065	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 滝 啓吾、高木 博史、柳沼 裕史、溝口 暁、杉山 摩利子、恒川 卓、伊藤 禎浩、坂野 僚一、有馬 寛
2. 発表標題 高脂肪食摂取下における塩分過剰摂取が糖代謝に与える影響
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 滝 啓吾、高木 博史、孫 汝楠、柳沼 裕史、杉山 摩利子、恒川 卓、伊藤 禎浩、坂野 僚一、有馬 寛
2. 発表標題 脂肪食負荷マウスにおいて食塩過剰摂取はインスリン分泌低下を介して耐糖能を悪化させる
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keigo Taki, Hiroshi Takagi, Tomonori Hirose, Runan Sun, Hiroshi Yaginuma, Akira Mizoguchi, Mariko Sugiyama, Taku Tsunekawa, Yoshihiro Ito, Ryoichi Banno, Hiroshi Arima
2. 発表標題 Excessive Sodium Chloride Intake Results in Glucose Intolerance under High Fat Diet Condition
3. 学会等名 北米肥満学会（国際学会）
4. 発表年 2020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
---------	---------