

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2015

課題番号：24688014

研究課題名(和文)高脂肪食品の嗜好性と過食に関する研究

研究課題名(英文)Study of fatty food induced hyperphagia

研究代表者

松村 成暢(Matsumura, Shigenobu)

京都大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：70467413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 21,000,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪摂取がbeta-endorphin 神経を活性化することを明らかにした。これによりbeta-endorphin分泌が促進され、脂肪の摂取量を増加させることが明らかとなった。

脂肪の嗜好性は摂取経験により獲得されるものである。脂肪を摂取したことのないマウスにNaltrexoneを投与してbeta-endorphinを阻害すると、脂肪の嗜好性が獲得されず、報酬効果も獲得されないことがオペラントレバー押し試験や条件付位置嗜好性試験により明らかとなった。以上の結果より、beta-endorphinは脂肪の摂取量の調節と嗜好性獲得において重要な役割を持っていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that fat ingestion stimulated beta-endorphin release, and naltrexone, beta-endorphin inhibitor reduced fat intake. These results indicates that beta-endorphin may regulate the amount of fat ingestion.

Naltrexone abolished the reinforcing effect of fat when administered to mice in training session of conditioned place preference test. This means beta-endorphin is also involved in the enhancement of ingestive and reinforcing aspects of fat in naive mice. However there is no effect of naltrexone on reinforcing effect of fat in mice that habituated to fat ingestion. These results suggest that beta-endorphin may play two important roles in the regulation of fat ingestive behavior, one is regulation of the amount of ingestion and another is the enhancement of ingestive and reinforcing aspects of fat.

研究分野：農学

キーワード：過食 肥満 美味しさ 油

1. 研究開始当初の背景

脂肪を多く含む食品は我々をやみつきにさせるような魅力的な美味しさ(嗜好性)を持つ。脂肪は栄養素としては最高のカロリー源であり、心臓や筋肉など持続的な活動のエネルギー源となる。我々人間もかつてそうであったように日々飢餓と戦っている野生動物にとって、脂肪を選択的に摂取し体脂肪として身体に蓄積することは、本来非常に合理的な行動である。

そもそも、脂肪は無味であり脂肪を多く含む食品の嗜好性は、脂肪そのものが持つ独特な物理的性質、および脂肪に含まれる香気成分によるものという考えが広く受け入れられてきた。基本味の中にも当然のことながら脂肪は含まれていない。しかし、脂肪を多く含む食品の嗜好性は香りや食感では説明できないことは明らかであり、脂肪分子は舌上の味を感じる細胞(味細胞)で受容および認識されていると考えられる。

我々の研究グループにより脂肪酸結合タンパク質である CD36、GPR120 が有郭乳頭味細胞に発現していることが発見され、口腔内で脂肪分子が化学的に認識されることが初めて示された(Fukuwatari *et al.*, 1997 *FEBS Lett.*, Matsumura *et al.*, 2007 *Biomed Res.*)。これは、脂肪が他の5基本味と同様に味細胞により受容される可能性を示すものであり、現在ではこの考えが広く世界中の研究者により受け入れられている。

脂肪多く含む食品、例えばトロや霜降り肉、ケーキなどを食べると、高度な満足感、時には快感とも呼べる情動が得られる。脂肪を多く含む食品を食べた時の快感や満足感は白米やうどん、そばなどの穀類や脂肪をほとんど含まない食品や菓子類を摂取した時のそれよりも大きなものである。脂肪摂取により経験したこの高度な満足感をヒトや動物は想起し、さらなる摂取行動、摂取意欲の増大、すなわち執着とも呼べる行動をとることを我々は報告してきた(Imaizumi *et al.*, 2002 *Brain Res.*, Mizushige, *et al.*, 2006, *Biomed Res.*, Yoneda *et al.*, 2007, *Life Sci.*, Matsumura *et al.*, 2010 *Physiol Behav.*)。

つまり、脂肪の美味しさは、摂取経験によっても高められるものであると考えられる。脂肪を摂取した際の高度な満足感の発生メカニズムは明らかではないが、報酬系およびオピオイド系の関与が示唆されている。

2. 研究の目的

脂肪を多く含む食品は我々を惹き付けてやまない。しかしながら、本来単独では無味であるはずの脂肪がなぜ霜降り肉やマグロのトロをこれほどまでに美味しくさせるのか、さらに、このような食品に対する欲求はどこから生まれるのかはこれまで全く明ら

かではない。脂肪は無味であり、基本五味の中にも当然のことながら含まれていない。しかし、脂肪を多く含む食品の嗜好性は高いことは明らかであり、脂肪分子は基本五味と同様に舌上の味を感じる細胞(味細胞)で受容され美味しいという感覚を生み出していると考えられる。そこで本研究では1) 脂肪の美味しさが脳報酬系に与える影響の解明および2) 脂肪による過食のメカニズムの解明についての検討を行うことにより、脂肪を含む食品の美味しさを多面的に解析することを目的とする。

3. 研究の方法

実験には Balb/c マウスを用いた。マウスは全て個別にケージを用意し、12時間の明暗サイクルの環境下で飼育した。

(1) 免疫染色による c-fos 発現の観察

サンプル溶液をマウスに摂取させ、一時間、後に脳を摘出しホルマリン固定を行った。脳を凍結させ、クライオスタットにより切片を作成し、抗 c-fos と抗 POMC 抗体を用いて染色を行った。β-endorphin は前駆体の proopiomelanocortin (POMC) より産生されるため POMC を発現している神経細胞は全て β-endorphin ニューロンである。活動の低い神経において c-fos はほとんど発現がみられないが神経が活性化されると神経細胞内で合成されるため、神経活性化の指標と考えられている。β-endorphin ニューロンにおいて c-fos の発現の有無を検討することにより、β-endorphin ニューロンの活性化を検討した。

(2) 薬物投与

β-endorphin は mu オピオイド受容体に結合することが報告されている。そこで β-endorphin の作用を阻害するため mu オピオイド受容体アンタゴニストである Naltrexone を用いた。Naltrexone は生理食塩水に溶解し、マウスの皮下に投与した。

(3) オペラントレバー押し試験

サンプルに対する報酬効果の強さを評価するためにオペラントレバー押し試験を行った。マウスにレバーを押すとサンプル(報酬)が得られることを学習させた。試験日にはサンプルを得るためにレバーを叩く回数が徐々に増えていくプログラムにし、マウスが規定時間(15分間)以内にどれだけサンプルに対してレバーを叩くことができるかを評価した。

(4) 条件付位置嗜好性試験

サンプルに対する報酬効果を評価するために条件付位置嗜好性試験を行った。白箱、黒箱の二つから構成される実験装置を用いた。黒箱で水を、白箱で試験サンプルを獲得できることをマウスに学習させた。試験日には何も与えず、白箱と黒箱の間を自由に歩き来できるようにし、それぞれの滞在時間を測

定した。白箱の滞在時間が有意に増加した時、試験サンプルに報酬効果があると判断した。

4. 研究成果

(1) 脂肪および甘味溶液摂取後のβ-endorphin 神経における c-fos 発現の検討

乳化油脂である Intralipid 摂取後に c-fos 発現の増加が観察された(図 1)。同様に 100%の大豆油によっても増加が観察された。一方で、非消化性のミネラルオイルでは変化が見られなかった。スクロース溶液、グルコース溶液でも同様に c-fos 発現の増加が見られたが、脂肪摂取と比較して少なかった。

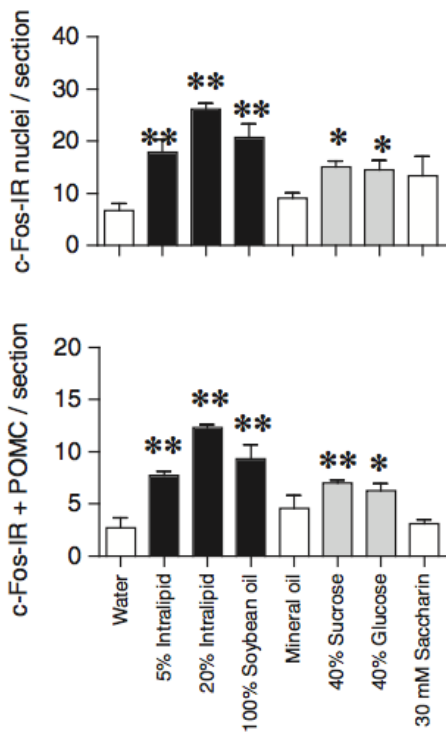


図 1 試験溶液摂取後の c-fos 発現量の比較 Values are means +SEM. n = 4-5

(2) Naltrexone 投与によるβ-endorphin 阻害が摂取行動に与える影響

Naltrexone が脂肪の摂取行動に与える影響を調べた。予備検討として、Naltrexone が飼料摂取量に与える影響を検討した。投与濃度 0.5 もしくは 2.0 mg/kgBW いずれにおいても Naltrexone は飼料摂取量に影響を与えなかった(図 2-1)。また delta オピオイド受容体阻害剤である Naltrindole も飼料摂取量に影響をあたえなかった。

Naltrexone を投与した際の脂肪の摂取量を検討した(図 2-2)。Naltrexone 濃度依存的に脂肪(イントラリピッド)摂取量の減少がみられた。一方で Naltrindole 投与では変化がみられなかった。

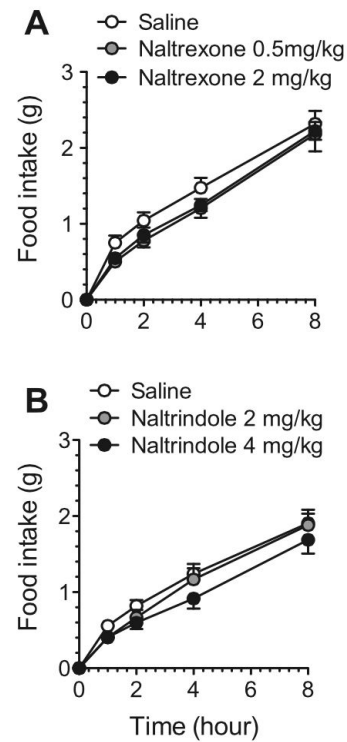


図 2-1. Naltrexone(A)および Naltrindole (B)投与による飼料摂取量の変化 Values are means±SEM. n = 10-12

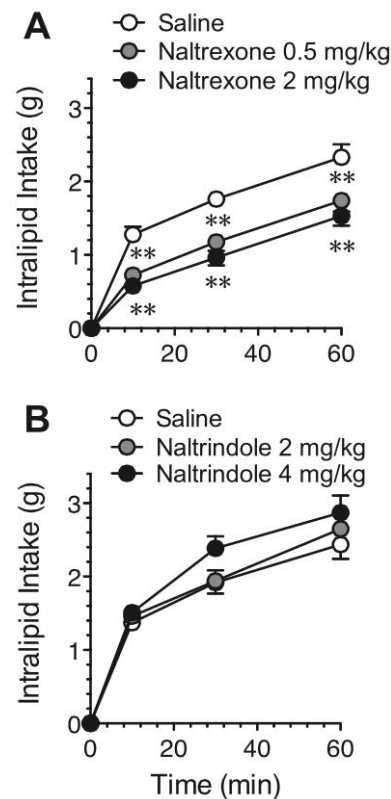


図 2-2. Naltrexone(A)および Naltrindole (B)投与による Intralipid 摂取量の変化 Values are means±SEM. n = 10-12

(3) Naltrexone 投与が脂肪に対する報酬効果

に与える影響

脂肪に対する報酬効果の強さをオペラントレバー押し試験により評価し、Naltrexone 投与による影響を検討した。マウスはより高い濃度の脂肪に対してより多くレバーを叩いた。つまり脂肪の濃度依存的に高い報酬効果を示した(図 3A)。Naltrexone を投与してもレバー押し回数に変化はみられなかった(図 3B)。8 mg/kg という高濃度でのみレバー押し回数の減弱が観察された(図 3C)。

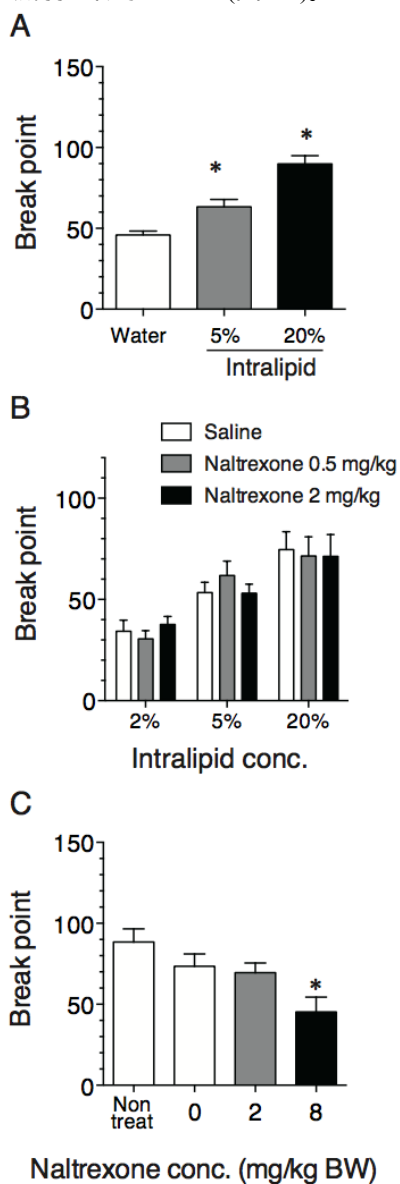


図 3. Naltrexone 投与がオペラントレバー押し行動に与える影響。Values are means±SEM. n = 8.

(5) Naltrexone 投与が脂肪に対する執着に与える影響

Naltrexone 投与が脂肪に対する執着に与える影響を条件付位置嗜好性試験により検討した。マウスは脂肪で条件付けを行うと、試験日に条件付けした箱(conditioned box)の滞

在時間が増加した(図 4)。つまり、位置嗜好性を示した。条件付け時に Naltrexone を投与するとこのような増加が消失した。次に脂肪で条件付けしたマウスに試験日のみ Naltrexone を投与して実験を行ったところ位置嗜好性が観察された。つまりこの条件下では Naltrexone は位置嗜好性に影響を与えなかった。

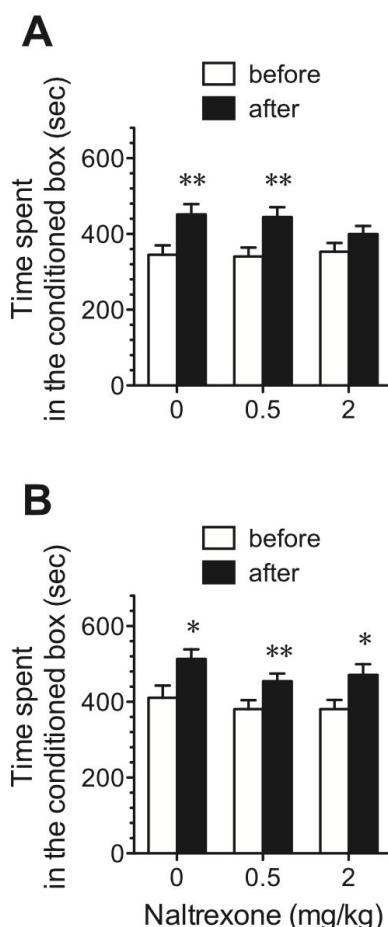


図 4. Naltrexone 投与が脂肪に対する執着に与える影響。Values are means±SEM. n = 10.

c-fos 発現の検討により、脂肪のみならず糖などの甘味溶液摂取によりβ-endorphin 神経が活性化されることが明らかとなった。また、脂肪の濃度依存的に c-fos 発現が強化された、つまりβ-endorphin 分泌が促進された。この結果は脂肪の濃度が高いほど嗜好性が高いという過去の結果と一致する。

Naltrexone 投与によりβ-endorphin の受容体への結合を阻害すると脂肪の摂取量が減少した。この結果と c-fos 実験の結果をふまえると、脂肪や糖などの好ましい溶液摂取がβ-endorphin 分泌を促し、これによりさらなる摂取が促進されることが示唆された。

しかしながらオペラントレバー押し試験では Naltrexone は報酬効果の指標であるレバー押し回数に影響を与えなかった。これは脂肪の嗜好性と報酬効果は別々の機構で制御

されている可能性を示すものである。また、条件付位置嗜好性試験においても Naltrexone は位置嗜好性に影響を与えなかったこともこの仮説を支持するものである。

一方で、条件付位置嗜好性試験において条件付け時に Naltrexone を投与するとマウスは位置嗜好性を示さなくなった、つまりマウスは脂肪に執着しなくなった。この結果は、脂肪の嗜好性が獲得される前と後でβ-endorphin の役割が異なるからであると考えられる。脂肪の嗜好性は摂取経験つまり食べ続けることで獲得されるものであり、この獲得過程でβ-endorphin が大きな役割を果たしているのであろう。一方ですでに脂肪の嗜好性を獲得したマウスではβ-endorphin はもはや必要ではなくドーパミンなどの別回路により脂肪への執着や報酬効果が維持されていると考えられる。

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 5 件)

Matsumura S, Eguchi A, Okafuji Y, Tatsu S, Mizushige T, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. Dietary fat ingestion activates β-endorphin neurons in the hypothalamus. 査読有, *FEBS Lett.* 2012 Apr 24;586(8):1231-5. 2012 Mar 23.

Adachi S, Eguchi A, Sakamoto K, Asano H, Manabe Y, Matsumura S, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. Behavioral palatability of dietary fatty acids correlates with the intracellular calcium ion levels induced by the fatty acids in GPR120-expressing cells. 査読有 *Biomed Res.* 2014;35(6):357-67. doi: 10.2220/biomedres.35.357.

Sakamoto K, Matsumura S, Okafuji Y, Eguchi A, Yoneda T, Mizushige T, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. The opioid system contributes to the acquisition of reinforcement for dietary fat but is not required for its maintenance. 査読有 *Physiol Behav.* 2015 Jan;138:227-35. doi: 10.1016/j.physbeh.2014.11.001.

Sakamoto K, Okahashi T, Matsumura S, Okafuji Y, Adachi S, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. The opioid system majorly contributes to preference for fat emulsions but not sucrose solutions in mice. 査読有 *Biosci Biotechnol Biochem.* 2015;79(4):658-63. doi: 10.1080/09168451.2014.991688.

Sakamoto K, Matsumura S, Okafuji Y, Eguchi A, Lee S, Adachi S, Fujitani M, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. Mechanisms Involved in Guiding the Preference for Fat Emulsion Differ Depending on the Concentration. 査読有 *J*

Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2015;61(3):247-54. doi: 10.3177/jnsv.61.247.

[学会発表](計 3 件)

松村成暢、油脂の粒子系が美味しさに与える影響 第二回先端味覚研究セミナー 2012年8月24日、日本女子大学、東京

安達真一、江口 愛、坂本和洋、浅野裕基、眞鍋康子、松村 成暢、都築 巧、井上 和生、伏木 亨 Changes in extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens of mice by ingesting various types of fatty acids at low concentrations 日本味と匂学会第48回大会、2014年10月2日 静岡市清水文化会館、静岡県静岡市

Tatsuya okahashi, Kazuhiro Sakamoto, Shigenobu Matsumura, Satoshi Tsuzuki, Kazuo Inoue, Tohru Fushiki The study of the difference in feeding behavior elicited by Hunger or palatability 12th Asian Congress of Nutrition 2015年5月14日 パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

松村 成暢 (MATSUMURA SHIGENOBU)
京都大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号：70467413

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：