

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18500564

研究課題名（和文） フルクトース摂取による肥満発症機序の解明と予防法の開発

研究課題名（英文） The mechanism of the onset of obesity caused by fructose and a method of prevention

研究代表者

山崎 聖美 (YAMAZAKI TOMOMI)

研究者番号：00218439

研究成果の概要：ddYマウスに高スクロース食、あるいは高脂肪食を11週間摂取させたところ、どのマウスも肥満とともに脂肪肝を発症した。脂肪肝はメタボリックシンドローム発症に関係する。このモデルマウスを用い、10%魚油の脂肪肝への効果について調べた。その結果、高スクロース食による脂肪肝を魚油は抑制した。これは高スクロース食によって肝臓でさかんになった脂肪酸合成が魚油によって抑えられたためであった。一方、高脂肪食による脂肪肝を魚油はさらに悪化させた。これは、高脂肪食によって活性化されたPPAR γ を魚油がさらに活性化し、また、インシュリン抵抗性が生じたためであった。以上の結果から、脂肪肝の原因によって魚油の効果が異なることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,100,000	0	1,100,000
2007年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	720,000	4,220,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

近年、肥満は「地球規模の流行病」とも言われ、世界保健機関においても食事や運動による肥満対策が重要課題となっている。日本においても中年男性の肥満が増加し、21世紀における国民健康づくり運動「健康日本21」では生活の質(QOL)の一層の向上を実現するための健康づくりとして、適正体重を維持する人の割合を増加させることが大きな目標の一つになっている。肥満の原因として、

食事中的脂肪の過剰摂取と、炭水化物、特にスクロースやフルクトースの過剰摂取が挙げられるが、肥満発症のメカニズムは原因により異なると考えられる。

さらに、非アルコール性脂肪肝は良性疾患と考えられていたが、メタボリックシンドローム発症に関係し、さらに、日本人中性男性を対象とした研究から、II型糖尿病の危険因子であると報告され、臨床的に重要な疾患として認識されるようになってき

た。非アルコール性脂肪肝発症原因としては、肥満発症原因と同様スクロースやフルクトース過剰摂取、脂肪過剰摂取があげられる。

スクロースやフルクトース過剰摂取による肥満・脂肪肝発症と脂肪過剰摂取による肥満・脂肪肝発症はその機序が異なり、予防法も異なると考えられるが、詳細な研究は行われていない。

2. 研究の目的

甘いもの、例えば砂糖やソフトドリンクの過剰摂取は肥満につながる。しかし、砂糖やソフトドリンクの摂取により肥満にいたるメカニズムには、肝臓での *de novo* の中性脂肪合成がさかんになり VLDL の分泌が増えるためと考えられるが不明の点が多い。そこで、本研究は、砂糖やソフトドリンク、その中に含まれるフルクトースによる生じる肥満のメカニズムを脂肪により生じる肥満と比較・解明し、日本人のメタボリックシンドロームの診断基準である肥満及び高トリグリセライド血症に対する予防法を見出す。また、メタボリックシンドローム発症に関係することが明らかになった脂肪肝についても発症原因別に機序解明を行い、予防法を見出す。

3. 研究の方法

(1) 高スクロース食摂取マウス及び高脂肪食摂取マウスの解析、及び魚油の効果

マウス (ddY、♂) をスターチ食 (10en% 脂肪 (全てサフラワー油) を含むエサ、飲み物は水) のコントロール群; 高スクロース食群 (10en% 脂肪 (全てサフラワー油) を含むエサ、20% スクロース水); 高脂肪食群 (60en% 脂肪 (全てサフラワー油) を含むエサ、飲み物は水) の3群に分け、それぞれに対し、10en% 魚油を添加した群、添加しない群の計6群に分け、11週間飼育し解剖を行った。

(2) 高サフラワー油食摂取及び高バター食摂取マウスの解析、及び魚油の効果

マウス (ddY、♂) を高サフラワー油食群 (60en% 脂肪 (全てサフラワー油) を含むエサ、飲み物は水) 及び高バター食摂取群 (60en% 脂肪 (全てバター) を含むエサ、飲み物は水) の2群に分け、それぞれに対し、10en% 魚油を添加した群、添加しない群の計4群に分け、11週間飼育し解剖を行った。

(3) 肝臓特異的 PGC-1 β 過剰発現マウスの作製及び解析

PGC-1 β を発現するアデノウィルスを作製し、マウスに注射して肝臓特異的に発現させ、解析を行った。

(4) 肝臓特異的 PGC-1 β 過剰発現マウスに対する肝臓での DGAT1 発現抑制の効果

DGAT1 の発現を抑制する shRNA を発現するアデノウィルスを作製し、上記 (3) で作製した肝臓特異的 PGC-1 β 過剰発現マウスに注射し肝臓での DGAT1 の発現を抑制し解析を行った。

(5) 高スクロース/フルクトース食及び高脂肪食反応部位の解析

高スクロース/フルクトース食に肝臓で応答する SREBP-1c 遺伝子の 5'側プロモーター領域 2kb、及び高脂肪食に肝臓で応答する PPAR γ 遺伝子の 5'側プロモーター領域 2kb について色々な系統のマウスでシーケンズを行い解析を行った。さらに、PPAR γ プロモーターについてはクローニングし、ラット肝臓培養細胞を用いてレポーター遺伝子アッセイを行った。

4. 研究成果

(1) 高スクロース食摂取マウス及び高脂肪食摂取マウスの解析、及び魚油の効果 (図1)

血中 TG 濃度はどの群間でも差がなかった。肝臓 TG 量は、コントロール群に比べ、高スクロース摂取群、高脂肪食摂取群で有意に増加した。また、高スクロース食による脂肪肝を魚油は抑制した。これは高スクロース食によって肝臓でさかんになった脂肪酸合成 (SREBP-1c の活性化) が魚油によって抑えられたためであった。一方、高サフラワー食による脂肪肝を魚油はさらに悪化させた。これは、高サフラワー食によって活性化された PPAR γ を魚油がさらに活性化し、また、インシュリン抵抗性が生じたためであった。

(2) 高サフラワー油食摂取及び高バター食摂取マウスの解析、及び魚油の効果 (表1)

高バター食は高サフラワー油食よりも肝臓に TG を多く蓄積させたが、高バター食による脂肪肝には魚油は影響しなかった。高バター食により活性化された PPAR γ は魚油によって抑えられていたが、食後血中 TG 濃度が高いために脂肪肝を改善するまで至らなかったと考えられた。

(3) 肝臓特異的 PGC-1 β 過剰発現マウスの作製及び解析

肝臓特異的 PGC-1 β 過剰発現マウスは血中 VLDL-TG 濃度が増加し、VLDL 分泌のために TG を合成する酵素である DGAT1 の発現が増加していたが、肥満にはいたらなかった。

(4) 肝臓特異的 PGC-1 β 過剰発現マウスに対する肝臓での DGAT1 発現抑制の効果

肝臓特異的に PGC-1 β を過剰発現させると DGAT1 の発現が増加し、血中 TG 濃度も増加する。そこで、肝臓特異的に DGAT1 の発現を抑制する shRNA を発現するアデノウィルスを作製し、実際肝臓に PGC-1 β を過剰発現させた上で DGAT1 の発現を抑制したところ、血中 TG 濃度の増加が抑制されたが肥満の程度には変化がなかった。

(5) 高スクロース/フルクトース食及び高脂肪食反応部位の解析

高スクロース/フルクトース食摂取によって通常肝臓では転写因子 SREBP-1c が活性化される。しかし、SREBP-1c が活性化されないマウス系統も存在する。そこで、両マウスの SREBP-1c プロモーター領域について、クロニングレシークエンスを比較した。しかし、反応性の違いに結びつくような転写因子結合部位の違いはみられなかった。さらに、高脂肪食摂取によって肝臓では転写因子 PPAR γ が活性化されるが、マウス系統によって、その活性化が異なることを見出した。それぞれのプロモーター領域をクロニングし、ラット肝臓培養細胞を用いてレポーター遺伝子アッセイを行った結果、in vivo ほどの差はみられなかったが、やはり反応性が異なり、PPAR γ プロモーター領域にはマウスによって高脂肪食摂取により異なる発現調節機構が働い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 3 件)

- ① Miura S, Tomitsuka E, Kamei Y, Yamazaki T, Kai Y, Tamura M, Kita K, Nishino I, Ezaki O, Overexpression of peroxisome proliferators-activated receptor γ co-activator-1 α leads to muscle atrophy with depletion of ATP, Am J Pathol, 169, 1129-1139, 2006、査読有り
- ② Yamazaki T, Nakamori A, Sasaki E, Wada S, Ezaki O, Fish oil prevents sucrose-induced fatty liver but exacerbates high-safflower oil-induced fatty liver in ddY mice, Hepatology, 46, 1779-1790, 2007、査読有り
- ③ Wada S, Yamazaki T, Kawano Y, Miura S, Ezaki O, Fish oil fed prior to ethanol administration prevents acute ethanol-induced fatty liver in mice, J Hepatol, 49, 441-150, 2008、査読有り

[学会発表] (計 1 件)

- ① 山崎聖美、江崎治、非アルコール性脂肪肝発症の成因により異なる予防法が必要である、第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会、2008.5.4、東京国際フォーラム (東京)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

(mg/g liver)

○出願状況 (計 1 件)

名称：肝臓トリグリセリド低下剤

発明者：山崎聖美、江崎治

権利者：独立行政法人国立健康・栄養研究所

種類：特願 2007

番号：19573

出願年月日：平成 19 年 1 月 30 日

国内外の別：国内

○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：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 聖美 (YAMAZAKI TOMOMI)

独立行政法人 国立健康・栄養研究所

基礎栄養プログラム・上級研究員

研究者番号：00218439

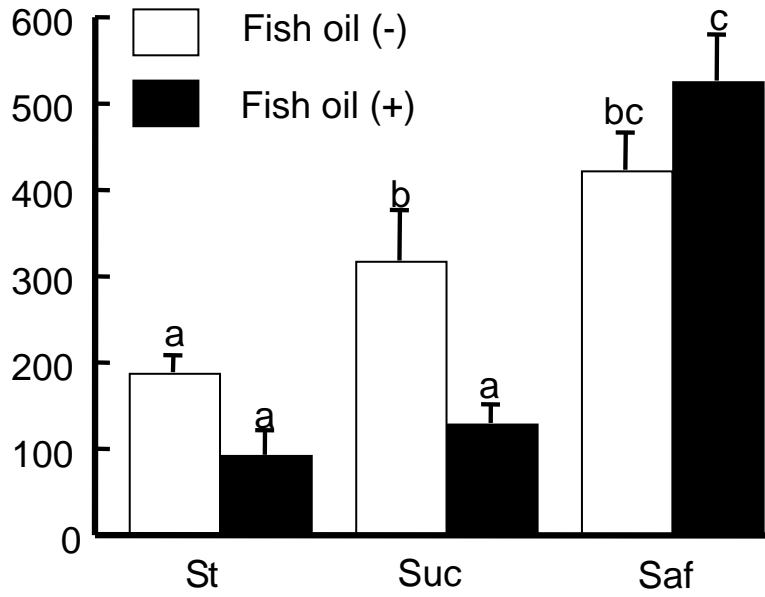


図1 スターチ食 (St)、高スクロース食 (Suc)、高サフラワー油食 (Saf) 摂取マウス及び 10en% 魚油添加食摂取マウスの肝臓脂肪蓄積量
 同じ文字がない場合は、P<0.05

	Fish oil	St	Saf	Butter	Two-way ANOVA P value		
					Fat	Fish oil	Fat x Fish oil
n	-	8	8	8			
	+	7	8	8			
Weight (g)							
BW at start	-	34.3 ± 0.5	34.3 ± 0.5	34.3 ± 0.3			
	+	34.6 ± 0.4	34.4 ± 0.4	34.2 ± 0.4	0.859	0.976	0.882
Final BW	-	49.3 ± 2.0	55.9 ± 1.5	60.3 ± 1.0			
	+	49.7 ± 1.4	58.2 ± 1.5	57.0 ± 2.3	0.341	0.757	0.097
Liver	-	1.73 ± 0.07	2.19 ± 0.11	2.63 ± 0.17			
	+	1.82 ± 0.09	2.74 ± 0.21	2.46 ± 0.28	0.711	0.354	0.082
Epididymal WAT	-	2.01 ± 0.22	2.48 ± 0.29	3.05 ± 0.28			
	+	1.69 ± 0.20	2.31 ± 0.25	2.48 ± 0.12	0.135	0.142	0.415
Liver TG (mg/liver)	-	218 ± 23	547 ± 81 ^a	1307 ± 180 ^b			
	+	194 ± 43	1037 ± 108 ^b	1304 ± 207 ^b	0.002	0.122	0.119

表1 スターチ食 (St)、高サフラワー油食 (Saf)、高バター食 (But) 摂取マウス及び 10en% 魚油添加食摂取マウスの肝臓脂肪蓄積量
 同じ文字がない場合は、P<0.05