

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19500624

研究課題名（和文） 肥満発症に対するタウリンの新規機能の解明

研究課題名（英文） Study on the new function of taurine to obesity

研究代表者

笠岡(坪山) 宜代 (Tsuboyama-Kasaoka Nobuyo)

(独) 国立健康・栄養研究所・国際産学連携センター 国際栄養プロジェクト・プロジェクトリーダー

研究者番号：70321891

研究成果の概要（和文）：

タウリンと肥満の関連を明らかにするため、タウリン合成系の律速酵素システインジオキシゲナーゼ（CDO）に着目し研究を行った。抗肥満モデル動物（魚油群および共役リノール酸添加群）においては脂肪細胞のサイズが有意に小型化し、同時にCDOのmRNA発現量は増加傾向を示した。一方、高脂肪食を摂取し脂肪細胞が大型化したマウスの脂肪組織でのCDO発現量は減少していた。さらに、CDOのcDNAを脂肪組織特異的に2-3倍過剰発現させたトランスジェニックマウスを作成した（FAT-CDO、Aライン）。FAT-CDOトランスジェニックマウスの血中のタウリンレベルは、野生型マウスとの間で有意差は認められなかった。また、普通食下における体重、脂肪組織重量にもトランスジェニックマウスで減少は認められなかった。

さらに、マウスで認められた肥満状態におけるタウリン欠乏状態がヒトにおいても認められるか否か検討した。ヒト肥満者44例の血清タウリンレベルを測定したところ、肥満の程度と血中タウリンレベルには相関関係は認められなかった。しかしながら、肥満治療後の血中タウリンレベルは治療前に比べ軽度の高値を示す傾向が認められた。

以上の結果から、脂肪組織のタウリン合成は肥満の程度と関連する可能性が示唆されたが、タウリンが脂肪組織におけるタウリン合成の増加がどの程度肥満改善に寄与しているのか十分に明らかに出来なかった。また、ヒト肥満者でのタウリン欠乏状態に関しては今後BMIが低い集団との比較において明らかにしていく必要がある。

研究成果の概要（英文）：

The relation between taurine and obesity was investigated. Taurine is by de novo synthesis: it is metabolized by cysteine dioxygenase (CDO). Anti-obesity mouse models (fish oil fed mice, Conjugated linoleic acid-supplemented mice) up-regulated CDO mRNA in white adipose tissue with increase of body weight and body fat. And, we created transgenic mice that overexpressed CDO in white adipose tissues (FAT-CDO) and examined whether taurine had anti-obesity effect. CDO mRNA levels in FAT-CDO transgenic mice were higher than the level in wild type mice (2-3 fold higher). However, blood taurine levels were similar in FAT-CDO transgenic mice and wild type mice. FAT-CDO transgenic mice did not decreased body weight and body fat. Furthermore, we examined the blood taurine levels in 44 obese patients. There was no correlation between obesity and blood taurine level. However, blood taurine level slightly increased after treatment of obesity.

These data indicate that obesity is relation to taurine synthesis in fat tissue. Further analysis of the taurine status in human obesity is important.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：肥満、タウリン、代謝、エネルギー消費、脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

我国における肥満／生活習慣病の増加は食生活の変化、身体活動量の低下が原因と考えられている。特に肉類の摂取量増加などによる食生活の欧米化が一因と言われているが、実際には近年 30 年間は極端な食生活の変化はない。現在でも肉類に比べて魚介類の摂取量の方が多いため、平均的な日本人の食生活が極端に魚離れしているとは考えにくく、今以上に食生活が欧米化する可能性は低いと思われる。しかしながら、若年層では魚介類より肉類を多く摂取しており、特に若年男性では肉類を魚介類の 2 倍以上も摂取している。また、その他の世代においても魚介類の摂取量は二極化しており、魚の摂取量が極端に少ない集団が存在する。魚に含まれる脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) ドコサヘキサエン酸 (DHA) 等には生活習慣病を改善する作用が知られており、魚離れが危惧される理由の一つである。魚介類には EPA や DHA のような魚油以外にも様々な栄養成分が含まれており、タウリンも魚介類に多量に含まれているアミノ酸である。以前より、タウリンには血中脂質の改善作用、血圧の調節作用、肝臓機能改善作用などが知られており、魚介類に含まれる有効成分の一つと考えられてきた。しかし、in vivo でのタウリンの直接的／本質的な生理作用は未だに不明確な部分が多い。さらに、生活習慣病の大きなリスクファクターであ

る肥満との関連についてはほとんど解明されていない。

本研究では、魚介類に含まれる栄養素であるタウリンと肥満発症の関連を明らかにする事で、近年の日本における肥満者増加の解決策を見いだす事を目的としている。

2. 研究の目的

これまで生体内でのタウリン合成の中心は肝臓と考えられていたが、申請者らの研究により、脂肪組織でもタウリンが合成される事が明らかとなった。さらに生体内のタウリンが不足すると肥満がさらに加速され悪循環が生じる可能性を示した (Tsuboyama-Kasaoka *Net al.*, 2006 *Endocrinology*)。これまでに我々はタウリン合成系の律速酵素であるシステインジオキシゲナーゼ (CDO) の遺伝子をヒトおよびラットからクローニングし、その転写調節領域に脂肪細胞の分化に関わる C/EBP のコンセンサス配列が多数存在している事を報告している (Tsuboyama *Net al.*, 1996 *Gene*, Tsuboyama-Kasaoka *Net al.*, 1999 *BBB*)。実際に、マウスの脂肪組織 (特に内臓脂肪組織) では CDO が高濃度に発現していること、脂肪細胞に CDO を強制発現させると培養液中のタウリン量が増加する事を見だし、脂肪細胞がタウリン合成の場である可能性を示した。さらに肥満モデル動物では (遺伝性肥満マウス、食事性肥満マウス) 脂肪組織

の CD0 が激減し、血中タウリンレベルも減少しており、肥満状態ではタウリンが不足状態であった。マウスの食事にタウリンを添加すると肥満発症が抑制され、基礎代謝が増加、脂肪組織での脂肪の分解に関わる遺伝子発現が増加している事を報告した (*Tsuboyama-Kasaoka N et al., 2006 Endocrinology*)。

脂肪組織に脂肪が蓄積しすぎるとタウリンの合成が低下してタウリン不足の状態になり、タウリンが持つ脂肪燃焼作用が発揮出来ずに肥満が更に加速するという悪循環が生じる可能性が考えられる。これはタウリンが内臓脂肪蓄積型肥満をはじめとするメタボリックシンドロームの発症に関わっている可能性を強く示唆している。脂肪細胞はメタボリックシンドロームの発症等に関与する多種の分泌蛋白(アディポサイトカイン)を産生する内分泌組織として近年注目されており、タウリンもこれら分子の一つである可能性が考えられる。

そこで本研究では、脂肪細胞で合成されたタウリンが分泌されアディポサイトカインとして機能しているのか検討するため、脂肪組織特異的に CD0 を過剰発現させるトランスジェニックマウスを作成する。脂肪組織のタウリン合成の増加が肥満の発症を抑制するか否か検討し、タウリンと肥満発症の関係を明らかにする。また、様々な肥満モデル動物および抗肥満モデル(魚油、共役リノール酸などの抗肥満食事成分摂取マウス)における脂肪細胞サイズとタウリン合成能の関連を調べ、タウリンが肥満の発症/改善にどの程度関与しているのか検討する。また最終的に人の肥満予防/治療法への展開を考え、ヒトの肥満患者においてタウリンの欠乏状態が生じているか否かを血液中のタウリンを測定する事で明らかにする。

以上のトランスジェニックマウスを用いた研究から、脂肪組織でのタウリンの未知の機能を明らかにするとともに、タウリンが内臓肥満をはじめとするメタボリックシンドロームの予防に対して有効な手段であるか否かを検討する。

3. 研究の方法

1) CD0 過剰発現トランスジェニックマウスの作成

脂肪組織特異的なエンハンサー(aP2エンハンサー)に CD0 の cDNA を組み入れたコンストラクトを作成後、受精卵に挿入し、脂肪組織特異的に CD0 を過剰発現させるトランスジェニックマウスを作成する。In vivo で脂肪組織のタウリン合成を増加させた場合に、生体内のタウリンレベル(血中、脂肪組織など)が増加するか否か調べる。このとき、マウスから単離した初代培養脂肪細胞の細胞内外のタウリンレベルを測定し、脂肪細胞におけるタウリン合成、分泌能を測定する。

2) 脂肪細胞のサイズとタウリン合成の関連

抗肥満作用が知られている食事成分(魚油、共役リノール酸など)を与えたマウスや様々な肥満モデル動物における脂肪細胞のサイズと脂肪組織での CD0 の発現レベル、生体内タウリンレベルを比較検討し、肥満の発症および改善に生体内のタウリンがどのように関与しているのか明らかにする。

3) ヒト肥満者における生体内タウリン動態の解析

マウスで認められた、肥満状態におけるタウリン合成の低下が、ヒトの肥満患者において認められるか否か検討する。

血液サンプルはインフォームドコンセントの得られた患者から早朝空腹時に採取する。入院初日(患者の日常の食事からのタウリン摂取量を反映)および入院終了時(生体内タウリン合成能を反映)の血中タウリン量を測定する。肥満度とタウリン摂取量の関連、肥満度とタウリン合成能の関連を調べる。また、肥満治療の効果(入院期間中の体重減少率、体脂肪減少率、内臓脂肪減少率など)の程度と血中タウリンの関係もあわせて解析する。

以上の研究から、タウリンと肥満/生活習慣病発症の関係を明らかにし、タウリンを用いた新たな予防法の開発に発展させる。

4. 研究成果

C57BL6マウスに60%脂肪エネルギー比の紅花油の高脂肪食与えた高脂肪食摂取群と脂肪源を魚油に置き換えた群で3ヶ月間飼育したところ、魚油群では体重、体脂肪、白色脂肪細胞サイズが有意に減少した。白色脂肪組織のCDOのmRNA発現量をノーザンブロット法で調べたところ、魚油摂取群で増加傾向を示した。一方、高脂肪食を摂取し脂肪細胞が大型化したマウスの脂肪組織でのCDO発現量は減少していた。血液中タウリンレベルを測定したところ、高脂肪食群に比較し、魚油群では減少傾向が認められた(有意差無し)。

さらに、60%脂肪エネルギー比の紅花油に共役リノール酸を重量当たり0.1%添加し、5ヶ月間マウスを飼育した。0.1%共役リノール酸添加により、体重、体脂肪重量、脂肪細胞の減少、白色脂肪細胞サイズの有意な小型化が認められた。同時に白色脂肪組織におけるCDOのmRNA発現量は増加傾向を示し、白色脂肪細胞のサイズと白色脂肪におけるCDO mRNAの発現量は負の関連を示すことが明らかとなった。

さらに、CDOと肥満の関連を明らかにするため、CDOのcDNAを脂肪組織特異的なエンハンサー (αP2エンハンサー) に組み入れたコンストラクトを作成し、受精卵に挿入してCDOを過剰発現させたトランスジェニックマウスを作成することに成功した。ノーザンブロット解析の結果、作成したトランスジェニックマウス (FAT-CDO、Aライン) では、外因性CDO mRNAが白色脂肪組織で2-3倍過剰発現していた。FAT-CDOトランスジェニックマウスの生体内タウリンレベルを測定したところ、血液中のタウリンレベルは、CDOを過剰発現していない野生型マウスとの間で有意差は認められなかった。また、普通食下における体重、子宮周囲脂肪組織重量、腎臓周囲脂肪組織重量、後腹壁脂肪組織重量にもFAT-CDOトランスジェニックマウスと野生型マウスの間で有意差は認められなかった。以上の結果から、脂肪組織でCDO mRNAを2-3倍程度過剰に発現させても肥満の改善、タウリン欠乏の改善に大きく影響しない可能性が示唆された。

さらに、マウスの栄養実験にて認められた、肥満状態におけるタウリン欠乏状態がヒトにおいても認められるか否か検討した。ヒト肥満者44例の血清タウリンレベルを測定したところ、肥満の程度と血中タウリンレベルには相関関係は認められなかった。しかしながら、肥満治療後の血中タウリンレベルは治療前に比べ軽度に高値を示す傾向が認められた。対象者は肥満度の高い集団であるため、BMIが正常範囲の同年代対照群との比較が必要である。

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 10 件)

(1) Takezawa J, Yamada K, Morita A, Aiba N, Watanabe S Preproghrelin gene polymorphisms in obese Japanese: Association with diabetes mellitus in men and with metabolic syndrome parameters in women Obesity Research & Clinical Practice 3 2009 179-191

(2) Watanabe S, Melby MK, Aiba N Food safety and food labeling from the viewpoint of the consumers Asia Pac. J. Clin. Nutr 18 2009 532-537

(3) Nakade M, Hirota K, Ezaki O, Aiba N Improving diet and exercise behavior with a computer-assisted health education program. 日本健康教育学会誌 17 2009 97-108

(4) 笠岡(坪山)宜代 世界の中で見る日本の栄養士 医と食 1 2009 44-45

(5) 笠岡(坪山)宜代 米国における研究行政 国際生命科学研究機構誌 97 2009 6-8

(6) 笠岡(坪山)宜代 日本人の食事摂取基準2010年版 ~活用の観点から~ New Diet Therapy 25 2009 7-14

(7) 所澤千香子、佐野佳代、笠岡(坪山)宜代 魚油によるマウスの体

脂肪蓄積抑制効果に対する脂肪摂取量の影響. 栄養学雑誌 66(4) 2008 181-188

(8) 坪田 (宇津木) 恵、笠岡 (坪山) 宜代、渡邊昌 アメリカ・カナダにおける食事摂取基準活用の現状と課題 日本栄養士会雑誌 51(12) 2008 28-35

(9) 益崎裕章、笠岡 (坪山) 宜代、岡田定規、中尾一和 肥満症・メタボリックシンドロームの治療・管理-食事療法- 治療 90 2008 1685-1689

(10) Tsuboyama-Kasaoka N、Sano K、Shozawa C、Osaka T、Ezaki O Studies of UCP2-transgenic and -knockout mice reveal that liver UCP2 is not essential for the anti-obesity effects of fish oil. Am J Physiol Endocrinol Metab 294 2008 E600-E606

[学会発表] (計 7 件)

(1) Tsuboyama-Kasaoka N TAURINE SYNTHESIS IS REGULATED FAT CELL SIZE International Congress of Nutrition 2009. 10. 7 Bangkok, Thailand

(2) 原光彦、斎藤恵美子、伊藤裕佳、笠岡 (坪山) 宜代、黒森由紀、岩田富士彦、岡田知雄、麦島秀雄 小児肥満における血中タウリン動態の検討 第30回日本肥満学会 シンポジウム 2009. 10. 9 浜松

(3) 梅垣敬三、中西朋子、佐藤陽子、笠岡 (坪山) 宜代 科学的根拠に基づいた製品とその利用 (病態栄養学におけるサプリメントの位置づけと現状) 第13回日本病態栄養学会 2010. 1. 9 京都

(4) 梅垣敬三、佐藤陽子、中西朋子、笠岡 (坪山) 宜代、芝池伸彰 2つのデータベースと専門職を介した健康食品情報提供の取り組み 第23回公衆衛生情報研究協議会研究会 2010. 1. 22 和光

(5) Shoichi Mizuno, Nobuyo

Tsuboyama-Kasaoka and Toyonori Omori Some characteristics in obesity in Japanese.

“Challenges to Obesity Prevention” 2008. 08 . 29. Japan (Tokyo)

(6) 水野正一、笠岡 (坪山) 宜代、大森豊緑、Melissa Melby and 渡邊昌 小児肥満とその対策 (重症化傾向の出現との関連において) 第2回保健医療科学研究会 2008 . 09 . 19 埼玉 (和光)

(7) 水野正一、大森豊緑、笠岡 (坪山) 宜代、メリッサ・メルビー、渡邊昌 BMI値の年齢別分布の特徴: 一県民健康・栄養調査から 第19回 日本疫学会 2009 . 01 . 23 金沢

[図書] (計 1 件)

笠岡 (坪山) 宜代 第12章 遺伝子と栄養現象 人体栄養学の基礎 2008

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

名称: FOSDU Net

発明者: 梅垣敬三、笠岡 (坪山) 宜代

権利者: (独) 国立健康・栄養研究所

種類: 商標登録

番号: 商願 2009-070292

出願年月日: 2009. 9. 14

国内外の別: 国内

名称: 栄養教育用コマキット

発明者: 饗場直美

権利者: 饗場直美

種類: 意匠登録

番号: 出願番号 2008-17279

出願年月日: 2008. 7. 4

国内外の別: 国内

名称: 栄養教育用コマキット

発明者: 饗場直美

権利者: 饗場直美

種類: 実用新案

番号: 出願番号 2008-4571

出願年月日: 2008. 7. 4

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 2 件)

名称：FOSDU Net
発明者：梅垣敬三、笠岡(坪山)宜代
権利者：(独) 国立健康・栄養研究所
種類：商標登録
番号：登録第 5297460 号
取得年月日：2010. 1. 29
国内外の別：国内

名称：栄養教育用コマキット
発明者：饗場直美
権利者：饗場直美
種類：実用新案
番号：登録番号 3 1 4 4 8 7
出願年月日：2008. 8. 27
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笠岡(坪山) 宜代 (Nobuyo
Tsuboyama-Kasaoka)
独立行政法人国立健康・栄養研究所・国際産
学連携センター国際栄養プロジェクトリー
ダー
研究者番号：70321891

(2) 研究分担者

饗場 直美 (Naomi Aiba)
独立行政法人国立健康・栄養研究所・栄養教
育プログラムリーダー
研究者番号：50199220