

論文の内容の要旨

応用生命化学 専攻
平成 23 年度博士課程 進学
氏 名 牛尼 翔太
指導教員名 中井 雄治

論文題目

摂食とエネルギー恒常性に関する研究—脳を介する末梢器官調節の解析

序論

動物は体内の栄養状態の変化に呼応して摂食行動や末梢器官における代謝を調節することでエネルギー恒常性を維持する。栄養素摂取が十分な状態では、糖質をエネルギー源として利用し、余剰分を脂肪として蓄積する一方、摂食行動は抑制される。逆に、絶食により栄養素摂取が不十分な状態では体内で不足したエネルギーを補うため、蓄積していた脂肪を利用し、摂食行動が促進される。末梢器官におけるこうしたエネルギー恒常性は、脳の司令によるホルモンや神経伝達等の作動で厳密に調節されている。

エネルギー恒常性には、食物摂取が重要な要因となる。しかしその際、視覚・嗅覚・味覚・触覚などの感覚も密接に関わる。とくに味覚は摂食時のみに生じる感覚であり、摂取する食物の質・量に影響を与えるため、エネルギー恒常性との関連性が深い。また、摂食

に伴い食物由来の因子が消化管に作用し、その刺激が生理機能を引き起こす機構の存在も報告されている。消化管は摂取した食物(栄養素)を消化・吸収するだけでなく、エネルギー代謝の起点となることが推定されている。消化管を含めた末梢器官で受容された情報の多くは脳に伝達され、脳はそれを基にエネルギー代謝調節を行う。この場合、消化管と脳の連動関係は密接であると考えられるが、その詳細な機構については不明な点が多い。

本研究は、摂食時に生じるエネルギー恒常性維持機構の一端として、栄養学的な観点に加え、生体が食品因子から受ける刺激がエネルギー恒常性に与える影響、とくに脳を介する調節機構を解明することを目的とした。

第1章 絶食後再給餌が末梢臓器の遺伝子発現に与える影響の網羅的解析

摂食後に生じる遺伝子発現変動を経時的に捉えるために、絶食後飼料を1、3、6時間与えたラットの肝臓と白色脂肪組織について DNA マイクロアレイ解析を行った。両臓器とも給餌時間依存的に遺伝子発現プロファイルが変化し、肝臓ではエネルギー産生関連遺伝子が脂質合成関連遺伝子に比べ早期に発現変動するという経時的な代謝変化を明らかにした。また新たに、免疫プロテアソームの発現上昇など様々な遺伝子が栄養状態により変動することもわかった。これらの結果は、摂食により多様な生理作用、特にエネルギー恒常性変化が生じることを示した。そこで、摂食とエネルギー恒常性に関する生体现象を多面的に解析した。

第2章 摂食と味覚刺激の関係性の解析

第1節 味覚刺激が摂食行動に与える影響

食物由来の味覚刺激が摂食行動に与える影響を明らかにするために、野生型(WT)マウスに対して味物質添加餌を与え、摂食量の解析を行った。その結果、嗜好味では摂食量は変化しなかったが、高濃度の苦味では摂食量の低下が生じた。甘・苦・旨味の受容味細胞が消失し、これら3味を知覚できない、味覚関連転写因子 *Skn1* を欠損(KO)したマウスでも WT マウスと同様に忌避味に対する摂食量が低下したが、その忌避する割合は減少した。このことから味覚感知機能消失が忌避の緩和を引き起こした可能性が示唆され、摂食行動は味覚による影響を受けると考えられた。次に、食物選択における味覚刺激の関与を2種類の餌を同時に提示する嗜好性試験にて評価した。甘味に対しては WT マウスのみで味覚刺激依存的な嗜好性を示し、苦味に対しては両マウス共に忌避が見られたが、KO マウスの忌避の程度は WT マウスに比べ緩和され、味覚刺激が食物選択に影響することが示された。

以上より、動物は味よりもエネルギーを確保することを優先するため嗜好味は摂食量に影響しないが、食物選択には寄与することが示された。一方、忌避味は摂食可否の判断に寄与するためエネルギーの確保よりも優先されることが推定された。また、KO マウスも苦味に対して忌避したことから、口腔以外の受容機構が存在する可能性が示唆された。

第2節 甘味刺激とエネルギー代謝の関連性の解析

甘味受容はカロリー源である糖を感知する機構であり、甘味とエネルギー代謝の関連性は深い。しかし近年、ノンカロリー人工甘味料の摂取が体重増加を亢進するとの報告が複数あり、甘味刺激自体がエネルギー恒常性に影響する可能性が指摘されている。そこで、甘味刺激とエネルギー代謝の関連性を肝臓遺伝子発現解析から検討した。

WT マウスにサッカリン溶液を飲水または口腔を通過しないよう胃内投与した。6 時間後肝臓を摘出し、DNA マイクロアレイ解析を行なった。その結果、飲水群において脂肪酸 β 酸化関連遺伝子の発現上昇などの脂質代謝の変化が生じた。これらの遺伝子発現変動が甘味刺激により誘導されているかについて検討するために KO マウスを用いたところ、脂質代謝関連遺伝子の発現変動は観察されなかった。この結果より、口腔の甘味刺激が脳に伝達されることで遺伝子発現変動が誘導されるという新たな経路が存在する可能性が強く示された。さらに、脳から肝臓への制御機構を検討するため、肝枝切除手術を施した WT マウスでは、脂質代謝関連遺伝子の発現変動は認められなかった。このことは、甘味刺激が脳へと伝達された後、迷走神経を介して肝臓の遺伝子発現変動を誘導する経路が存在することを示唆している。

以上の結果は、甘味の感覚が肝臓の栄養素代謝に直接影響するだけでなく、体内でエネルギー源として利用されないとされてきた人工甘味料が栄養素代謝に影響を及ぼす可能性を示した新たな知見である。

第3章 消化管を起点とする新たな臓器間ネットワークの解明

食物由来の刺激が消化管に与える影響を解析するには、味覚の影響を除外できる KO マウスを利用することが有効である。通常飼育条件下においては、KO マウスの摂食量は WT マウスと同等であった。しかし、KO マウスは同腹仔の WT マウスに比べ、体脂肪率の低下を伴う顕著な低体重を示した。低体重が生じる原因について検討を行ったところ、運動量には遺伝子型の違いによる差はなかったが、呼吸交換比の低下、エネルギー消費量の上昇、血清中ケトン体の上昇等が観察され、KO マウスにおいて脂肪分解が亢進している可能性が示唆された。高脂肪食投与では脂質吸収量に差はなかったが、16 週齢時点で WT マウス(約 40g)に比べ、KO マウス(約 30g)は肥満の発症が大幅に抑制された。また心拍数、直腸温に変化はなかったが、血圧の低下、腓腹筋ミトコンドリアコピー数の増加などの表現型が観察された。以上の結果より、KO マウスにおいて恒常的に脂質分解が亢進し、産生されたケトン体が筋肉のミトコンドリアで消費される経路の存在が示唆された。

また、出生後の体重増加量に変化が見られたことから、KO マウスにおいて脂質分解の亢進が生じる原因は、摂食による栄養素摂取の開始であると考えた。また、経口グルコース負荷試験(OGTT)において、WT マウスに比べ KO マウスの血糖値に変化はないが、インスリン分泌量は有意に低値であったという結果が示されている。インスリン分泌は膵臓以外にも消化管や脳により調節される。KO マウスではこれらの組織による調節機構に変化が生

じていることが示唆された。この可能性を検証するために、横隔膜下迷走神経切断(Vx)マウスに対して OGTT を実施した。WT マウスでは、Vx マウスは偽手術(Sham)マウスに比べ、血糖値上昇が抑制された。しかし、KO マウスでは処理の違いによる血糖値上昇パターンに変化はなかった。この結果は、消化管と脳の迷走神経を介した連関性を示唆しており、KO マウスではその経路が作動していないことが推定された。

脳から脂質代謝を調節する因子としてホルモンとカテコールアミン分泌の関与を検討した。血清中甲状腺ホルモンには変化が見られなかったが、尿中カテコールアミンの排泄量が KO マウスで有意に増加していた。カテコールアミン分泌の促進により脂質分解が誘導されることが推定された。

WT マウスでは絶食状態においてカテコールアミンを分泌しエネルギー産生を亢進させている。Vx マウスの解析から、食物が消化管を通過する際に、食物由来の刺激が受容され、迷走神経を介して脳へと情報が伝達されることがわかった。この情報を基にカテコールアミン分泌を抑制し、エネルギー恒常性を維持する機構が存在する可能性を示唆している。一方、KO マウスは消化管から脳への神経伝達経路が消失していることから、食物が消化管を通過しても脳に情報が伝達されない。そのため、交感神経が常に興奮状態となり、過剰なカテコールアミン分泌により脂質代謝が促進し体重差が生じたことが考えられた。

まとめ

本研究では摂食が生体に与える影響をエネルギー恒常性維持機構に焦点を当てて解析した。口腔における味覚刺激が摂食行動に影響を与えることや、甘味刺激に連動したエネルギー代謝調節機構が存在することを検証し、味覚とエネルギー恒常性維持機構の関連性を明らかにした。さらに、WT マウスと比べ、摂取エネルギー量に変化はないが、有意な低体重を示す *Skn1* KO マウスをエネルギー恒常性の破綻したモデルとして解析した。KO マウスにおいて脂質代謝が有意に亢進し、さらに高脂肪食摂取により脂質代謝に関わる指標の顕著な変化が観察された。また、KO マウスでは脳と消化管の関係性が変化し、カテコールアミン分泌制御が正常に行われていないというネットワークの破綻が生じている可能性を明らかにした。

以上を総括すると、摂食によるエネルギー代謝の変化は、栄養素の吸収による影響だけでなく、摂食の刺激が受容されることで生じる末梢器官(口腔、肝臓、消化管、筋肉)と脳のネットワークからも調節されることが明らかになった。

本研究は、摂食による脳を介したエネルギー恒常性維持機構の一端を解明するとともに、食物が生体に与える影響を栄養面だけでなく感覚面などの視点から総合的に解析した知見を提示したもので、学術面のみならず社会面での貢献に繋がると考える。

発表論文

Ushiyama S, et al.,*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, (2010)74:1320-1323.