

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年8月26日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591014

研究課題名（和文） 若齢期の人工甘味料曝露によるレプチン抵抗性獲得機構の解明

研究課題名（英文） Exposure to Artificial Sweetener in Juvenile Mice Intensifies Addiction to High-Fat Diet and Exaggerates Leptin Resistance in Adulthood

研究代表者

屋比久 浩市（YABIKU KOUICHI）

琉球大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70545748

研究成果の概要（和文）：若齢期における人工甘味料摂取が、視床下部小胞体（ER）ストレスを介して、成獣期の肥満感受性（レプチン抵抗性）を高める可能性が示唆された。分子シャペロンを人工甘味料と共投与することで、視床下部 ER ストレスが低下し、さらに成獣期以降、高脂肪食に対する嗜好性をも軽減することが確認された。マウスの embryo から抽出した全脳の primary culture においては、人工甘味料が ER ストレス関連遺伝子の発現をかなり亢進させた。これは人工甘味料が視床下部 ER ストレスにダイレクトに寄与することを示唆する所見である。

研究成果の概要（英文）：Artificial sweeteners during the juvenile period may increase susceptibility to diet-induced obesity in adulthood through the augmentation of ER stress in the hypothalamus. This was confirmed by co-administration of a chemical chaperone with artificial sweeteners, which attenuated hypothalamic ER stress and HFD preference in adulthood. In murine primary neuronal cells, artificial sweeteners substantially augmented the expression of ER stress-related genes, suggesting direct contribution of artificial sweeteners to hypothalamic ER stress.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：肥満/レプチン抵抗性/視床下部

## 1. 研究開始当初の背景

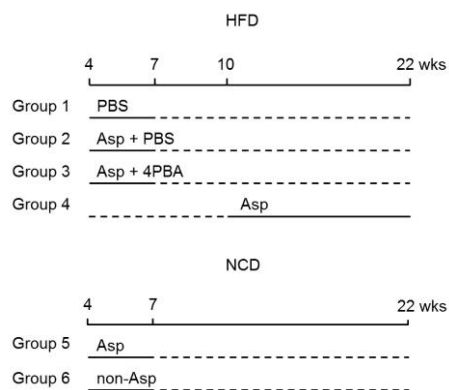
近年、生活習慣病に対する意識も高まり、“カロリー0”を銘打った甘味料の需要が急速に伸びているが、元より肥満者に対する効能については疑問視され（*Obesity* Fowler SP et al. 16: 1894, 2008）、マウスに摂取させるとむしろ摂食量と体重が増えたというパラドキシカルな結果も報告されている（*Int J Obesity* TL Davidson et al. 28: 933, 2004）。

## 2. 研究の目的

若齢期の人工甘味料曝露がレプチン抵抗性獲得を誘導する可能性について、そのメカニズムを解明する。

## 3. 研究の方法

若齢期 C57BL/6J マウス（4～7 週齢）に人工甘味料[アスパルテーム（Asp）]を通常食（NCD）あるいは高脂肪食（HFD）とともに給餌し、NCD あるいは HFD 単独群と比較する。



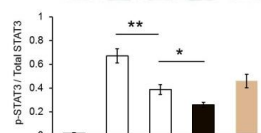
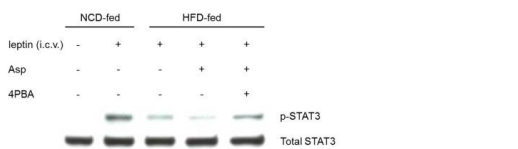
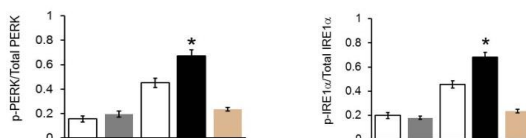
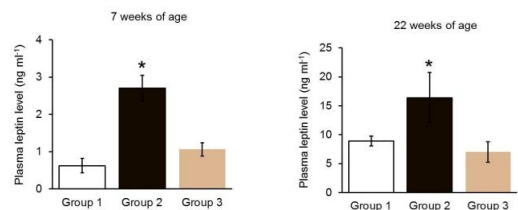
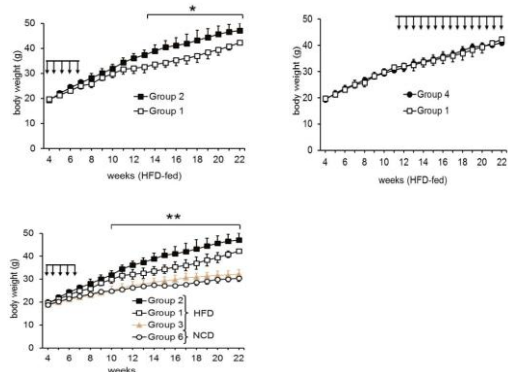
比較項目は体重変化や摂食行動、糖代謝(負荷/血液検査)および視床下部のレプチンシグナル関連因子(immunoblottingやreal-time PCR)を検証する。有意差が認められれば、レプチン抵抗性と視床下部小胞体(ER)ストレスとの関連報告から、実際のERストレスの差異を検証し、さらにはERストレス解除薬4-PBAを共投与後の変化も検証する。

in vitroではprimary neuronal cellに直接Aspを添加し、4-PBAで前処置したprimary cultureと併せてERストレス関連遺伝子の発現を検証する。

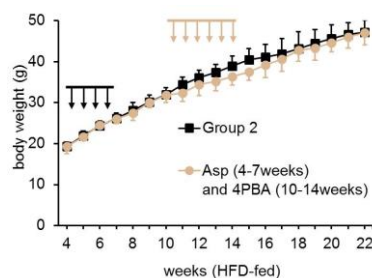
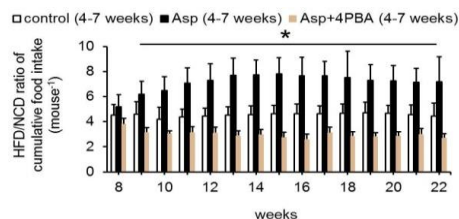
併行して、天然甘味料であるステビア(Stv)をAspの対照として同様の検証を行った。

#### 4. 研究成果

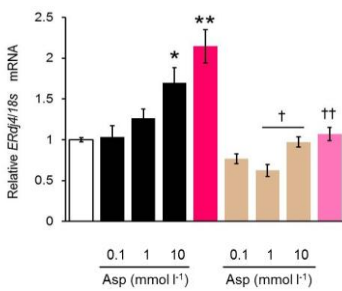
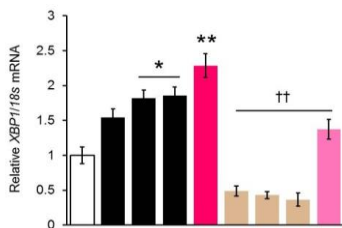
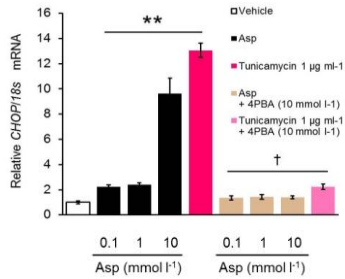
若齢期 C57BL/6J マウス(4~7 週齢)に HFD とともに Asp を同時投与した群は、HFD 単独群と比較して成獣期以降の体重が有意に増加し、糖代謝の増悪のみならず血中レプチンの有意な高値ならびに視床下部における ER ストレスが有意に高くなった。興味深いのは、体重差の無い7週齢においても Asp 給餌群は視床下部 ER ストレスが有意に惹起され、高レプチン血症を示した点である。



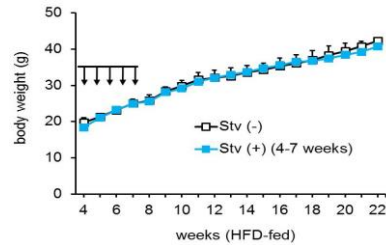
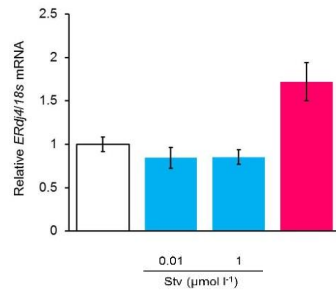
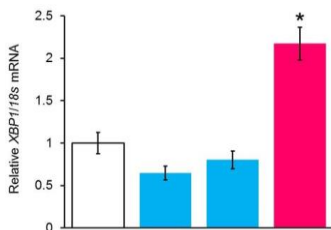
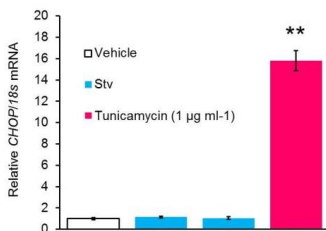
若齢期 Asp 給餌群は成獣期以降、HFD に対し高い嗜好性を示した。これは同時期(若齢期)に 4-PBA を共投与することで HFD から NCD への嗜好性を回帰できたこと、さらに成獣期における 4-PBA 一定期間投与は、それ以降の嗜好性および体重変化に殆ど影響がなかったことから、若齢期視床下部における ER ストレス惹起(レプチン抵抗性の獲得)が一連の主原因であることが考えられた。



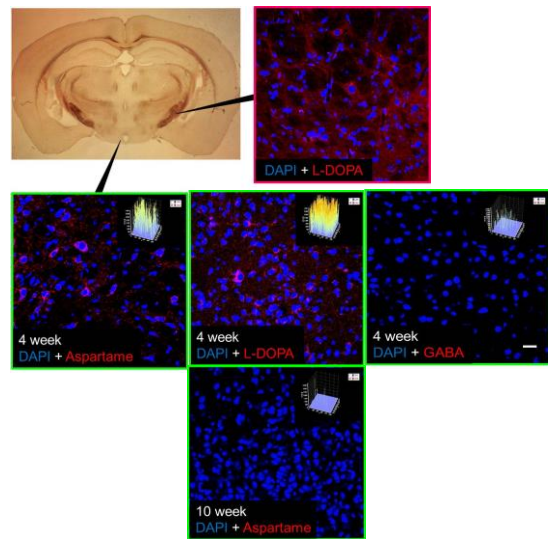
in vitro での検証目的に primary neuronal cell を使用したところ、Asp 添加群は、濃度勾配的に ER 関連遺伝子 (*CHOP*, *XBPI*, *ERdj4*) の発現が有意に高値を示し、そして 4-PBA で前処置した primary culture においては同遺伝子の発現が抑制された。



尚、対照群として使用した天然甘味料 Stv では、視床下部 ER ストレス関連因子には殆ど作用せず、それは体重や摂食行動にも影響を及ぼさなかった。



in vivo で Asp がダイレクトに若齢期マウスの視床下部に作用しているのかを検証する目的に、次に蛍光標識した Asp をマウスに投与した。ポジティブコントロールとして L-DOPA、ネガティブコントロールとしては GABA を使用した。成獣期マウスの視床下部においては Asp の移行は認められなかったが、若齢期マウスにおいて、視床下部における集積が認められた。



以上より、若齢期における人工甘味料 Asp の給餌は、ダイレクトに視床下部 ER ストレスを惹起し、成獣期以降の肥満感受性獲得に大きく寄与していることが示唆された。

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1件)

① J Metab Synd Yabiku K, Ohshiro Y, Sunagawa S, Kozuka C, Taira S, Ueda R, Nakamoto K, Iwabuchi K, Yonaha M, Yamakawa K, Higa M, Shimabukuro M, Masuzaki H 7:26-30, 2010 (査読無し)

[学会発表] (計2件)

① 屋比久浩市(代表者)、大城譲、砂川澄人、小塚智沙代、平良伸一郎、植田玲、仲本桂子、岩淵敬子、與那覇恵、山川研、比嘉盛丈、島袋充生、高山千利、益崎裕章  
若齢期に対する人工甘味料曝露給餌によるレプチン抵抗性獲得と高尿酸血症の誘導

高尿酸血症・メタボリックシンドロームリサーチフォーラム第6回研究集会

2010年8月6日

大阪府大阪市ホテルグランヴィア大阪

② 屋比久浩市(代表者)、大城譲、砂川澄人、小塚智沙代、幸喜毅、平良伸一郎、植田玲、仲本桂子、岩淵敬子、山川研、比嘉盛丈、島袋充生、高山千利、益崎裕章

若齢期の人工甘味料曝露によるレプチン抵抗性獲得機構の解明

第53回日本糖尿病学会年次学術集会

2010年5月29日

岡山県岡山市デジタルミュージアム

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

6. 研究組織

(1)研究代表者

屋比久 浩市 (YABIKU KOUICHI)

琉球大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 70545748

(2)研究分担者

益崎 裕章 (MASUZAKI HIROAKI)

琉球大学・医学研究科・教授

研究者番号: 00291899

高山 千利 (TAKAYAMA CHITOSHI)

琉球大学・医学研究科・教授

研究者番号: 60197217

島袋 充生 (SHIMABUKURO MICHIO)

琉球大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 60271144

幸喜 毅 (KOUKI TSUYOSHI)

琉球大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 80273415