

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K20163

研究課題名(和文)リバウンドしない肥満解消法の開発

研究課題名(英文)Development of a method to prevent a weight loss regain

研究代表者

石嶺 久子 (ISHIMINE, Hisako)

藤田医科大学・医学部・助教

研究者番号：90736737

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マウスに超高脂肪食高カロリー飼料を断続的に与え、体重の増減を繰り返すリバウンドマウスモデルを確立した。リバウンドした個体における脂肪代謝を調べるため、エネルギー燃焼機能を持つ褐色脂肪細胞に着目し、リバウンドマウスと継続的に肥満状態にあるマウスの褐色脂肪組織の遺伝子発現を網羅的に比較したところ、リバウンドマウスにおいて膜タンパク質の細胞膜移行抑制因子の発現が上昇していることや細胞分化に関与するRNA結合タンパク質の発現が低下していることをとらえた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満が生活習慣病の原因と成り得ることは広く周知されており、さらに痩身重視の風潮から多くの人が減量に取り組んでいる。しかし、減量に成功してもその状態を維持するためには個人の継続的な努力が必要とされるためリバウンドしてしまうことを多くの人々が経験している。本研究で見出された膜タンパク質細胞膜移行抑制因子を制御し褐色脂肪細胞や筋細胞など、エネルギー代謝が盛んな細胞の機能を活性化することでリバウンドの防止や肥満を予防することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Obesity are risk factors for many diseases, including non-insulin dependent diabetes mellitus, dyslipidemia, cardiovascular disease, musculoskeletal disorders and sleep apnoea.

Many people are trying to lose weight due to their health. However, many people experience weight regain even after successful weight loss. In this study, I established a weight regain mouse model in which mice were intermittently fed a high-fat high-calorie diet to repeatedly increase and decrease body weight. Identifying genes underlying weight regain is critical to investigate fat metabolism in regain mice. To identify transcriptomic signatures associates with weight regain I profiled gene expression in brown adipose tissue in weight regain mouse model and fatty mouse model using RNA sequencing (RNA-seq). RNA-seq analysis revealed upregulation of the transporter regulator on transcriptional and post-translational levels and downregulation of RNA-binding proteins involved in cell differentiation.

研究分野：健康科学

キーワード：肥満 リバウンド エネルギー代謝

### 1. 研究開始当初の背景

肥満、なかでも内臓脂肪が蓄積された肥満はインスリン非依存型糖尿病・脂質異常症・高血圧症・心血管疾患などの生活習慣病をはじめとして慢性腎不全・運動器障害・睡眠時無呼吸症候群など数多くの疾患のリスクファクターである。これらの疾患は内臓脂肪が慢性炎症をおこし、炎症性アディポカインである TNF- $\alpha$ 、遊離脂肪酸やホルモンを分泌することと密接に関係していると考えられている<sup>(1,2)</sup>。内臓脂肪の蓄積によるメタボリック症候群は全世界的に問題となっており、我が国においても厚生労働省発表の平成 29 年国民健康・栄養調査<sup>(3)</sup>によると肥満者 (BMI 25kg/m<sup>2</sup>) の割合は、国民の健康の増進の総合的な推進を図るための基本的な方針を示した「健康日本 21 (第二次)」で掲げた目標に男女とも達していない (図 1)。

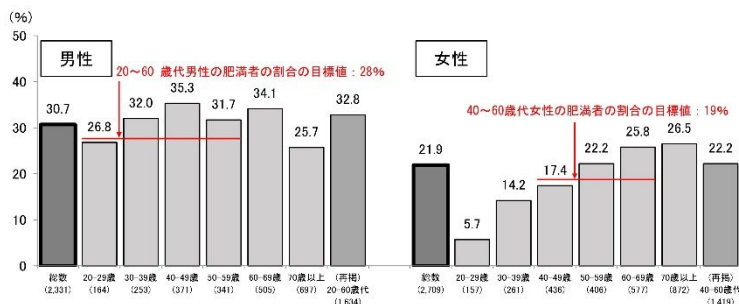


図 1. 肥満者 (BMI 25 kg/m<sup>2</sup>) の割合 (20 歳以上、性・年齢階級別) (<https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000351576.pdf>) を加工して作成。

多くの人が健康や美容を目的として減量に取り組んでいるが、減量に成功してもその状態を維持するためには個人の継続的な努力が必要とされるため、リバウンドしてしまうことを多くの人々が経験しており、誰でも容易に減量状態を継続できる方法が求められている。

### 2. 研究の目的

脂肪の代謝について、脂肪細胞がインスリン感受性を獲得する機構<sup>(4)</sup>や、飢餓状態を繰り返し脂肪が蓄積しやすくなっているエネルギー代謝状態の神経制御機構を解明した研究<sup>(5)</sup>がなされているが、リバウンド後の脂肪組織の質に着目した研究はなされていない。そこで本研究では、リバウンド後の脂肪組織に着目し、そこで亢進しているシグナル経路を解明することで、脂肪蓄積促進機構を解明し、それを阻害することで脂肪の蓄積を防ぐことを目的とした。本研究により同定された脂肪蓄積促進因子が将来的に抗肥満薬の開発ターゲットとなり、健康な社会をつくるのが目標である。

### 3. 研究の方法

#### (1) リバウンドモデルマウスの作製

C57BL/6j マウスを超高脂肪食 (High Fat Diet, HFD) 継続負荷群 (A)、超 HFD 負荷期とコントロール食期を交互に繰り返す群 (リバウンド群, B)、コントロール食群 (C) に分け、体重リバウンドモデルを作製した。これらマウスの体重 (週 1 回) と随時血糖値 (月 1 回) を測定し、脂肪の蓄積は実験動物用 3D マイクロ X 線 CT R\_mCT2 で撮影し、体脂肪の測定は CT Atlas 3D 脂肪解析ソフトウェアを用いた。

(2) 上記各群の褐色脂肪組織における遺伝子発現を次世代シーケンサー (Illumina NovaSeq6000) を用いて検出し、CLC Genomics Workbench で網羅的に解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) リバウンドモデルマウスの作製

##### 体重の推移

超 HFD 継続負荷群は 7-23 週、リバウンド群には 7-11、15-19 週に超 HFD を与えた。23 週においてリバウンド群は超 HFD 継続負荷群と比して有意な体重減少が観察され、コントロールマウスとは有意差がなかった (図 2)。また、①で示すように肥満後減量したマウスは、継続して肥満状態にあるマウスより急激に体重が増加していた。つまり、減量後は体重が増加しやすい状態になっていると考えられた。

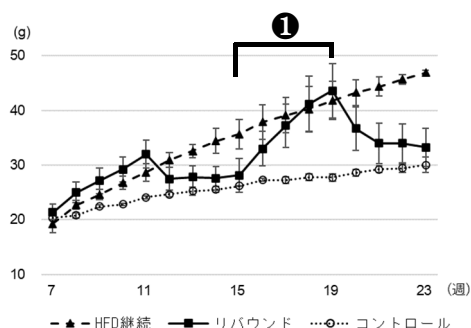


図 2. リバウンドマウスの体重の推移

### 随時血糖値の推移

23 週において、リバウンド群は超 HFD 継続負荷群と比して有意に随時血糖値の低下が観察されたがコントロール群との有意差はなかった (図 3)。本モデルにおいて、随時血糖値は体重の増減に伴って変動していることが観察された。つまり減量することによって有意ではないがコントロール群より高値を示していた随時血糖値を低下させることができた。

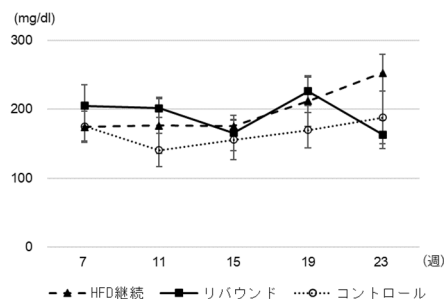


図 3. リバウンドマウスの血糖値の推移

### 体脂肪の蓄積

いずれの群も体脂肪は週齢を追うごとに蓄積されていったが、23 週においてリバウンド群の体重はコントロール群と有意差がないにもかかわらず (図 1)、第 4 腰椎椎体高の CT 像では内臓脂肪が多く蓄積していることが観察された (図 4B,C)。

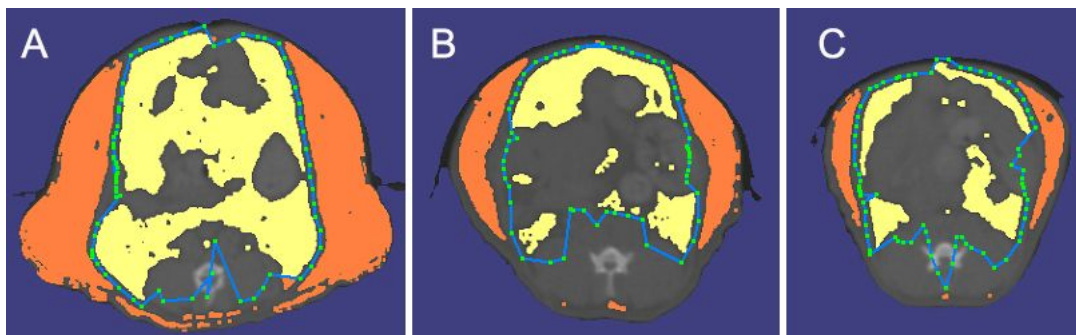


図 4. 23 週におけるリバウンドモデルマウス腰部の CT 像 (A)超 HFD 継続負荷マウス(B)リバウンドマウス(C)コントロールマウス. 橙黄色は皮下脂肪、黄色が内臓脂肪。

### (2) 褐色脂肪組織における遺伝子発現の網羅的解析

リバウンド群において、減量後に超 HFD 負荷をかけると急激に体重が増加する現象が観察されたことより、上記 3 群の褐色脂肪組織におけるエネルギー代謝関連遺伝子などの発現について次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析した。その結果、リバウンド群では急激な体重増加が観察されたにもかかわらず、超 HFD 継続負荷群と比べて脂肪燃焼機構がむしろ活性化していることが判明した。つまりリバウンドは褐色脂肪細胞の脂肪燃焼機能不全によるものではないということが示唆された。さらに、リバウンド群では、細胞分化に関与する RNA 結合タンパク質の発現が低下していることや、輸送体タンパク質の細胞膜への移行を抑制すると報告のあるゴルジ装置のトランスゴルジ網に存在する因子の発現が上昇していることがわかった。つまり、リバウンドの原因の一つとして、エネルギー源となる物質が褐色脂肪細胞に取り込まれにくくなることによってエネルギー代謝が低下し、体重増加が引き起こされる可能性が示唆された。

### <引用文献>

1. Lo J, Bernstein LE, Canavan B, Torriani M, Jackson MB, Ahima RS, Grinspoon SK. Effects of TNF-alpha neutralization on adipocytokines and skeletal muscle adiposity in the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293:E102-9.
2. Varman T Samuel, Gerald I Shulman. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest.* 2016;126(1):12-22.
3. 「平成 29 年 国民健康・栄養調査結果の概要」(厚生労働省)
4. Z Wu, E D Rosen, R Brun, S Hauser, G Adelmant, A E Troy, C McKeon, G J Darlington, B M Spiegelman. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. *Mol Cell.* 1999; 3(2): 151-8.
5. Reichenbach A, Stark R, Mequinion M, Denis RRG, Goularte JF, Clarke RE, Lockie SH, Lemus MB, Kowalski GM, Bruce CR, Huang C, Schittenhelm RB, Mynatt RL, Oldfield BJ, Watt MJ, Luquet S, Andrews ZB. AgRP Neurons Require Carnitine Acetyltransferase to Regulate Metabolic Flexibility and Peripheral Nutrient Partitioning. *Cell Rep.* 2018 13;22(7):1745-1759. doi: 10.1016/j.celrep.2018.01.067.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ninomiya Hiromasa, Intoh Atsushi, Ishimine Hisako, Onuma Yasuko, Ito Yuzuru, Michiue Tatsuo, Tazaki Akira, Kato Masashi	4. 巻 250
2. 論文標題 Application of a human mesoderm tissue elongation system in vitro derived from human induced pluripotent stem cells to risk assessment for teratogenic chemicals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 126124 ~ 126124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chemosphere.2020.126124	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0件

〔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
---------	---------