

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2021

課題番号：16K21336

研究課題名(和文) 運動不足に起因した脂肪肝発症機序の解明 - 食餌制限との組み合わせの功罪 -

研究課題名(英文) Elucidation of the onset mechanism of the fatty liver caused by lack of exercise  
-The merits and demerits of the combination with dietary restrictions-

研究代表者

黒坂 裕香 (Kurosaka, Yuka)

順天堂大学・スポーツ健康科学部・助手

研究者番号：30633002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪肝に対する有効な予防・改善方法の1つとして食事制限が挙げられるが、時に食事制限が有効に作用しないケースが存在する。本研究は、脂肪肝予防に対する運動実施の役割に焦点を当て、食餌制限による脂肪肝の予防・改善効果の有無は、骨格筋量や活動量によって決定されるのか否かを明らかにすることを目指した。運動不足モデル動物での検討において、食餌制限によって誘発される肝脂肪蓄積に対して、運動不足の解消は保護効果をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、脂肪肝の予防に対しては、単にエネルギー摂取量とエネルギー消費量とのバランスだけが重要なだけでなく、運動習慣があるか否か、骨格筋の発達状態が十分であるかが重要な役割を担っている可能性があることを確認した。ヒトにおける適用には、まだ今後の検討が必要であるものの、食事制限のみに頼った体重コントロール方法は、必ずしも肝脂肪蓄積への良い影響が認められるわけではなく、運動不足や骨格筋の発達不良と重なることで、悪化を導く可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Dietary restriction is one of the effective prevention and improvement methods for non-alcoholic fatty liver, but sometimes dietary restriction does not act effectively. This study focused on the role of exercise in fatty liver prevention, and aimed to determine whether dietary restriction prevents or improves fatty liver as determined by skeletal muscle mass and activity level. In a study in an animal model of inactivity, it was suggested that the elimination of inactivity may have a protective effect on hepatic fat accumulation induced by dietary restriction.

研究分野：運動生理学 スポーツ栄養学

キーワード：非アルコール性脂肪肝 運動習慣 不活動 食事療法 食事制限

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

特定保健指導の対象者は肥満であることが条件とされているが、近年では非肥満者に対する疾病リスクが高いことも問題とされ、この制度では抜け落ちてしまう非肥満者への対応が検討されている。非アルコール性脂肪肝は、脂肪肝は肥満との合併が多いが、非肥満者であっても脂肪肝が観察されるケースが存在し、特にアジア人はその傾向が強いことが指摘されている (Azuma K. et al. 2009)。その要因として、アジア人は、皮下脂肪組織の貯蔵容量が低く、貯蔵容量を超えた脂質は、肝臓やほかの臓器に蓄積し、異所性脂肪蓄積へとつながる可能性が示唆されている。さらに、重度の栄養失調病態でも、脂肪肝を引き起こすことも知られており、これは脂質を貯蔵するべき脂肪組織の損失によるものと考えられる。一方、肥満であるか否かに関わらず、サルコペニア患者や運動不足の人は、肝臓への脂肪蓄積が増加することが複数報告されており (Hong HC. et al., 2014., Lee YH. et al. 2015) 骨格筋の喪失と肝脂肪蓄積は密接に関係していることが推察される。例えば、やせ願望や極度な食事の制限などで想定される運動をせずに体重をコントロールしようとする行動は、同時に骨格筋への運動刺激の不足や骨格筋の発達不良が生じるため、肝臓への脂肪蓄積を助長する刺激となっている可能性が高い。したがって、過剰な食事摂取と、不十分な食事摂取の両方が肝臓の脂肪蓄積に寄与する可能性があり、そこには、骨格筋や脂肪組織との連関が関わっていることが予想される。

一般的には、習慣的な運動と食事制限は、ともにエネルギー代謝の側面から体重減少に寄与し、肝脂肪蓄積抑制効果を発揮するとされている。しかし、以上のことを考慮すると、脂肪肝の予防に対しては、単にエネルギー摂取量とエネルギー消費量とのバランスだけが重要なのではなく、運動習慣があるか否か、骨格筋の発達状態などが重要な役割を担っている可能性がある。すなわち、運動不足下における食事制限は、肝脂肪蓄積を進行させる要因と成りうる可能性が高い。

したがって、肥満や脂肪肝の予防や改善を目的に実施する食事制限において、運動不足による骨格筋量の減少は、安全に食事療法を実施するために考慮しなければならない条件の一つである可能性が高い。

### 2. 研究の目的

本研究は、脂肪肝予防に対する運動実施の役割に焦点を当て、食餌制限による脂肪肝の予防・改善効果の有無は、骨格筋量や活動量によって決定されるのか否かを明らかにすることであった。運動不足・骨格筋量の観点から、脂肪肝の予防のために食事療法が適用できないケースを明らかにし、脂肪肝の予防に対する運動の役割を説明するメカニズムの検討を目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 運動不足モデルラットにおける運動と食餌制限の影響

運動不足モデルとして、雄性 Zucker Fatty (ZF) ラットと対象群として肥満や脂肪肝を発症しない Zucker Lean (ZL) ラットを用いた。ZF ラットは、レプチン受容体変異により過食が生じ、過度の肥満、肝脂肪蓄積が観察されるモデルラットである。部分的なトロポニン T の欠如により、骨格筋の発達不良が生じ (Schilder RJ. et al. 2011) 飼育ケージ内では低活動状態が観察される (Towa S. et al. 2004)。

ZF ラットを肥満 (コントロール) 群、食餌制限群、食餌制限 + 運動群に群分けをし、対象群として ZL ラットを用いた。食餌制限群は、肥満群の 70% 量に制限給餌した。食餌制限 + 運動群は、ZF ラットに加負荷式自発運動測定装置にて自発走運動を負荷し、食餌制限群と同じ体重が保てるように制限給餌した。以上の条件にて、6 週間の飼育を行い、ZF ラットに対する食餌制限単独と食餌制限と運動の併用条件による脂肪肝への影響とその作用メカニズムの検討を行った。

#### (2) 各種脂肪肝モデルラットの骨格筋重量の関係

脂肪肝モデルとして、12 週齢 ZF ラット (対象群として ZL ラット)、14 週齢 OLETF ラット (対象群として LETO ラット)、14 週齢高脂肪食条件 SD ラット (対象群として通常食条件) の体重に対する骨格筋重量を検討した。

#### (3) OLETF ラットに対する部分的骨格筋発達抑制と食餌制限の影響

OLETF ラットは、肥満や脂肪肝といった ZF ラットに類似した表現系を示す一方、骨格筋は ZF ラットと異なり体重に見合っただけの十分な発達が観察される。そして、食餌制限に対しては、ZF とは相反し、OLETF ラットは、脂肪肝の発症を抑えられることが報告されている (Rector S. et al. 2011)。骨格筋発達抑制モデルとして OLETF ラットに対して坐骨神経切除を施し、食餌制限の影響を検討した。

4 週齢 OLETF ラットをコントロール群、坐骨神経切除群、食餌制限群、坐骨神経切除 + 食餌制限群に群分けをし、対照群として LETO ラットを用いた。坐骨神経切除群には、イソフルラン麻酔下にて両側坐骨神経切除術 (Ceylan et al. 2014) を行った 10 週間の飼育の後、分析を実施した。

#### 4. 研究成果

##### (1) ZF ラットの食餌制限と運動による肝脂肪蓄積への影響

低活動で過食となる ZF ラットでは、成長に伴い過剰な体重の増加と肝脂肪蓄積が観察された。ZF ラットの食餌制限単独条件、食餌制限 + 運動条件の体重は、有意に体重の増加が抑制され、両群間に有意な差は認められなかった。肝脂肪蓄積は、食餌制限単独条件では、さらに悪化をしており、食餌制限と自発走運動を併用した場合には抑えられた。また、食餌制限のみの実施で肝脂肪蓄積が進行した状況下において、肝 TG 値、血中遊離脂肪酸、血中レプチンは悪化していたものの、血糖値、血中インスリン等の糖代謝関連指標は改善されていた。

ZF ラットに対する食餌制限の悪影響は、肝脂肪蓄積を中心に、脂質代謝を中心に観察され、運動を併用することによって、消滅した。

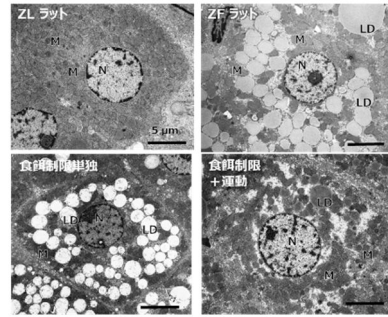


図1. 食餌制限により生じた過剰な肝脂肪蓄積と運動併用による抑制効果 (ZFラット)

##### (2) 脂肪 肝連関における脂肪肝発症メカニズムの検討

ZF ラットに食餌制限を実施し、過剰な肝脂肪蓄積が観察された条件において、脂肪細胞の肥大化が観察された。一方、運動の併用により脂肪細胞の肥大化は抑制された。この結果は、脂肪細胞数の増加により脂肪組織全体が増量した場合は、異所性脂肪蓄積は進行しないが、脂肪細胞の肥大化により脂肪組織が増量した場合には異所性脂肪蓄積を導く (Slawik M. et al. 2007, Hoffstedt J. et al. 2010) とする先行研究の結果を支持した。

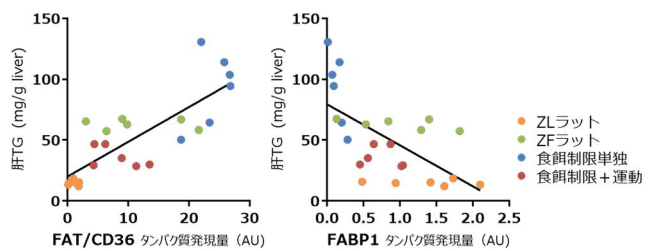


図2. 肝における脂肪酸輸送関連たんぱく質発現と肝TGとの関係

食餌制限単独条件では、肝脂肪蓄積の増加に伴い、脂肪組織での脂肪分解に関わるタンパク質発現 (ATGL, MAGL) の増加が確認され、脂肪組織における脂肪分解が活発であることが示唆された。あわせて、血中 FFA および肝 FAT/CD36 発現の増加、FABP1 の発現の減少が認められた。運動不足条件下における食餌制限は、血中への FFA 流出が増加し、肝細胞内への FFA 取り込みの増加、その後の脂肪酸処理の停滞により、肝臓への脂肪蓄積を促進した可能性が考えられた。なお、食餌制限 + 運動条件により運動不足を解消した場合は同じ食餌制限を実施してもこれらの現象を抑制した。

##### (3) 食餌制限による肝脂肪蓄積抑制効果と骨格筋量との関係

肝脂肪蓄積抑制効果に対する食餌制限の効果の有無に対する骨格筋影響を調べるために、各種脂肪肝モデルに対する食餌制限の影響と骨格筋量との関係を検討した。通常、体重に見合った骨格筋の発達認められるものの、ZF ラットにおいては、先行研究 (Schilder RJ. et al. 2011) の結果同様に相対的な骨格筋量の不足が観察された。骨格筋の発達が順調であったその他の脂肪肝モデルにおいては、食餌制限は肝脂肪蓄積の抑制に働いた。一方、骨格筋発達不良が観察された ZF ラットでは、食餌制限は肝脂肪蓄積を亢進させ、運動負荷により骨格筋重量を増加させると、食餌制限は肝脂肪蓄積の抑制に働いた。

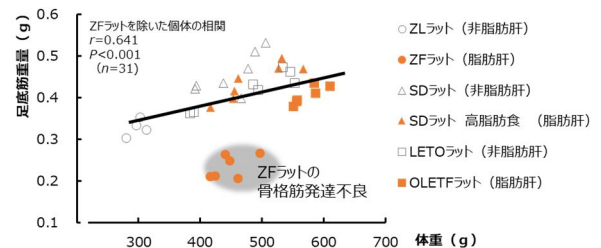


図3. 各脂肪肝モデルラットの体重と足底筋重量との関係

##### (4) OLETF ラットにおける部分的骨格筋発達抑制と食餌制限の影響

坐骨神経切除により下肢骨格筋重量は、コントロール群に対してヒラメ筋: 14.8%, 足底筋: 20.8%, 腓腹筋: 15.4%, 長指伸筋: 20.9%, 前脛骨筋: 13.7%であった。肝脂肪蓄積や血中脂質に対し、坐骨神経切除による影響は確認されず、食餌制限による反応にも変化は生じなかった。この実験での骨格筋への発達抑制は、下肢骨格筋特異的なものであったため、全身性の活動量抑制や骨格筋発達抑制モデルにおいて検討していく必要性がある

以上の結果から、運動不足モデルとして採用した ZF ラットにおける検討において、運動不足の解消は、食餌制限によって誘発される肝脂肪蓄積に対する保護効果をもたらす可能性が考えられた。本研究の結果は、食事制限のみに頼った体重コントロール方法は、必ずしも肝脂肪蓄積への良い影響が認められるわけではなく、運動不足や骨格筋の発達不良と重なることで、悪化を導く可能性があることを示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kurosaka Yuka, Machida Shuichi, Shiroya Yoko, Yamauchi Hideki, Minato Kumiko	4. 巻 22
2. 論文標題 Protective Effects of Voluntary Exercise on Hepatic Fat Accumulation Induced by Dietary Restriction in Zucker Fatty Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2014~2014
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22042014	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 -

1. 著者名 Yuka Kurosaka, Hideki Yamauchi, Shigeru Takemori, Kumiko Minato	4. 巻 7
2. 論文標題 Protective effects of dietary restriction and physical exercise on intrahepatic fat accumulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 9-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7600/jpfsm.7.9	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 黒坂裕香, 湊久美子, 山内秀樹, 町田修一, 内藤久士
2. 発表標題 過食性脂肪肝ラットの食餌制限により低下した肝脂肪酸結合タンパク質発現は運動により改善される
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒坂裕香, 内藤久士, 町田修一, 湊久美子
2. 発表標題 高脂肪食誘導型脂肪肝のリポタンパク質プロファイルと自発的運動の影響
3. 学会等名 第26回日本健康体力栄養学会大会
4. 発表年 2019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
---------	---------