

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04545

研究課題名(和文) 海洋性カロテノイドによる脂肪細胞の褐色化を介したメタボリック症候群予防機構の解明

研究課題名(英文) Preventive effects on metabolic syndrome through adipose tissue browning induced by marine carotenoids

研究代表者

細川 雅史 (HOSOKAWA, Masashi)

北海道大学・水産科学研究院・教授

研究者番号：10241374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)： 褐藻中に特徴的に含まれるフコキサンチンは、食餌性肥満誘導マウスの褐色脂肪組織に加え、白色脂肪組織(WAT)においてUCP1(脱共役タンパク質1)を含むミトコンドリア因子の発現増加による褐色化を誘導し、脂質代謝の活性化を伴ってWAT重量の増加を抑制した。フコキサンチン代謝物によるミトコンドリア因子の発現増加は脂肪細胞においても観察され、その調節因子としてPGC-1の重要性が推察された。一方、褐色化に関わるベージュ脂肪細胞の数が、脂肪組織中のプロジェニター細胞により規定される可能性が高く、その数が加齢に伴い減少することを基礎知見として見出した。

研究成果の概要(英文)： Fucoxanthin contained in brown seaweeds suppressed weight gain of white adipose tissue (WAT) through induction of mitochondrion factors including uncoupling protein 1 (UCP1) in adipose tissues. In diet-induced obese mice fed fucoxanthin, fatty acid oxidation was promoted. Induction of the brown adipocyte-like phenotype was also observed in C3H10T1/2 adipocytes treated with fucoxanthin metabolites. PGC-1 α is suggested to be a critical factor to induce browning in white adipocytes by fucoxanthin. On the other hand, the number of progenitor cells to differentiate into beige adipocytes was demonstrated to decrease with aging.

研究分野：水圏生命科学

キーワード：海洋性カロテノイド 脂肪組織 褐色化 シンドローム予防 プロジェニター細胞 ミトコンドリア因子 UCP1 フコキサンチン メタボリック

1. 研究開始当初の背景

肥満は、メタボリック症候群（シンドローム）を誘発し、重篤な脳・心血管疾患の危険因子になる。特に、近年の我が国では、エネルギー摂取量に大きな増加がみられないことから、エネルギー消費量の低下が肥満増大の主要な要因であると推察される。すなわち、肥満やメタボリックシンドロームを効果的に予防、改善するには生体内のエネルギー消費の活性化が重要といえる。

近年、生体内のエネルギー消費に関わる組織として、褐色脂肪組織（BAT）が注目されている。その特徴は、構成する脂肪細胞の多くが脱共役タンパク質 1（UCP1）を高発現したミトコンドリアをもち、脂肪酸を熱へと変換して効果的に消費できる点である。さらに最近の研究では、通常脂肪を蓄積する白色脂肪組織（WAT）においてもミトコンドリアが誘導されて褐色化することが明らかにされ、ベージュ細胞（褐色様脂肪細胞）として研究が進められている（*Cell Metab*, 11, 257 (2010), *Nat Cell Biol*, 15, 659 (2013)）。よって、褐色脂肪細胞やベージュ細胞を誘導し、生体内のエネルギー消費を亢進する食品成分を見出すことができれば、日常的な肥満予防への応用が期待できる。

研究代表者の細川らは、ワカメから精製したフコキサンチンが、肥満マウスに対してBATの活性化やWATの肥大化を抑制するとともに、WATでの異所性のUCP1発現誘導能を見出した。このように、脂肪組織の褐色化を誘導する食品成分の報告は少なく、フコキサンチンのユニークな構造に起因するエネルギー消費機能が推察されることから、その詳細な作用特性や分子機構の解明が期待された。一方、分担者の岡松は、マウスのBATやWAT由来の脂肪細胞株の樹立やエネルギー消費の定量方法を確立している。更に、褐色脂肪細胞の増殖がBAT全体の活性化に重要であることをUCP1 KOマウスを用いて見出しており、貴重な知見とモデル系を有している。

以上より、海洋生物に特徴的なカロテノイドによる脂肪細胞の褐色化と、それを基盤とした肥満・メタボリックシンドローム予防機構の解明をはかる本研究を着想した。

2. 研究の目的

本研究は、海洋性カロテノイドによるミトコンドリア因子の発現誘導を介した脂肪細胞の褐色化作用とそれらを基盤としたメタボリックシンドローム予防機構の解明を目的とする。そこで、脂肪細胞の褐色化に関わるUCP1をはじめとしたミトコンドリア因子の発現増加に加え、エネルギー消費の亢進作用を検討し、海洋性カロテノイドの機能特性の解明をはかる。更に、脂肪組織の褐色化機構を解析し、肥満やメタボリックシンドローム予防への有用性と作用特性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 食餌性肥満誘導マウスに対するフコキサンチンの抗肥満効果とエネルギー代謝におよぼす影響

褐藻抽出したフコキサンチンを高脂肪食投与による食餌性肥満誘導 C57BL/6J マウスおよび肥満モデル KK-*AY* マウスに投与して脂肪組織重量への影響を調べた。同時に、WATやBATにおけるUCP1やチトクロームCなどのミトコンドリア因子の発現を測定し、脂肪組織の褐色化誘導能を評価するとともに、呼吸商（CO₂排出量/O₂摂取量）の測定により生体内のエネルギー栄養素消費への影響を検討した。更に、UCP1 ノックアウトマウスを用いた試験を行い、フコキサンチンの抗肥満効果の発現に及ぼすUCP1 およびミトコンドリア因子増生との関連について検討した。

(2) 脂肪細胞を用いたUCP1発現系の構築とカロテノイドによる発現誘導解析

海洋性カロテノイドによる脂肪細胞の褐色化機能を解明するため、株化脂肪細胞であるC3H10T1/2細胞およびBATより樹立した褐色脂肪細胞HB2を用いたUCP1およびミトコンドリア因子の発現誘導系の構築を進めるとともに、各種海洋性カロテノイドおよびその生体内代謝物を用いた評価を行った。

(3) 海洋性カロテノイドによる抗肥満およびメタボリックシンドローム予防効果

緑藻より抽出したシホナキサンチンを糖尿病/肥満 KK-*AY* マウスに経口投与して、WAT重量、血糖値、血中脂質低下作用を評価した。また、C3H10T1/2細胞系におけるUCP1 mRNA発現への影響について検討した。

(4) 白色脂肪細胞の褐色化誘導機構解明のための基盤研究

褐色化が誘導される寒冷刺激やアドレナリン 3 受容体アゴニスト処理したマウスやハムスターより脂肪組織を採取して、それらを構成する脂肪細胞に加え、progenitor細胞やマクロファージの増殖や活性化を解析することにより、褐色化機構の生理的基盤解明を試みた。

4. 研究成果

(1) 食餌性肥満誘導マウスに対するフコキサンチンの抗肥満効果とエネルギー代謝におよぼす影響

ワカメより抽出したフコキサンチンを高脂肪食飼料とともに経口投与することにより

り、C57BL/6J マウスの WAT の増大を抑制した。これにより、従来の肥満モデルマウスに加え、食餌性肥満誘導マウスにおいても抗肥満効果を発揮することが示された。さらに、褐色脂肪組織 (BAT) に加え WAT において、UCP1 やチトクローム C、Tfam などのミトコンドリア因子の発現増加または増加傾向が認められたことから、食餌性肥満モデルにおける WAT の褐色化が推察された。いずれの脂肪組織においても、ミトコンドリア因子の発現調節に関わる PGC-1 のタンパク質発現レベルが亢進しており、褐色化制御因子であることが推察された。

食餌性肥満誘導 C57BL/6J マウスを用いて、フコキシサンチン投与による O_2 消費量および CO_2 排出量への影響を測定することにより、呼吸商 (RQ = CO_2 排出量 / O_2 消費量) を算出して、エネルギー成分である糖及び脂質消費への影響を調べた。その結果、フコキシサンチンを投与したマウスではコントロール群と比較して、暗期および明期における呼吸商が有意に低い値を示し、糖代謝に対し脂質代謝が促進されることが推察された (図 1)。一方、マウスの行動量についても観察を行ったが、両群間に有意な差が認められなかった。よって、運動量による脂質代謝の活性化ではなく、脂肪組織の褐色化を介した脂質代謝の活性化が示唆された。また、糖尿病/肥満 KK-*A* マウスを用いてフコキシサンチン経口投与による RQ への影響についても調べた結果、コントロール群では RQ 値の日周リズムが見られず、明暗期を通して RQ = 0.85-0.90 を推移したのに対し、フコキシサンチン投与群では RQ に日周リズムが認められ、インスリン抵抗性の改善をとまうエネルギー消費の正常化の可能性が示唆された。

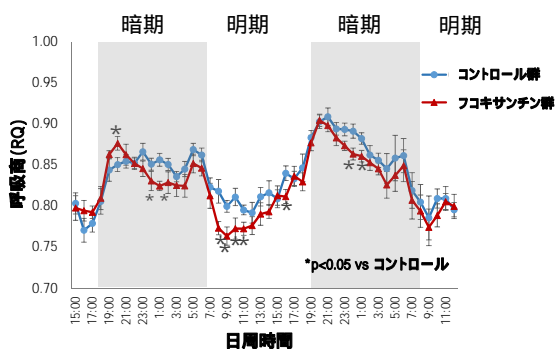


図1 フコキシサンチンによる食餌性肥満誘導マウスの呼吸商 (RQ) におよぼす影響

フコキシサンチンによる脂肪組織の褐色化を介した抗肥満効果の発現における作用機序として、UCP1 およびミトコンドリア因子の発現との因果関係を明らかにするため、UCP1 欠損マウスを用いた検討を行った。6 週間の飼育後の測定において、フコキシサンチン摂取は野生型マウスに加え、UCP1 欠損マウスにおいても食餌性肥満を抑制した。さらに、フコ

キシサンチンを投与した UCP1 欠損マウスでは、特に BAT においてチトクローム C や Tfam など UCP1 を除くミトコンドリア因子の mRNA 発現に増加が見られたとともに、WAT において一部ベージュ様脂肪細胞の存在が観察された。加えて、脂肪組織における acyl-CoA dehydrogenase や Cpt1 β などの脂肪酸 β 酸化酵素の mRNA 発現に上昇がみられた。以上の結果より、フコキシサンチンの抗肥満効果の作用機序として UCP1 に依存しないメカニズムも関与することが予想された。

(2) 脂肪細胞を用いた UCP1 発現系の構築とカロテノイドによる発現誘導解析

本研究では、海洋性カロテノイドの脂肪細胞の褐色化機序を解明するため、脂肪細胞を用いた実験系の構築を進めた。株化脂肪細胞である C3H10T1/2 細胞に加え、岡松らが樹立した褐色脂肪細胞 HB2 を用いた UCP1 の発現誘導系を確立した。C3H10T1/2 細胞を用いて種々の海洋性カロテノイドによる UCP1 mRNA 発現量への影響を評価した結果、フコキシサンチン代謝物であるフコキシサンチノールやアマロウシアキシサンチン A の単独処理では効果が認められないのに対し、isoproterenol と併用することによって UCP1 の mRNA が誘導されることを見出した (図 2)。特に、アマロウシアキシサンチン A では、フコキシサンチノールと異なり脂肪細胞の分化誘導初期に処理することによって UCP1 の mRNA 発現が上昇したことから、分化制御因子に関わる異なる作用機序が示唆された。また、フコキシサンチノールによる UCP1 mRNA の発現誘導効果は、HB2 細胞においても確認された。一方、C3H10T1/2 細胞において炎症性サイトカイン TNF 処理によって低下する UCP1 mRNA の発現量はフコキシサンチノールにより抑制され、ミトコンドリア転写因子の Tfam や制御因子 PGC-1 α の mRNA 発現の増加がみられたことから、細胞レベルでの褐色化誘導機能が示された。これらの結果は、フコキシサンチノールによる UCP1 mRNA 発現誘導作用が抗炎症作用に関連することを示唆するものと考えられる。

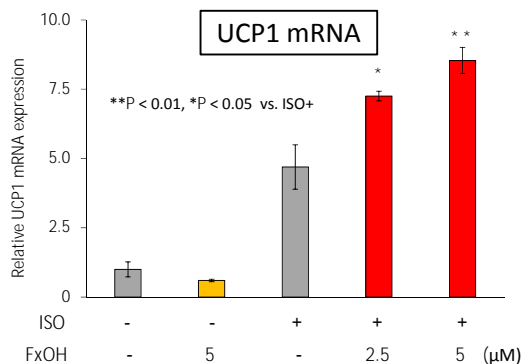


図2 フコキシサンチノールのC3H10T1/2脂肪細胞に対するUCP1 mRNAの発現誘導作用

ISO: Isoproterenol, FxOH: Fucoxanthinol

(3) 海洋性カロテノイドによる抗肥満効果およびメタボリックシンドローム予防効果

本研究では、褐藻由来のフコキサンチン以外に深所性緑藻のモツレミルより抽出したシホナキサンチンが、糖尿病/肥満 KK-*A* マウスの WAT 中に UCP1 および PGC-1 を発現誘導し、褐色化を誘導することを見出した。更に、血糖値の低下に加え、血中脂質の低下作用が見られたことから、肝臓における脂肪酸合成および糖新生酵素への影響を検討した結果、それら酵素の mRNA 発現低下作用を明らかにした。UCP1 の発現誘導は、C3H10T1/2 細胞系においても認められ、新たな機能性カロテノイドとして緑藻由来シホナキサンチンが注目される。

(4) 白色脂肪細胞の褐色化誘導機構解明のための基盤研究

WAT を構成する脂肪細胞での褐色化誘導機構を解明するため、寒冷刺激やアドレナリン 3 受容体アゴニストを用いた progenitor 細胞の増殖およびマクロファージの遊走の関与を評価する実験系を確立した。また、脂肪組織の褐色化に関連する脂肪細胞数の制御機構についてマウスを用いて解析を行った結果、褐色脂肪細胞の増殖が交感神経-3 アドレナリン受容体経路により制御されること、ベージュ脂肪細胞の数は組織中のプロジェニター細胞により規定される可能性が高いこと、およびプロジェニター細胞の数が加齢に伴い減少することを見出した。

一方、マウスやハムスターを用いた脂肪組織の褐色化機構に関わる検討において、褐色脂肪細胞の増殖を停止させたモデルマウスでは、褐色脂肪組織量および基礎エネルギー消費量が減少すること、白色脂肪組織の存在部位によるベージュ脂肪細胞誘導能の違いにはマクロファージ活性化の部位差が関わること、褐色脂肪組織が出生後に形成されるハムスターを用い、環境温度が前駆脂肪細胞や血管内皮細胞の増殖に影響して褐色脂肪組織形成の調節を制御することを明らかにした。

以上の結果は、フコキサンチンを含めた機能性物質による脂肪組織の褐色化機構やエネルギー消費の活性化機構を明らかにするうえで意義深い知見と考える。

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 14 件)

- (1)K. Nagaya, Y. Okamatsu-Ogura (他 4 名、2 番目). Effect of ambient temperature on the proliferation of brown adipocyte progenitors and endothelial cells during

postnatal BAT development in Syrian hamsters. *J. Physiol. Sci.*, 査読あり, (2018)(in press). doi: 10.1007/s12576-018-0606-8.

- (2)K. Machida, Y. Okamatsu-Ogura (他 4 名、2 番目). Role of macrophages in depot-dependent browning of white adipose tissue. *J. Physiol. Sci.*, 査読有, (2018)(in press). doi: 10.1007/s12576-017-0567-3.
- (3)Y. Okamatsu-Ogura (他 4 名、1 番目). Brown adipocytes postnatally arise through both differentiation from progenitors and conversion from white adipocytes in Syrian hamster. *J. Appl. Physiol.*, 査読有, 124, 99-108 (2018). doi: 10.1152/jappphysiol.00622.2017.
- (4)細川雅史. 水産物脂質成分の特徴と機能性. *Food Style*21, 査読無, Vol 21, No 6, 39-44 (2017).
- (5)小泉次郎・細川雅史. 食品中のカロテノイド類. 農業および園芸, 査読無, 92, 875-880 (2017).
- (6)K. Miyashita, M. Hosokawa. Fucoxanthin in the management of obesity and its related disorders. *J. Funct. Foods*, 査読有, 36, 195-202 (2017). doi: 10.1016/j.jff.2017.07.009
- (7)Y. Okamatsu-Ogura (他 8 名、1 番目). Cell-cycle arrest in mature adipocytes impairs BAT development but not WAT browning, and reduces adaptive thermogenesis in mice. *Sci. Rep.*, 査読有, 7, 6648 (2017). doi: 10.1038/s41598-017-07206-8.
- (8)W. Shin, Y. Okamatsu-Ogura (他 4 名、2 番目). Impaired adrenergic agonist-dependent beige adipocyte induction in aged mice. *Obesity*, 査読有, 25, 417-423 (2017). doi: 10.1002/oby.21727
- (9)岡松優子. 褐色脂肪細胞によるエネルギー代謝調節. *FOOD STYLE* 21, 査読無, Vol 21, No 8, 60-63 (2017).
- (10)細川雅史. 海洋性カロテノイドの健康機能. *New Food Industry*, 査読無, 58, No. 6, 7-12 (2016).
- (11)西川翔、細川雅史、宮下和夫. 褐藻由来フコキサンチンの抗肥満・抗糖尿病効果とその機序. 化学と生物, 54, 査読無, 580-585 (2016).
- (12)K. Fukano, Y. Okamatsu-Ogura (他 3 名、2 番目). Cold exposure induces proliferation of mature brown adipocyte in a β 3-adrenergic receptor-mediated pathway. *PLoS One*, 査読有, 11, e0166579 (2016). doi: 10.1371/journal.pone.0166579
- (13)宮下和夫、細川雅史. ニュートリゲノミクス解析に基づく褐藻カロテノイド、

- フコキサンチンの栄養機能性. 生物の科学 遺伝, 査読無, 69 (1), 21-27 (2015).
- (14)宮下和夫、細川雅史. 褐藻カロテノイド、フコキサンチン. FFI Journal, 査読無, 220 (2), 101-108 (2015).
- [学会発表](計 27 件)
- (1)M. Hosokawa (他 5 名、1 番目). Identification of apo-fucoanthinoids and their anti-inflammatory effects. The 18th International Symposium on carotenoids, 2017.
- (2)秋田知輝、岡松優子、細川雅史 (他3名、4 番目、6番目). 海洋性カロテノイドによる脂肪細胞のエネルギー代謝因子制御. 第56回日本油化学会年会、2017年.
- (3)田谷 大輔、宮下和夫、細川 雅史. 脂肪細胞-マクロファージ間相互作用に対するフコキサンチン開裂物の制御効果. 第56回日本油化学会年会、2017年.
- (4)細川雅史 (他3名、1番目). 褐藻カロテノイド開裂物の脂肪組織における抗炎症作用. 第38回日本肥満学会、2017年.
- (5)田谷 大輔、細川 雅史 (他3名、2番目). フコキサンチン開裂物の炎症因子産生抑制効果. 第31回カロテノイド研究談話会、2017年.
- (6)細川雅史、北方圏海藻の食品利用を目指した基礎研究. さが機能性・健康食品開発拠点「さがフード&コスメラボ」セミナー『「海藻」と「水草」の“チカラ”』、2017年.
- (7)高橋菜摘、岡松優子 (他 3 名、2 番目). 新生仔期の A/J マウスにおけるベージュ脂肪細胞の誘導. 第 160 回 日本獣医学会 学術集会、2017.
- (8)長屋一輝、岡松優子 (他 3 名、2 番目). シリアンハムスターにおける生後の褐色脂肪組織形成を制御する因子の解明. 第 160 回 日本獣医学会学術集会、2017.
- (9)岡松優子. シリアンハムスターにおける褐色脂肪組織の生後発達機構. 第 1 回冬眠睡眠研究会、2017 年.
- (10)S. Woongchul, Y. Okamatsu-Ogura (他 4 名、2 番目). Impact of aging and obesity on beige adipocyte generation induced by 3-adrenoceptor agonist in mice. The 5th Sapporo Summer Seminar for One Health, 2017.
- (11)M. Hosokawa (他 4 名、1 番目). Regulation of metabolic control factors via PGC-1 up-regulation by fucoxanthin. 107th AOCs Annual Meeting & EXPO, 2016.
- (12)細川雅史. 海藻カロテノイドの機能性. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会 シンポジウム「食資源としての海洋生物」、2016 年.
- (13)大内裕佳、岡松優子、細川雅史 (他 3 名、4 番目、6 番目). フコキサンチンによる食餌性肥満マウスの白色脂肪組織にお
- ける褐色化誘導. 第 37 回日本肥満学会、2016 年
- (14)大内裕佳、細川雅史 (他 1 名、3 番目). 海洋性カロテノイドのエネルギー代謝因子制御機構の解明. H28 年度日本水産学会北海道-東北合同支部大会、2016 年.
- (15)M. Hosokawa. Anti-obesity and anti-diabetic effects of fucoxanthin through regulation of metabolic control factors. International Symposium “Lipids, Nutraceuticals and Healthy Diets throughout the Life Cycle”, 2016.
- (16)Y. Okamatsu-Ogura (他 5 名、1 番目). Adipocyte-specific overexpression of p27kip1 inhibits brown adipose tissue development in mice. The 13th International Congress on Obesity, 2016.
- (17)K. Fukano, Y. Okamatsu-Ogura, (他 2 名、2 番目). Cold exposure induces proliferation of mature brown adipocytes, Possible role of beta3-adrenergic receptor stimulation. The 13th International Congress on Obesity, 2016.
- (18)町田拳、岡松優子 (他 3 名、2 番目). 白色脂肪組織の褐色化機構におけるマクロファージの役割. 第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年.
- (19)S. Woongchul, Y. Okamatsu-Ogura (他 4 名、2 番目). Adrenergic induction of beige adipocyte in WAT is attenuated with aging in mice. 第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年.
- (20)長屋一輝、岡松優子 (他 3 名、2 番目). 環境温度がシリアンハムスターにおける褐色脂肪組織の生後発達に及ぼす影響. 第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年.
- (21)岡松優子: 褐色脂肪細胞の増殖と適応熱産生 adaptive thermogenesis における役割. 第 37 回日本肥満学会、2016 年.
- (22)細川雅史. マリンケミカル“アスタキサンチン”の炎症性疾患予防への有効性. 第 11 回アスタキサンチン研究会、2015 年.
- (23)細川雅史 (他 5 名、1 番目). 褐藻由来フコキサンチンの肥満脂肪組織における慢性炎症抑制機構. 第 29 回カロテノイド研究談話会、2015 年.
- (24)勝木曉美、細川雅史 (他 2 名、2 番目). 緑藻モツレミル脂質の糖尿病/肥満 KK-A^y マウスの内臓脂肪蓄積および血糖値上昇への影響. 第 36 回日本肥満学会、2015 年.
- (25)深野圭伍、岡松優子 (他 3 名、2 番目). 寒冷暴露時の褐色細胞組織増生機構. 第 20 回アディポサイエンス・シンポジウム. 2015 年.

- (26) 岡松優子 (他 3 名、1 番目) . 加齢マウスにおけるペーグジュ脂肪細胞誘導能の低下 . 第 36 回日本肥満学会、2015 年 .
- (27) 深野圭伍, 岡松優子, (他 3 名、2 番目) 坪田あゆみ, 小林純子, 木村和弘 . 寒冷暴露における成熟褐色脂肪細胞の増殖 . 第 36 回日本肥満学会、2015 年 .

〔図書〕(計 1 件)

- (1) 西川翔、細川雅史、宮下和夫 . 「第 4 章 褐藻由来フコキサンチンの抗肥満・抗糖尿病作用」、283 (57-71)、2015 年、芦田均・立花宏文・原 博編、「食品因子による栄養機能制御」、建帛社、東京 .

〔その他〕

ホームページ等
該当無し

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

細川 雅史 (HOSOKAWA Masashi)
北海道大学・大学院水産科学研究院・准教授
研究者番号：10241374

(2) 研究分担者

岡松 優子 (OKAMATSU Yuko)
北海道大学・大学院獣医学研究科・講師
研究者番号：90527178

(3) 連携研究者

無し

(4) 研究協力者

勝木 暁美 (KATSUKI Ami)
大内 裕佳 (OHUCHI Yuka)
田谷 大輔 (TYA Daisuke)
立山 莉帆 (TATEYAMA Riho)
(平成 26 年まで研究協力者)
秋田 知輝 (AKITA Tomoki)
(平成 26 年より研究協力者)