

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11761

研究課題名(和文) 褐色脂肪組織が担う食事誘発性熱産生の亢進を目指した生体内分子作用機序解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanisms of molecular interaction to promote diet-induced thermogenesis in brown adipose tissue

研究代表者

山崎 聖美 (Yamazaki, Tomomi)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・国立健康・栄養研究所 栄養・代謝研究部・主任研究員

研究者番号：00218439

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：マウスに高脂肪食投与、あるいは過剰スクロース投与によって概日リズム障害を生じさせると、肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、それぞれにおいて時計遺伝子の発現リズムが変化した。その変化は、餌および組織によって異なった。また、食事誘発性熱産生亢進によりエネルギー消費の増加が期待できるが、PPAR を活性化させるFenofibrateをマウスに投与し、食事誘発性熱産生について調べた結果、FenofibrateはUCP1の発現を増加させ、食事誘発性熱産生を増加させた。また、PPAR を活性化させることで知られる魚油についても同様に調べた結果、食事誘発性熱産生を1.2倍亢進することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食事誘発性熱産生亢進によりエネルギー消費の増加が期待できる。また、食事誘発性熱産生は1日の中でも産生量が異なるため、できるだけ産生割合が高い時期により亢進する食品成分を摂取することが重要となる。本研究により、食事誘発性熱産生亢進可能な食品成分として魚油を見出し、その亢進機序を明らかにすることができた。ヒトへの応用について研究を進めることで肥満予防・改善につながると期待される。また、肥満につながる食事でも内容により時計遺伝子の発現変化が異なることを明らかにした。いつ、何を調べるかが重要であるという問題提起となった。

研究成果の概要(英文)：When mice were fed with a high-fat diet or with high-sucrose diet to produce circadian rhythm disturbances, the rhythms of clock gene expression were altered in liver, white adipose tissue, and brown adipose tissue, respectively. The changes differed by diet and tissue. Fenofibrate, which activates PPAR, increased the expression of UCP1, which in turn increased diet-induced thermogenesis. Fish oil, which is known to activate PPAR, was found to enhance diet-induced heat production by 1.2-fold.

研究分野：分子栄養学

キーワード：食事誘発性熱産生 概日リズム 褐色脂肪組織 魚油 スクロース

1. 研究開始当初の背景

肥満やメタボリックシンドローム発症は、脂肪やエネルギー摂取の増加によるところが大きく、エネルギー消費亢進は発症予防や改善に有効である。褐色脂肪組織は、ヒトでは主に胎児期や新生児期のみ存在するとされていたが、計測技術の発達により、成人においてもその存在が報告され、その熱産生能力からヒトにおける褐色脂肪組織の重要性が明らかにされつつある。したがって、褐色脂肪組織は肥満症治療及び肥満予防のターゲットとして有効であると考えられる。

体重は、エネルギー摂取とエネルギー消費(基礎代謝量(60%)+適応性熱産生(10%)+身体活動量(30%))のバランスによって規定されている。エネルギー消費のうち、適応性熱産生は、寒冷誘発性熱産生と食事誘発性熱産生(DIT)に分類されるが、DITは摂取した栄養素の消化、吸収、輸送、貯蔵に使用されるエネルギーで、一部褐色脂肪組織によって担われている。褐色脂肪組織では、脂肪酸により活性化される核内転写因子の一つで、脂質の取り込み、合成、輸送、貯蔵、分解といった生理機能に関わるタンパク質発現を調節するペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR)の一つPPARに発現制御を受ける脱共役タンパク質(uncoupling protein; UCP)1が発現しており、ミトコンドリア内膜を挟んだプロトン勾配の解消をATP産生と共役することなく生じさせ、これが大量の熱産生につながる。

DITは食事で摂取したエネルギーの10%程度を占め、たんぱく質は約30%、炭水化物は6%、脂肪は4%程度とされる。また、DITは時間によっても産生能力が異なる。褐色脂肪組織における受容体刺激に至る過程が複雑かつ多岐にわたるため、褐色脂肪組織が各栄養素摂取により活性化されDITを発生させる機序について全容は明らかにされておらず、褐色脂肪組織の重要な機能であるDITを明らかにするためにも機序解明が必要である。

2. 研究の目的

褐色脂肪組織の重要な機能であるDIT発生機序解明を行うことで、DIT亢進を介したエネルギー消費増加による肥満およびメタボリックシンドローム発症予防および改善につなげる。さらに、褐色脂肪組織における概日リズム、栄養素により生じるDITの違い、DITにおける褐色脂肪組織の寄与と機能、食事による褐色脂肪組織活性化及びDIT亢進をもたらす効果的な食事摂取について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 高脂肪食投与あるいは過剰スクロース投与によるマウス各組織における時計遺伝子発現変化

ddYオスマウスにコントロール食、高脂肪食投与あるいは高スクロース食を8週間投与し(各群56匹)、4時間おきに24時間にわたり(各群時間毎8匹)肝臓、内臓脂肪組織と皮下脂肪組織、そして褐色脂肪組織を採取し、各組織からmRNAを調製した。リアルタイムPCRを用いて時計遺伝子発現変化について調べた。

(2) PPAR 活性化による食事誘発性熱産生亢進

C57BL/6Jオスマウスを用い絶食条件下で代謝測定用ケージにて酸素及び二酸化炭素量を測定し代謝エネルギーについて計算した。さらに、横軸に活動量、縦軸にエネルギー消費量ととり、同じマウスをコントロール群とFenofibrate投与群に分けて摂食条件下で同様に測定、同じ活動量におけるエネルギー消費の差をDITとして求め、解析を行った。さらに、褐色脂肪組織からmRNAを調製し、リアルタイムPCRを用いてDIT亢進に関わる遺伝子について発現解析を行った。

(3) 魚油投与による食事誘発性熱産生亢進

C57BL/6Jオスマウスを用い絶食条件下で代謝測定用ケージにて酸素及び二酸化炭素量を測定し代謝エネルギーについて計算した。さらに、横軸に活動量、縦軸にエネルギー消費量ととり、同じマウスをコントロール群あるいは魚油投与群に分けて摂食条件下で同様に測定、(2)と同様にしてDITを求め、解析を行った。さらに、褐色脂肪組織からmRNAを調製し、リアルタイムPCRを用いてDIT亢進に関わる遺伝子について発現解析を行った。

(4) スクロース投与による食事誘発性熱産生亢進

ddYオスマウスを用い絶食条件下で代謝測定用ケージにて酸素及び二酸化炭素量を測定し代謝

エネルギーについて計算した。さらに、横軸に活動量、縦軸にエネルギー消費量を取り、同じマウスをコントロール群あるいはスクロース投与群に分けて摂食条件下で同様に測定、(2)と同様にして **DIT** を求め、解析を行った。さらに、褐色脂肪組織から **mRNA** を調製し、リアルタイム **PCR** を用いて **DIT** 亢進に関わる遺伝子について発現解析を行なった。さらに、**LC-MS** を用いて代謝産物の解析を行なった。

(5) **PPAR** ノックアウトマウスへのスクロース投与による脂肪肝発症と雌雄差

PPAR ノックアウトマウスおよびその野生型マウス **129S1/SvImJ** にコントロール食あるいは高スクロース食を4週間投与し、肝臓脂肪蓄積量、肝臓 **mRNA** 発現などについて解析を行なった。

4. 研究成果

(1) 高脂肪食投与あるいは過剰スクロース投与によるマウス褐色脂肪組織など各組織における時計遺伝子発現変化

マウスに高脂肪食投与、あるいは過剰スクロース投与によって概日リズム障害を生じさせると、肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、それぞれにおいて時計遺伝子および時計遺伝子発現調節因子のリズムが変化した。その変化は、組織によっても、投与された餌によっても異なった。肝臓においては、高脂肪食投与、あるいは過剰スクロース投与によって時計遺伝子発現の振幅に大きな違いが見られ、特に時計遺伝子発現調節因子 **ROR** の変化が高脂肪食投与か過剰スクロース投与によって大きく異なった。また、**ROR** に発現調節を受ける時計遺伝子 **Per** の発現変化も高脂肪食投与か過剰スクロース投与によって異なった。白色脂肪組織の内臓脂肪組織と皮下脂肪組織、そして褐色脂肪組織について検討を行った結果、これらの脂肪組織では振幅には高脂肪食投与か過剰スクロース投与かによる大きな違いは見られなかったものの、位相のずれが観察された。また、このずれも各白色脂肪組織および褐色脂肪組織で異なった。

(2) **PPAR** 活性化による食事誘発熱産生亢進

DIT 亢進によりエネルギー消費の増加が期待できるが、褐色脂肪細胞の活性化により **DIT** が亢進する。褐色脂肪細胞活性化には **UCP1** が関与し、**UCP1** はペルオキシソーム増殖薬活性化受容体 **PPAR** によって活性化される。そこで、**UCP1** 活性化を期待し、**PPAR** を活性化させる **Fenofibrate** をマウスに投与し、**DIT** について調べた。その結果、**Fenofibrate** は **UCP1** の発現を増加させ、**DIT** を増加させた。**Fenofibrate** 投与により **DIT** が亢進することを初めて見出し、そのメカニズムを明らかにすることができた。

(3) 魚油投与による食事誘発性熱産生亢進

PPAR を活性化させることで知られる魚油をマウスに投与して **DIT** について調べた。その結果、魚油は **DIT** を **1.2** 倍亢進することを明らかにした。魚油による **DIT** 亢進を初めて数値で示すことができた。また、褐色脂肪組織における **UCP1** の **mRNA** 量およびタンパク質量の増加、**PPAR** の **mRNA** の発現量増加、皮下脂肪組織の褐色化に伴い発現が増加することが知られている遺伝子 **Ucp1** や繊維芽細胞増殖因子 **Fgf21**、**cell death-inducing DFFA-like effector A (Cidea)**、**PPAR** によって発現が制御されるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ **I (CPTI)** や中鎖アシル **CoA** 脱水素酵素 (**MCAD**)、アシル **CoA** オキシダーゼ (**ACO**) などの **mRNA** の発現増加が観察された。

(4) スクロース投与による食事誘発性熱産生亢進

マウスにスクロースを投与したところ、コントロール食摂取群に比べ、**DIT** の有意な増加がみられた。**DIT** には褐色脂肪組織の活性化が深く関わっている。褐色脂肪細胞活性化には、ミトコンドリア脱共役タンパク質 **UCP1** が重要な役割を果たしていることが知られている。そこで、**UCP1** の活性化について調べたが、驚くべきことに **UCP1mRNA** の発現はコントロール群とスクロース摂取群で差は見られなかった。そこで、褐色脂肪組織における代謝産物の解析を行なった結果、糖質代謝経路において大きな変化があることを明らかにした。

(5) **PPAR** ノックアウトマウスへのスクロース投与による脂肪肝発症と雌雄差

PPAR は脂肪酸の酸化を制御する核内転写因子である。**PPAR** ノックアウトマウスにスクロースを投与し、脂肪肝発症について調べた結果、野生型マウスもスクロース投与により肝臓脂肪蓄積が観察されたが、**PPAR** ノックアウトマウスのスクロース投与による肝臓脂肪蓄積量

は有意にさらに上回った。**PPAR** ノックアウトマウスでは、**PPAR** に制御される遺伝子の発現が、コントロールに比べ少なく、**SREBP-1c** に制御される脂肪酸合成に関わる遺伝子の発現が同程度であったためと考えられた。また、**PPAR** ノックアウトマウスは **PPAR** が欠損しているためか、**PPAR** 経路が活性化されており、この影響で脂肪合成経路が活性化されたためとも考えられた。

また、**PPAR** ノックアウトマウスの普通食摂取群では、オスでは野生型マウスに比べて約5倍肝臓に脂肪が蓄積したのに対し、メスでは増えたものの2倍程度で肝臓脂肪蓄積量に雌雄差が見られた。そこで、詳細に調べた結果、オスでは **PPAR** が欠損している代わりに **PPAR** が働き、**PPAR** 下流の遺伝子発現調節を行なっているが、メスではその働きが弱いことを明らかにした。**PPAR** は脂肪合成経路の調節が主要な働きであり、それゆえオスでは肝臓脂肪蓄積が多くなっていることがわかった。一方、メスではエストロジールの働きがあるため野生型マウスでも元来 **PPAR** の量が少なく、遺伝子が欠損してもその影響がオスほどないため **PPAR** ノックアウトマウスの肝臓脂肪蓄積量はオスほど野生型マウスに対して差がみられないものと推察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Li D, Ikaga R, Ogawa H, Yamazaki T.	4. 巻 38
2. 論文標題 Different expressions of clock genes in fatty liver induced by high-sucrose and high-fat diets.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chronobiol Int.	6. 最初と最後の頁 762-778
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/07420528.2021.1889579.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamazaki T, Li D, Ikaga R.	4. 巻 19
2. 論文標題 Fish Oil Increases Diet-Induced Thermogenesis in Mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mar Drugs	6. 最初と最後の頁 278-292
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/md19050278.	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 Yamazaki T, Ikaga R, Li D, Nakae S, Tanaka S	4. 巻 6
2. 論文標題 A novel method for measuring diet-induced thermogenesis in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 MethodsX	6. 最初と最後の頁 1950-1956
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.mex.2019.08.016	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 Date K, Yamazaki T, Toyoda Y, Hoshi K, Ogawa H	4. 巻 121
2. 論文標題 -Amylase expressed in human small intestinal epithelial cells is essential for cell proliferation and differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cell Biochem	6. 最初と最後の頁 1238-1249
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jcb.29357	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 山崎聖美	4. 巻 69
2. 論文標題 シフトワーカーのための時間栄養学	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 体育の科学	6. 最初と最後の頁 812-816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 山崎聖美
2. 発表標題 砂糖と高脂肪が肝臓時計に与える違い
3. 学会等名 第8回日本時間栄養学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamazaki T, Li D, Ikaga R
2. 発表標題 High-sucrose diet induces alteration of peripheral clocks in the liver by a different mechanism from a high-fat diet
3. 学会等名 European and International Congress on Obesity (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊香賀玲奈、山崎聖美
2. 発表標題 新規マウス食事誘発性熱産生測定法を用いた魚油の食事誘発性熱産生亢進効果
3. 学会等名 第74回 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊香賀玲奈、山崎聖美
2. 発表標題 PPAR 活性化による食事誘発性熱産生亢進
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 李冬陽、伊香賀玲奈、小川温子、山崎聖美
2. 発表標題 高砂糖食摂取により発症した脂肪肝における概日リズムの変化
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊香賀玲奈、李冬陽、田中茂穂、山崎聖美
2. 発表標題 食事誘発性熱産生におけるPPAR の関与
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 李冬陽、伊香賀玲奈、山崎聖美
2. 発表標題 高シヨ糖食摂取により肥満発症したddYマウスの脂肪組織における概日リズム変化
3. 学会等名 第6回時間栄養科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 李冬陽、伊香賀玲奈、小川温子、山崎聖美
2. 発表標題 高脂肪食及び高砂糖食摂取による肥満発症における白色脂肪組織の概日リズム変化の解析
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊香賀玲奈、李冬陽、山崎聖美
2. 発表標題 PPAR 活性化による食事誘発性熱産生亢進
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊達公恵、山崎聖美、豊田陽子、星玖美、小川温子
2. 発表標題 ヒト腸上皮細胞に発現する アミラーゼは、細胞の増殖と分化に必須である
3. 学会等名 92回日本生化学会
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
---------	---------