

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07734

研究課題名(和文) 核内受容体を介した褐色脂肪細胞機能亢進作用を有する食品成分の探索・機能解析

研究課題名(英文) Study on the food ingredients which induce browning in white adipocytes via the activation of nuclear receptors

研究代表者

後藤 剛 (Goto, Tsuyoshi)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：10550311

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：白色脂肪組織が褐色脂肪組織様の高い熱産生能を獲得する「褐色化」は肥満症に対する新たな標的として期待されている。本研究では、リガンド要求性転写因子、核内受容体を介した褐色化について検討し、以下の2点に代表される知見を得た。1. 核内受容体PPAR α の合成リガンドによる活性化は、肝臓FGF21の産生亢進を介して褐色化を誘導することを見出した。2. 食品由来PPAR α 活性化因子であるphytanic acidは脂肪組織PPAR α の直接的な活性化を介して褐色脂肪組織機能を亢進することを見出した。以上より、PPAR α 活性化因子は種々の分子機構により褐色脂肪組織機能亢進作用を示すことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満は食生活との関連が深く、現在の世界的な肥満者数の増加は、食に関する最大の健康問題の一つとなっている。白色脂肪組織の褐色化に代表される褐色脂肪組織機能亢進はエネルギー消費亢進を惹起し、肥満症の予防・治療効果が期待されている。本研究では、核内受容体PPAR α 活性化により、種々の分子機構によって褐色脂肪組織機能亢進が惹起されることを見出したものである。特に食品中には様々なPPAR α 活性化因子が見出されていることから、これらの食品成分を用いた肥満症の新たな予防法の創出が期待される。

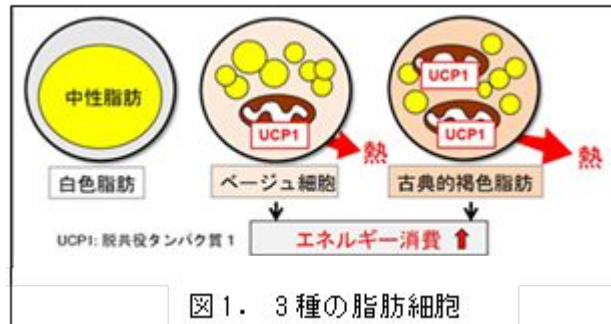
研究成果の概要(英文)：Browning of white adipose tissue (WAT) is an attractive target for the management of obesity. In this study, we investigated about the browning induced by the activation of nuclear receptors which are the transcription factors activated by the ligands. We mainly showed the following two points. 1. Activation of PPAR α , a nuclear receptor, induces browning of WAT via the increase in the production of a hepatokine, FGF21 in the liver. 2. Phytanic acid which is identified as a food-derived PPAR α ligand can activate brown adipose tissue function via the direct activation of PPAR α in adipocytes at least partially. These findings indicate that food-derived PPAR α activator might be useful for the management of obesity via the activation of brown adipose tissue function.

研究分野：食品機能学

キーワード：肥満 褐色脂肪組織 白色脂肪組織 核内受容体 PPAR α UCP1

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織を構成する脂肪細胞は従来、エネルギー貯蔵を担う白色脂肪細胞と高いエネルギー消費活性を示し、体温維持などに寄与する褐色脂肪細胞の2種類に大別されてきたが、最近、ベージュ脂肪細胞と呼ばれる第3の脂肪細胞の存在が示された(図1)。ベージュ脂肪細胞は特定の刺激に応じて白色脂肪組織内に発現する褐色脂肪細胞様の高い熱産生能を有する脂肪細胞であり、ベージュ脂肪細胞の発現は白色脂肪組織が褐色脂肪組織に近い形質を獲得することから、『褐色化』と呼ばれている。さらに近年、成人においても機能的な褐色脂肪組織が存在すること、その活性が肥満度と逆相関することが示され、『褐色化』に代表される褐色脂肪組織機能を亢進させることが、新たな肥満症に対する予防・改善策として期待される(Nat Rev Endocrinol. 2014)。



褐色脂肪細胞機能を亢進させる食品成分として、カプサイシンなどが知られている。これらの物質は、感覚神経に存在する温度感受性受容体で感知され、交感神経の活性化を介して褐色脂肪細胞機能を亢進させる (Curr Opin Lipidol. 2013)。しかし、交感神経系の活性化は脂肪組織以外の多くの組織機能に対しても多様な影響を与えるため、副作用を考慮する必要がある。一方で交感神経活性化を来すことなく、褐色脂肪細胞機能を亢進させる食品成分の報告(特に白色脂肪細胞の褐色化に関する報告)はほとんど無い。そこで本研究では、申請者らがこれまで検討してきた核内受容体機能と活性調節食品成分について着目し、交感神経活性化作用を示すことなく褐色脂肪組織機能亢進作用を示す食品成分の同定およびその作用機構の解明を目指した。

2. 研究の目的

本研究は核内受容体による褐色脂肪組織機能亢進機構について明らかにし、核内受容体の活性調節を介した食品成分による褐色脂肪細胞機能調節の可能性について検証することを目的とした研究である。

3. 研究の方法

(1) 核内受容体 PPARα 活性化剤投与時の褐色脂肪組織機能亢進機構の解析

核内受容体ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体α (PPARα) の機能は肝臓において詳細な検討が行われており、肝臓における PPARα の活性化は脂肪酸酸化亢進を惹起する。褐色脂肪組織は高い脂肪酸酸化活性を有する組織であることから、PPARα 活性化が褐色脂肪組織機能に与える影響について検討を行うこととした。

PPARα 活性化剤である fenofibrate (Feno) 投与がエネルギー代謝調節に与える影響について検討を行うため、Feno を高脂肪食摂取マウス (C57BL/6J) に投与し、体重、酸素消費量、血液パラメーター、摂餌量、耐糖能、インスリン感受性等について評価した。耐糖能については糖負荷試験、インスリン感受性についてはインスリン負荷試験を行うことで評価した。また、Feno 投与による代謝変動における脂肪組織の役割について検討を行うため、脂肪萎縮症モデルマウス (A-Zip/F1) に対して Feno 投与を行い、同様の項目について評価した。さらに、Feno 投与による代謝改善作用における繊維芽細胞増殖因子 21 (FGF21) の役割についても、FGF21 欠損マウス (FGF21 KO) を用いて同様の評価を行った。これら実験動物より単離した組織については、mRNA 発現量およびタンパク質発現量、組織学的解析を行った。また、Feno 投与時の活性本体である fenofibric acid の組織分布についても検討を行った。

(2) 食品由来 PPARα 活性化因子、phytanic acid の褐色脂肪組織活性化作用の検討

ヒト PPARs リガンド結合部位を用いたレポーターアッセイにより食品由来成分の PPARs 活

性化能を評価し、活性化化合物の探索を行った。

肥満糖尿病モデルとして、KK-Ay マウスを用いて PPAR α に対する選択的な活性化作用を示した phytanic acid 前駆体の phytol の投与実験を行った。体重、組織重量、血液パラメーター、摂餌量、耐糖能、インスリン感受性等について評価した。単離した組織については、mRNA 発現量およびタンパク質発現量、組織学的解析、phytol 代謝物定量を行った。また、野生型マウス、PPAR α 欠損マウスより単離した初代培養肝細胞、初代培養褐色脂肪細胞および培養褐色脂肪細胞株である HB2 細胞を用いて、phytanic acid などのこれら標的細胞に対する影響について検討を行った。

4. 研究成果

(1) 核内受容体 PPAR α 活性化剤投与時の褐色脂肪組織機能亢進機構の解析

C57BL/6J マウスに対する Feno 投与は摂餌量に影響を来すことなく、高脂肪食負荷による体重増加を抑制した。Feno による体重増加抑制作用には脂肪組織重量の増加抑制が寄与していることが明らかとなった。高脂肪食摂取により肥満を誘導させた C57BL/6J マウスに対する Feno 投与は摂餌量に変化を与えず、体重・脂肪重量低下作用を示した。これより Feno 投与は抗肥満作用を示すことが明らかになった。Feno 投与マウスでは肥満に伴う耐糖能異常やインスリン抵抗性の改善も認められた。

脂肪萎縮症モデルマウスである A-Zip/F1 マウスに対する Feno 投与の効果について検討を行ったところ、Feno 投与は脂肪萎縮による高中性脂肪血症の有意な改善作用を示したものの、高血糖、耐糖能異常、インスリン抵抗性といった糖質代謝異常症に対する改善効果は認められなかった。これらの結果より、Feno 投与時の脂質代謝異常症改善効果は脂肪組織機能に依存しないが、糖質代謝改善作用については脂肪組織機能が重要な役割を担っていることが示唆された。

次に、PPAR α 活性化時に肝臓で産生され脂肪組織に作用する液性因子、FGF21 の Feno による代謝改善作用への寄与について、FGF21 KO マウスを用いて検討を行った。高脂肪食負荷により肥満させたマウスに対し Feno 投与を行ったところ、野生型マウスでは肥満改善効果が認められたものの、FGF21 KO マウスでは肥満改善作用は認められなかった。この際、Feno 投与により野生型マウスでは酸素消費量が増加していたが FGF21 KO マウスではその効果が認められなかったことから、Feno 投与時の抗肥満効果の少なくとも一部には、FGF21 依存的なエネルギー消費量の亢進作用が寄与しているものと考えられた。さらに、Feno 投与により野生型マウスでは耐糖能異常、インスリン抵抗性の改善が認められたが、FGF21 KO マウスではこれらの代謝異常改善効果は限定的なものに留まった。

野生型マウスに対する Feno 投与は白色脂肪組織の脱共役タンパク質 1 (UCP1) に代表される褐色脂肪組織機能関連遺伝子の発現亢進が起こっており、寒冷耐性の亢進が認められたことから、褐色脂肪組織機能亢進が惹起されていることが示唆され、Feno 投与時のエネルギー消費亢進に寄与しているものと考えられた。一方で Feno 投与による褐色脂肪組織機能亢進作用は FGF21 KO マウスでは認められなかった。

Feno 投与は肝臓において FGF21 発現を顕著に誘導したが、脂肪組織や骨格筋においては FGF21 発現に影響を与えなかった。これより、Feno 投与時に認められる血中 FGF21 レベルの上昇は肝臓での FGF21 産生亢進の寄与が大きいことが示唆された。その要因として、肝臓は高い PPAR α 発現を示すことおよび、Feno の活性本体である fenofibric acid が肝臓に強く集積することが考えられた。

以上の結果より、Feno 投与は褐色脂肪組織機能亢進作用を示すが、本作用には肝臓 PPAR α 活性化に伴う FGF21 産生亢進、FGF21 の脂肪組織に対する作用が重要であることが示唆された。また、Feno 投与による抗肥満作用・糖質代謝異常改善作用には、褐色脂肪組織機能亢進に代表される脂肪組織機能の改善が重要な役割を担っていることが明らかとなった。

(2) 食品由来 PPAR α 活性化因子、phytanic acid の褐色脂肪組織活性化作用の検討

食品由来成分中のヒト PPARs 活性化能について、レポーターアッセイにより評価を行い、PPAR α に対して選択的に活性化作用を示す化合物、phytanic acid を同定した。

そこで、phytanic acid 前駆体である phytol を肥満糖尿病モデル KK-Ay マウスに投与し、その効果について検討を行った。phytol 投与群では、肝臓と脂肪組織において phytanic acid の蓄積が認められた。phytol 投与は体重・白色脂肪組織重量の増加を抑制し、肥満に伴う白色脂肪細胞の肥大化、低アディポネクチン血症、脂肪組織炎症といった脂肪組織機能異常の発症を抑制した。また、phytol 摂取群では耐糖能異常、インスリン抵抗性といった肥満に伴う糖質代謝異常の改善が認められた。

phytol 摂取群では、脂肪肝の抑制および PPAR α 標的遺伝子である脂肪酸酸化関連遺伝子の発現亢進が惹起されており、野生型マウス、PPAR α 欠損マウス由来の初代培養肝細胞を用いた解析から、これらの効果は、phytanic acid などの phytol 代謝物が肝細胞の PPAR α に直接的に作用した結果惹起されていることが示唆された。また、褐色脂肪組織においては、phytol 摂取群で UCP1 の発現量が上昇しており、褐色脂肪組織機能の亢進が示唆された。野生型マウス、PPAR α

欠損マウス由来の初代培養褐色脂肪細胞を用いた解析から、phytanic acid は褐色脂肪細胞に直接的に作用し、PPAR α 活性化を介して UCP1 の発現誘導作用を示すことが明らかになった。phytanic acid による褐色脂肪細胞機能関連遺伝子の PPAR α 依存的な発現誘導作用は、培養褐色脂肪細胞株である HB2 と PPAR α アンタゴニストを用いた実験においても示された。

以上より、食品由来成分 phytol の摂取は生体内代謝産物 phytanic acid の蓄積を誘導し、主に phytanic acid が PPAR α の活性化を介して、肝臓においては脂肪酸酸化亢進を、褐色脂肪組織においては褐色脂肪組織機能亢進作用を示すことが示唆された。その結果、phytol 摂取は肥満や肥満に伴う糖質代謝異常症、脂肪組織機能異常の改善作用を示すことが明らかとなった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Yuliana A, Daijo A, Jheng HF, Kwon J, Nomura W, Takahashi H, Ara T, Kawada T, **Goto T**, Endoplasmic Reticulum Stress Impaired Uncoupling Protein 1 Expression via the Suppression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Binding Activity in Mice Beige Adipocytes. *Int J Mol Sci*. 査読有、Vol. 20、No. 2、2019、E274

doi: 10.3390/ijms20020274

An JY, Jheng HF, Nagai H, Sanada K, Takahashi H, Iwase M, Watanabe N, Kim YI, Teraminami A, Takahashi N, Nakata R, Inoue H, Seno S, Mastuda H, Kawada T, **Goto T**. A Phytol-Enriched Diet Activates PPAR- α in the Liver and Brown Adipose Tissue to Ameliorate Obesity-Induced Metabolic Abnormalities. *Mol Nutr Food Res*. 査読有、Vol. 62、No. 6、2018、e1700688

doi: 10.1002/mnfr.201700688

Goto T, Hirata M, Aoki Y, Iwase M, Takahashi H, Kim M, Li Y, Jheng HF, Nomura W, Takahashi N, Kim CS, Yu R, Seno S, Matsuda H, Aizawa-Abe M, Ebihara K, Itoh N, Kawada T. The hepatokine FGF21 is crucial for peroxisome proliferator-activated receptor- α agonist-induced amelioration of metabolic disorders in obese mice. *J Biol Chem*. 査読有、Vol. 292、No. 22、2017、9175-9190

doi: 10.1074/jbc.M116.767590

他 3 件

〔学会発表〕(計 18 件)

後藤剛、高橋春弥、野村亘、Jheng Huei-Fen、荒武、河田照雄、脂肪組織機能を制御する食品由来成分に関する研究 日本農芸化学会 2019 年度大会 2019 年

後藤剛、高橋春弥、野村亘、Jheng Huei-Fen、河田照雄、PPAR α 活性化時の脂肪組織エネルギー代謝調節 第 73 回日本栄養・食糧学会大会 2019 年

後藤剛、褐色脂肪機能活性化作用を有する食品成分とその作用機構 第 35 回日本微量栄養学会学術集会 2018 年

Tsuyoshi Goto, Minji Kim, Tomoya Furuzono, Kunitoshi Uchida, Shigenobu Kishino, Haruya Takahashi, Huei-Fen Jheng, Jun Yamazaki, Makoto Tominaga, Jun Ogawa, Teruo Kawada、10-oxo-12(Z)-octadecenoic Acid, a Linoleic Acid Metabolite Produced by Gut Microbiota, Enhances Energy Metabolism by Activation of TRPV1 2018 American Oil Chemists' Society Annual Meeting 2018 年

後藤剛、肥満の分子メカニズムと食品成分による脂肪組織機能制御 第 2 回中性脂肪学会学術集会 2018 年

後藤剛、メタボリックシンドロームと食品機能 日本食品科学工学会第一回関西支部大会 2018 年

後藤剛、平田茉莉子、青木ゆめこ、岩瀬麻里、高橋春弥、Huei-Fen Jheng、野村亘、荒武、高橋信之、阿部恵、海老原健、伊藤信行、河田照雄、PPAR α アゴニスト摂取時の代謝改善作用における FGF21 の役割 第 38 回日本肥満学会 2017 年

後藤剛、平田茉莉子、青木ゆめこ、高橋春弥、Kim Minji、Jheng Huei-Fen、野村亘、高橋信之、河田照雄、PPAR α アゴニストは FGF21 の脂肪組織に対する作用の亢進を介して糖質代謝異常を改善する 日本農芸化学会 2017 年度大会 2017 年

Tsuyoshi Goto, Minji Kim, Teruo Kawada、Molecular functions of a dietary fatty acid metabolite produced by gut lactic acid bacteria for obesity-related metabolic diseases The 83rd Annual Meeting and International Symposium of KoSFoST 2016 年

他 9 件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 (所属分野ホームページ)

<http://www.foodfunc.kais.kyoto-u.ac.jp/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：河田照雄、高橋春弥、野村亘

ローマ字氏名：Teruo Kawada, Haruya Takahashi, Wataru Nomura

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。