

<平成27年度助成>

## 高嗜好性高カロリー食品が引き起こす過食の 分子生物学的機序の解明

松村 成暢

(京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻)

### 背景および目的

霜降り肉やトロ、ドーナツ、ケーキなど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。脂肪はカロリーを最も多く食品成分であり、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。しかしながら、食べ物であふれた現代社会では脂肪は肥満を招くとともにそれに関わる生活習慣病の引き金となり、医療費を増大させ社会問題にまでなっている。

健康人が高嗜好性高カロリー(高脂肪、高糖質)食品を食べすぎてもすぐに食欲抑制が働き過食になることはない。しかし、恒常的に食べ続けることにより、抑制が減弱し、最終的には渴望感が生まれ摂食が亢進してしまう。実際、過食症患者では味に対して興味がなく脅迫的観念により食べ過ぎてしまう。これは高嗜好食品の継続的な摂取が脳に何らかの変化を及ぼしたためだと考えられる。味細胞から発せられる過剰なシグナル、体内エネルギー量の過多、および精神的なストレスが個々にもしくは相加的、相乗的に脳神経に何らかの影響を及ぼすものと推察される。

マウスを用いた実験でどのような餌の組成が動物を効率的に肥満させるかという検討はこれまで数多くされているが、いまだにヒトの過食症患者ほど強烈に過食を誘導する餌は存在しない。これはヒトに置き換えると容易に思いつくことではあるが、餌の嗜好性および動物が餌に対して飽きる

ことが考慮されていないからであると考えられる。また、嗜好性以外の要因が考えられ、その一つがストレスである。しかしながら、ヒトと異なりマウスにストレスを与えると一過性に食餌摂取量が増加することはあるが過食には至らず、むしろ拒食を招く。そこで本研究では過食の脳内機構の解明に先立ち、新たなストレス過食モデルの確立を行うこととした。

脳神経系は一部脳部位を除いて通常新たな神経細胞は生まれることはない。神経細胞は遺伝子発現調節により可塑性や、記憶、神経細胞機能の変化が生まれる。このことから遺伝子転写調節因子が過食の脳内変化に関与していると考えられる。そこで、本研究では先に確立したストレス過食モデルマウスを用いて高嗜好性食品摂取が過食を発生させる脳内機序の解明および遺伝子転写因子の役割について検討を行った。

### 実験方法

本研究は京都大学動物実験委員会の承認を受けて実施した。

C57BL/6N、雄性マウス(日本チャールズリバー、横浜)を実験に用いた。明暗12時間サイクルにて飼育し、水と餌(MF:オリエンタル酵母、東京)は自由摂食にて与えた。ラード(日本クレア、東京)およびコーン油(Ajinomoto, 川崎)は給餌箱および給水瓶に入れて与えた。コルチコステロン投与は自由摂食にて行った。コルチコステロンをエタノールに一旦溶解し、任意の濃度に水で希釈し、給水瓶に入れて供与した。

## 呼気ガス分析

マウスを専用のアクリル製チャンバーに入れ、ポンプにより吸引し呼気ガスを採取した。呼気ガス分析は質量分析 (Arco2000、アルコシステム、柏) を用いて経時的に酸素消費量、二酸化炭素排出量を計測した。また、チャンバー上部に設置した赤外線センサーにより行動量も同時に測定した。

## 免疫染色

マウスを麻酔下にて4%パラホルムアルデヒドで灌流固定したのち、脳を採取した。脳を凍結し30 $\mu$ m厚の凍結切片を作成した。1%BSAによりブロッキングを行ったのちに、一次抗体 (anti-POMC antibody, anti-Neuropeptide Y antibody, anti-phospho-CREB antibody) を加えた。一晩振盪し、各一次抗体に対する蛍光標識二次抗体 (Invitrogen, CA, USA) を加えた。二次抗体洗浄の後に、スライドグラスにのせ共焦点レーザー顕微鏡 (FV1000, Olympus, Tokyo) にて観察した。

## 結 果

マウスを二群に分け、コントロール群には標準飼料のみを自由摂食 (コントロール群) で与え、もう片方は標準飼料に加えて、コーン油を給水瓶に入れて与え各群の体重変化を検討した。コーン油を与えても体重に変化は見られずむしろ抑制傾向がみられた (図1)。次にラード、スクロースを給餌器に入れて与え、同様に各群の体重変化を検討した。コーン油と同様にラードでもスクロースでも体重に差はみられなかった (図2)。コーン油やラードを与えた群では標準飼料の摂食量が約半分ほどに減少したが、摂取した油脂のカロリーを合わせたトータルでのカロリー摂取量は増加した (data not shown)。

## 呼気ガス分析

次に、コントロール群には標準飼料のみを対象群には標準飼料に加えてラードを6週間与えたのちに呼気ガス分析を行った。自発行動量および体

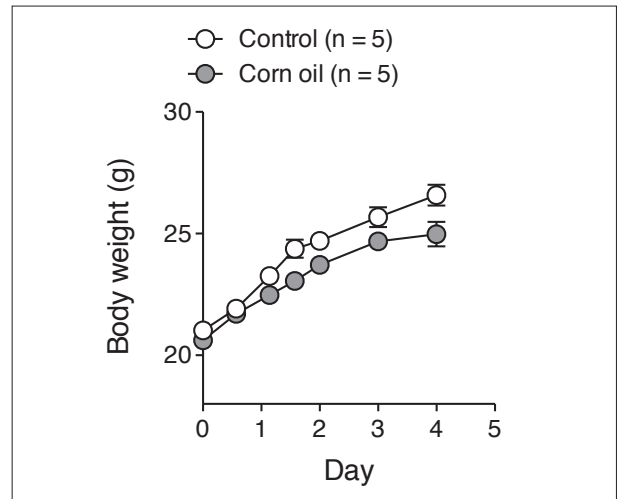


図1 コーン油摂取による体重変化

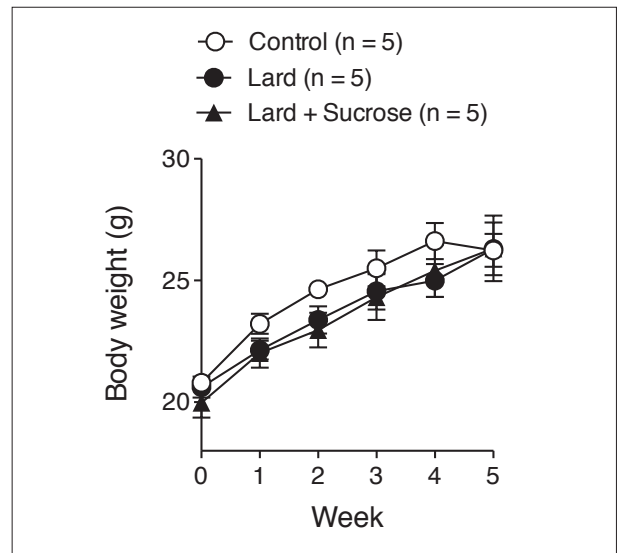


図2 ラード、およびスクロース摂取による体重変化

重に変化が見られなかったにも関わらず、酸素消費量の顕著な増加が明期暗期ともに観察された (図3A, B)。なお、呼吸商はラード群で低下が見られた (data not shown)。

## コルチコステロン投与の影響

ストレスは視床下部脳下垂体副腎系を活性化し、血中のコルチコステロン濃度を上昇させる。給水瓶にコルチコステロンを添加しマウスに自由摂食させると血中のコルチコステロン濃度が上昇することが報告されている。本実験ではコルチコステロン濃度5もしくは25 $\mu$ g/mlに調整しマウスに与えた。25 $\mu$ g/mlのコルチコステロンのみでは何も与えないマウスと比較して体重に変化はみ

られなかった (data not shown)。25  $\mu\text{g/ml}$  のコルチコステロンを与え、さらにラードを与えた群 (Lard with CORT 25  $\mu\text{g/ml}$ ) でのみ体重の著しい増加が観察された。この時、食餌摂取量もコルチコステロン 25  $\mu\text{g/ml}$  群で増加傾向がみられた (図 4A, B)。

### 過食マウスの脳内変化

コルチコステロンにより肥満したマウスの脳内の変化を免疫染色により検討した。動物の摂食調節は主に proopiomelanocortin (POMC) を産生するニューロンと neuropeptide-Y (NPY) および Agouti related protein (AGRP) を産生するニューロンにより調節される<sup>1)</sup>。本実験ではこの二つの神経に加えて神経発達において最も重要な転写因子である CREB について検討を行った。POMC お

よび NPY はともに視床下部弓状核でのみ発現が強くみられる。そこで弓状核におけるこれらの因子の発現を検討したところ、摂食亢進作用のある NPY の発現減少がコルチコステロン投与群 (CORT with Lard) でみられた (図 5)。また、CREB の発現低下も同様に観察された。

### 考 察

本研究では過食モデルの作成および過食モデルマウスの脳内変化について検討を行った。これまで我々の研究室では脂肪の摂取がドーパミンやエンドルフィン分泌を促進することを報告してきた<sup>2,3,4)</sup>。これら二つの神経伝達物質は動物に快感をもたらし、さらなる摂食が亢進すると考えられてきた<sup>5)</sup>。しかしながら、本実験ではマウス

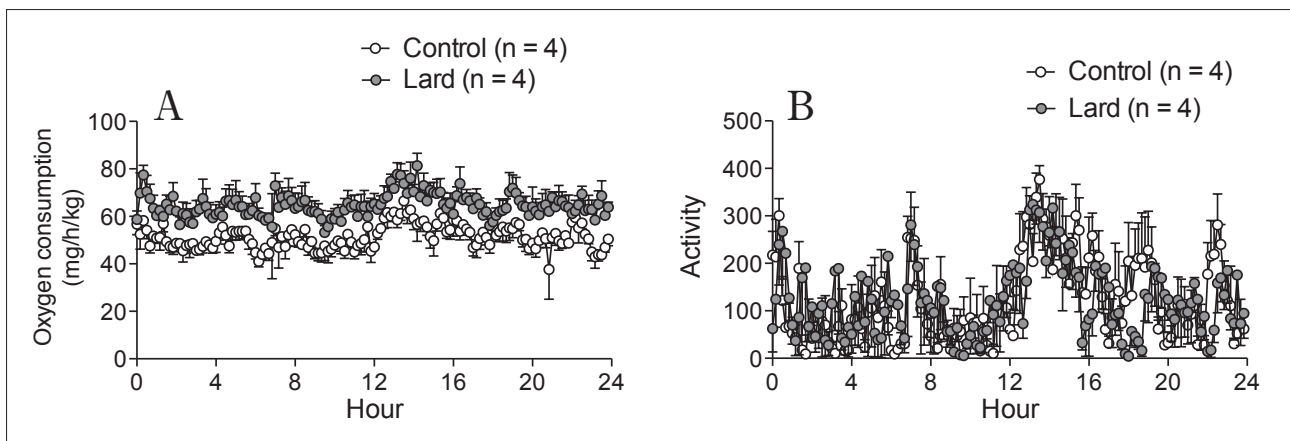


図 3 ラード摂取時の酸素消費量と自発行動量

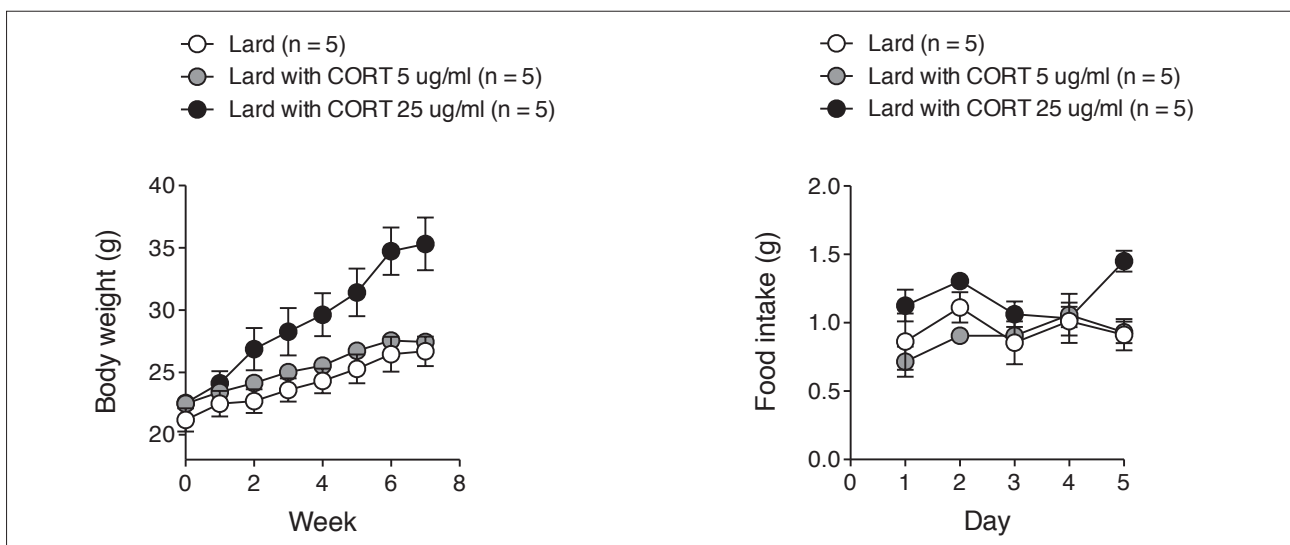


図 4 コルチコステロン投与とラード摂取による体重とカロリー摂取量の変化

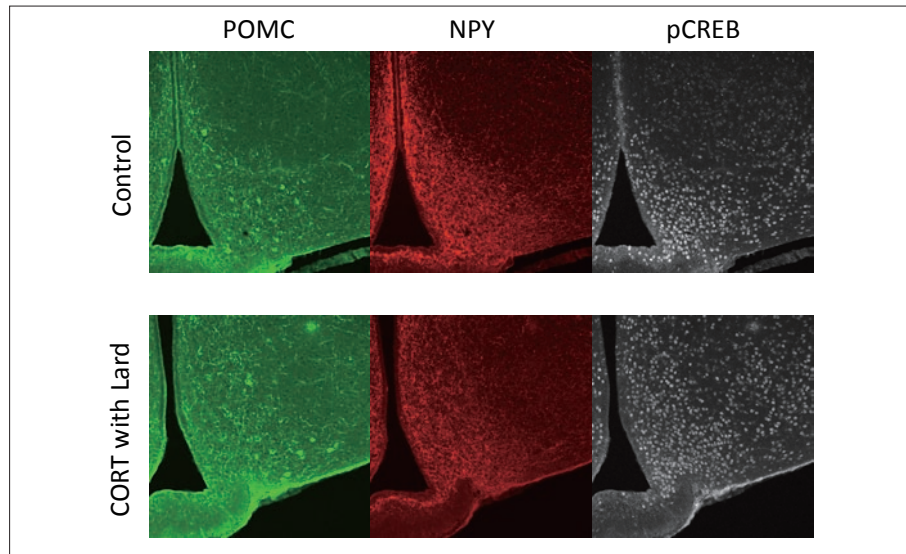


図5 コルチコステロン投与とラード摂取による脳内摂食関連神経ペプチドPOMC, NPYおよび転写因子CREBの変化

にラードやコーンオイルなどドーパミンやエンドルフィン分泌を刺激する食品を与えても肥満しないことが明らかとなった。動物に脂肪を自由摂取させると摂取させない場合と比較して1日の総摂取カロリーは著しく増加するがエネルギー消費量も同時に増加したため、結果として動物の体重に変化がみられなかったものと考えられる。なぜ、脂肪を摂取した際にエネルギー消費量の増加がみられたのかは不明であるが、動物の体重維持を目的としたある種の防御機構なのであると考えられる。

ラードを標準飼料とともに与えてもマウスは肥満しないがコルチコステロンを同時に投与すると体重の著しい増加がみられた。ストレスを恒常的に感じている人は血中コルチコステロンが高い傾向にある。つまり、今回の結果は高脂肪食およびストレスの両者が肥満の原因であると暗に示すものである。ストレスによって増加したコルチコステロンが脳に働きかけ食欲調節を狂わせてしまっているのかもしれない。

興味深いことにコルチコステロン投与により、当初は増加しているものと考えていた摂食促進神経ペプチドであるNPYの発現が実際には減少していた。一方で摂食抑制のPOMCに変化はみられなかった。NPYの発現を調節する転写因子の

CREBも発現低下がみられたことから、コルチコステロンがなんらかの形でCREBの活性を減少させ、結果的にNPYの発現が減少したものと考えられる。今後さらなる詳細な検討が必要であるがおそらくNPY発現レベルの低下に伴うフィードバック調節の減弱がさらなる摂食を亢進したものと考えられる。

高カロリー高嗜好性食品は人々を魅了してやまない。健康のために多くの人がこのような食品の摂取を控えようとするが、その美味しさ故に困難であるのが現状である。また、現代はストレス社会とも言われており多く人が精神的なストレスを感じている。このストレスからの回避に快感を有する高カロリー食品が求められ結果として肥満してしまうのだろう。

本実験によりストレスが肥満を招く可能性が示されたが同時に高脂肪食を食べ過ぎても肥満しない可能性も示された。これはエネルギー消費量の増加によるものであるが、摂食量だけではなくエネルギー消費量が肥満するかしないかの鍵となることが示された。今後、このメカニズムが明らかになれば脂肪の摂取を気にすることなく美味しく食べて健康な食生活を送る足がかりになるものと期待される。



## 謝 辞

最後に本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Elmquist JK, Coppari R, Balthasar N, Ichinose M, Lowell BB. *J Comp Neurol*. 2005 Dec 5; **493**(1):63-71. Review.
- 2) Adachi S, Endo Y, Mizushige T, Tsuzuki S, Matsumura S, Inoue K, Fushiki T. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013; **77**(11):2175-80.
- 3) Matsumura S, Eguchi A, Okafuji Y, Tatsu S, Mizushige T, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. *FEBS Lett*. 2012 Apr 24; **586**(8): 1231-5.
- 4) Mizushige T, Saitoh K, Manabe Y, Nishizuka T, Taka Y, Eguchi A, Yoneda T, Matsumura S, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. *Life Sci*. 2009 May 22; **84**(21-22):760-5.
- 5) Koob GF, Volkow ND. *Lancet Psychiatry*. 2016 Aug; **3**(8):760-73.

## Study on the mechanism of hyperphagia and obesity by palatable, high-calorie food

Shigenobu Matsumura

*Laboratory of Nutrition Chemistry, Graduate School of Agriculture  
Department of Food Science and Biotechnology  
Kyoto University*

High-calorie food is attractive and generally more palatable to humans than low-calorie, low-fat foods. High-calorie foods sometimes cause hyperphagia and obesity, however, the precise mechanism is still unclear. In this study, we focused on the mechanism of hyperphagia and obesity by high-calorie food.

Previously, we reported that mice show high preference for dietary fat. Also, dietary fat ingestion promotes dopamine and endorphin release in the brain through the stimulation of the gustatory system (palatability). From this, we hypothesized that dietary fat ingestion might cause hyperphagia.

First, we investigated the effect of corn oil ingestion on body weight gain in mice. In addition to normal chow, we offered corn oil in a food container or drinking bottle to mice so that mice could freely access both corn oil and normal chow. Optional corn oil ingestion significantly reduced normal chow intake and total calorie intake but did not change body weight gain compared to control group. Also, optional ingestion of lard or sucrose had no effect on body weight gain. Oxygen consumption (energy expenditure) was significantly increased by lard ingestion but had no effect on motor activity. These data suggest that dietary fat ingestion does not cause obesity despite being a highly palatable and high calorie.

We next investigated the effect of corticosterone on body weight gain. Corticosterone is known as a stress hormone, which is elevated in the circulation when mice are stressed. We administered corticosterone to mice by adding corticosterone to drinking bottle to elevate corticosterone concentration in the circulation. Daily ingestion of corticosterone alone did not change body weight gain. However, corticosterone induced significant weight gain when mice were fed lard with normal chow.

In summary, our present study revealed that corticosterone dysregulated appetite causing obesity when animals are fed high-calorie food. This indicates that stress may be the factor related to hyperphagia of high-calorie food.