

論文要約

肥満と脂肪肝発症における概日リズムの変化及び食品成分大豆たんぱく質 β -コングリシニンの改善効果

李 冬陽

背景

脂肪と砂糖過剰摂取は肥満や脂肪肝発症の原因である。肥満と脂肪肝発症に対する分子メカニズムの解明と新しい治療ターゲット探索、及び食品成分による予防と改善は健康維持にとって重要な課題である。概日リズムはあらゆる細胞において時計遺伝子が作り出す約 24 時間周期の振動現象である。概日リズムの乱れは、肥満や脂肪肝発症に繋がり、高脂肪食摂取により肥満発症したマウスでは各臓器の概日リズム変化が報告されている。また、食品成分大豆たんぱく質 β -コングリシニンが脂肪過剰摂取による肥満や脂肪肝発症を予防できることは報告されている。

目的

本研究では、高シヨ糖食摂取により肥満発症したマウスの各臓器の概日リズム変化及びその分子機序の解明、及び高脂肪食摂取により肥満発症したマウスの肥満及び脂肪肝に対する β -コングリシニンの改善効果及び肝臓と白色脂肪組織におけるその分子機序の解明を目的とした。

実験と結果

1. 高シヨ糖食摂取により肥満発症したマウスの各臓器の概日リズム変化

6 週齢の雄 ddY マウスを 1 週間普通飼料で飼育後、Starch 食 (StD)、high-fat 食 (HFD)、high-sucrose 食 (HSD) を 8 週間投与した。最終日に 24 時間にわたり、4 時間ごとに解剖を行った。StD 群と比べ、HFD 群と HSD 群の体重と白色脂肪組織 (WAT) の重量は有意に増加した。HFD 及び HSD 摂取により、1 日を通じて肝臓の triglyceride (TG) 量が有意に増加した。HFD 群の血糖値、血清インスリン濃度、血清 TG、total cholesterol (TC) と遊離脂肪酸濃度は StD 群と HSD 群より著しく高く、HSD 群の血清インスリン濃度は StD 群より高かった。

Real-time PCR により肝臓、WAT 及び褐色脂肪組織における遺伝子発現を測定した結果、肝臓において、HFD 摂取により時計遺伝子 *Npas2*、*Clock*、*Bmal1*、*Per2*、*Per3*、*Cry1* と *Cry2*、核内受容体 *Rora*、*Ror γ* と *Dbp* の発現が減少し、核内受容体 *Rev-erb β* の発現が増加した。HSD 摂取により時計遺伝子 *Npas2*、*Clock*、*Per2*、*Per3* と *Cry1*、核内受容体 *Ror γ* の発現

が増加し、核内受容体 *Rev-erb β* の発現が減少した。また、StD 摂取群と比べ、脂肪合成に関わる転写因子 *Ppar γ 2* の発現は HFD 摂取で著しく増加し、新規脂肪合成に関わる転写因子 *Srebp-1c* の発現は HSD 摂取で有意に増加した。また、HSD は肝臓において、インスリンシグナル経路において重要なタンパク質 Akt のリン酸化を増加させた。

WAT において、HFD で時計遺伝子 *Npas2*, *Bmal1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1* と *Cry2*, 核内受容体 *Rev-erb α* , *Rev-erb β* , *Ror α* , *Ror γ* , *Dbp* と *E4bp4* の発現が減少した。HSD では HFD と同じく時計遺伝子 *Npas2*, *Bmal1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1* と *Cry2*, 核内受容体 *Rev-erb α* , *Rev-erb β* と *Ror γ* の発現が減少した。また、HFD 群の *Ppar γ 2* と *Srebp-1c* の発現が増加した。

褐色脂肪組織において、HFD で時計遺伝子 *Npas2*, *Clock*, *Bmal1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1* と *Cry2*, 核内受容体 *Rev-erb α* , *Rev-erb β* , *Ror α* と *Ror γ* の発現が減少した。HSD 摂取により時計遺伝子の発現が変化しなかった。

2. 高脂肪食摂取により肥満発症したマウスの肥満及び脂肪肝に対する β -コングリシニンの改善効果

6 週齢の雄 ddY マウスを、1 週間普通飼料で飼育後、HFD を 4 週間投与し、肥満及び脂肪肝を発症させた。その後、HFD、medium-fat 食 (MFD)、low-fat 食 (LFD) と異なる脂肪比率の飼料で、さらに各々のたんぱく質をカゼインまたは β -コングリシニンにした飼料を、マウスを 6 群 (各群 8 匹) に分けて、各群に 5 週間投与した。 β -コングリシニン摂取により、マウスの体重、皮下脂肪組織と精巣脂肪組織の体重 1 g あたりの相対重量及び肝臓 TG 量が減少した。

β -コングリシニン摂取により肝臓では HFD 群における *PPAR γ 2* の発現量と核タンパク質量、及び転写因子 *Srebp-1c* と標的遺伝子の発現が減少した。精巣脂肪組織と皮下脂肪組織では、HFD 群において、 β -コングリシニン摂取により、炎症に関する遺伝子の発現が有意に減少した。また、HFD 群において、 β -コングリシニン摂取により *PPAR γ 1* と *PPAR γ 2* の発現は皮下脂肪組織で有意に減少したが、精巣脂肪組織では減少は見られなかった。ELISA により血清インスリンとレプチン濃度を測定したところ、 β -コングリシニン摂取により血清インスリンとレプチン濃度が減少した。

まとめと考察

1. 高シヨ糖食摂取により肥満発症したマウスの各臓器の概日リズム変化

HSD 摂取により肥満発症したマウスにおいて、肝臓と WAT における時計遺伝子発現のリズムが変化した。時計遺伝子発現リズムの変化について、HFD は各臓器の時計遺伝子発現リズムの振幅を小さくした。HSD 摂取により、肝臓の時計遺伝子の発現リズムの振幅が大きくなり、WAT の時計遺伝子の発現リズムの振幅が小さくなり、褐色脂肪組織の時計遺伝子の発現リズム

ムには変化がなかった。概日リズムの変化は時計遺伝子の転写レベルの相互作用と関連していると考えられた。また、時計遺伝子は代謝調節機能を有し、変化した概日リズムは代謝に関わる転写因子との相互作用により、脂肪肝と WAT の肥大化を促進したと考えられた。肝臓において、ROR α は PPAR γ 2 の標的遺伝子の PPRE への結合を抑制することによって、脂肪合成を抑制することが報告されている。したがって、HFD 群で *Rora* の発現が減少し、PPAR γ 転写活性を抑制する働きが弱くなったことにより、さらに PPAR γ の活性化が進み、脂質合成系が活性化されたと考えられた。BMAL1 はインスリン依存的に肝臓の新規脂肪合成経路を促進する。HSD 群における *Bmal1* の発現の増加は、*Srebp-1c* の発現及び新規脂肪合成経路の活性化に繋がったと考えられた。WAT において、PER2 は PPAR γ の標的遺伝子への転写活性を抑制することにより脂肪組織の分化を抑制する。HFD 群と HSD 群で *Per2* の発現が減少し、PPAR γ の転写活性への抑制作用が弱くなったことにより、PPAR γ の転写活性が増加し、WAT の肥大化を促進したと考えられる。本研究により、同じ脂肪肝や肥満を発症した場合でも、HFD か HSD かによって時計遺伝子の発現リズム変化の様式が異なること、また、同じ食事でも組織によって時計遺伝子の発現リズム変化の様式が異なることを初めて明らかにした。将来は食事摂取により、末梢概日リズムが同調するメカニズム、時計遺伝子が代謝を調節するメカニズムの解明、さらに肥満や脂肪肝などの生活習慣病発症の予防や改善に対する新たな治療ターゲットの提供につながることを期待される。

2. 高脂肪食摂取により肥満発症したマウスの肥満及び脂肪肝に対する β -コングリシニンの改善効果

β -コングリシニンは肥満発症したマウスの脂肪肝を改善した。HFD 群において、 β -コングリシニン摂取により、肝臓の *Ppar γ 2* 及び *Srebp-1c* の発現が減少した。また、 β -コングリシニンは HFD 群の *Ppar γ 1*、HFD と MFD 群の *Ppar γ 2* の発現、及び血清インスリンとレプチン濃度を減少させたことにより、肥満を有意に改善した。 β -コングリシニンは、脂肪肝及び肥満を改善できる食品成分たんぱく質であると期待される。