

<令和4年度助成>

酒に対する嗜好性の調節機構の解明と食品成分による介入法の開発

佐々木 努

(京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻 栄養化学分野)

要 旨

本研究では、過剰飲酒という社会的課題を解決するために、飲酒を調節する生体機序の解明に取り組んだ。そして、その生体機序に作用する食品成分の効果を検証するために、献上マウスで効果を検証した。さらに、アルコール関連疾患に対する同食品成分の効果を検証するために、アルコール依存症、および、アルコール性脂肪肝の新規モデルマウスの開発に取り組んだ。

その結果、酒や単純糖質を摂取することによって肝臓から分泌される線維芽細胞増殖因子 21 (Fibroblast growth factor 21 : FGF21) が、視床下部のオキシトシン (Oxytocin : OXT) 陽性神経細胞を活性化させることにより、マウスにおいて飲酒に伴う満足感を生成し、飲酒欲求と飲酒頻度を低減させることを明らかにした。また、FGF21 誘導剤として同定した希少糖 3 種類 (D- アルロース、D- タガトース、D- キシリトール) のうち、D- アルロースが最も強い飲酒抑制効果を示した。FGF21 誘導剤による飲酒抑制は、脳内報酬系を司る腹側被蓋野 (ventral tegmental area : VTA) のドーパミン (dopamine : DA) 神経の活性化を伴った。D- アルロースによる飲酒抑制効果、Oxt 神経および VTA^{DA} 神経の活性化は、OXT 神経特異的 FGF21 受容体欠損マウスでは認められなかった。つまり、FGF21-OXT-VTA^{DA} 系による飲酒のネガティブ・フィードバック制御があることを明らかにした。これらの結果は、アルコール関連疾患を患っていない健常なマウスでの結果である。

次に、FGF21-OXT-VTA^{DA} 系のアルコール関連疾患に伴う変容や、FGF21 誘導性希少糖の病態モデルに

おける効果を検証するために、アルコール依存症およびアルコール性脂肪肝の新規モデルマウスの開発を試みた。その結果、既存のモデルよりも表現型が安定しており、かつ簡便なモデル樹立プロトコルを開発することに成功した。

本研究では、これらの病態モデルに対する D- アルロースの効果の初期検討を行うことができた。その結果、アルコール依存症様の症状を抑制する効果を示しそうな知見を得られた。他方、酒量の減少と独立したアルコール性脂肪肝の抑制の有無については、明確な結論は得られず、今後の課題として残った。

研究背景

過剰飲酒は、2015 年と 2019 年の世界疾病負荷第 9 位に位置しており、社会的な負荷が大きい問題である。しかし、過剰飲酒対策となる効果的な介入手段がないという課題が存在する。嫌酒薬、減酒薬は 3 種類、計 4 剤が上市されているが、その効果は弱い。また、医薬的な介入に対する患者の遵守率は低いため、心理社会療法が第一選択となっている。過剰飲酒者は、「医薬品は、飲酒という『楽しみ』を奪い、『苦しみ (副作用)』をもたらす」と認識していることが、治療への遵守率の低さの一因でもある。もともと酒は、飲食の一部として嗜むものであり、食事との相性が良い。そこで、食品がもたらす「楽しみ」により、飲酒がもたらす「楽しみ」の一部を代替することにより、減酒を促す余地がある。しかし、飲酒に伴う満足感が生成する生体メカニズムは未解明である。

我々は、単純糖質 (単糖類・二糖類) の摂取を特

異的に調節するネガティブ・フィードバック制御系として、FGF21-OXT系を同定した (Matsui S et al., Nature Communications, 2018)。そこで、アルコールは糖の発酵産物であることに着目し、FGF21-OXT系が、単純糖質と同様にアルコールの摂取も調節する可能性を検証した。また、FGF21誘導能が高い糖を、マウス肝臓の初代培養細胞を用いて探索し、3種類のFGF21誘導性の希少糖を同定し、特許出願した (国内出願番号：特願 2021-574140、国際出願番号：PCT/JP2021/3182、国際公開番号：WO2021/153718)。

そこで本研究では、健常マウスにおいて、FGF21誘導性希少糖の飲酒抑制効果とその作用機序を検証した。また、アルコール関連疾患に対する同食品成分の効果を検証するために、アルコール依存症、および、アルコール性脂肪肝の新規モデルマウスの作成に取り組んだ。

研究 1：FGF21 誘導性希少糖の飲酒抑制効果とその作用機序の検証

野生型 C57/BL6J の雄マウスに対して、2 瓶選択試験とリック解析試験を用いて、飲酒欲求を反映する酒嗜好性に対する FGF21 誘導性希少糖の効果を検証した。また、同様の実験を、OXT 神経特異的 FGF21 受容体欠損マウスでも行った。その結果、FGF21 誘導剤として同定した希少糖 3 種類 (D- アルロース、D- タガトース、D- キシリトール) のうち、D- アルロースが最も強い飲酒抑制効果を示した。特に D- アルロースは、強制胃内投与、エサに混ぜた自発摂取、アルコール溶液に混ぜた自発飲水のいずれにおいても、2 瓶選択試験で測定した酒嗜好性を抑制した。また、8% エタノール溶液と 600 mM D- アルロース溶液の 2 瓶選択試験においても、8% エタノール溶液と水を提示した場合よりもエタノール嗜好性を低下させた。以上より、D- アルロースにはエタノー

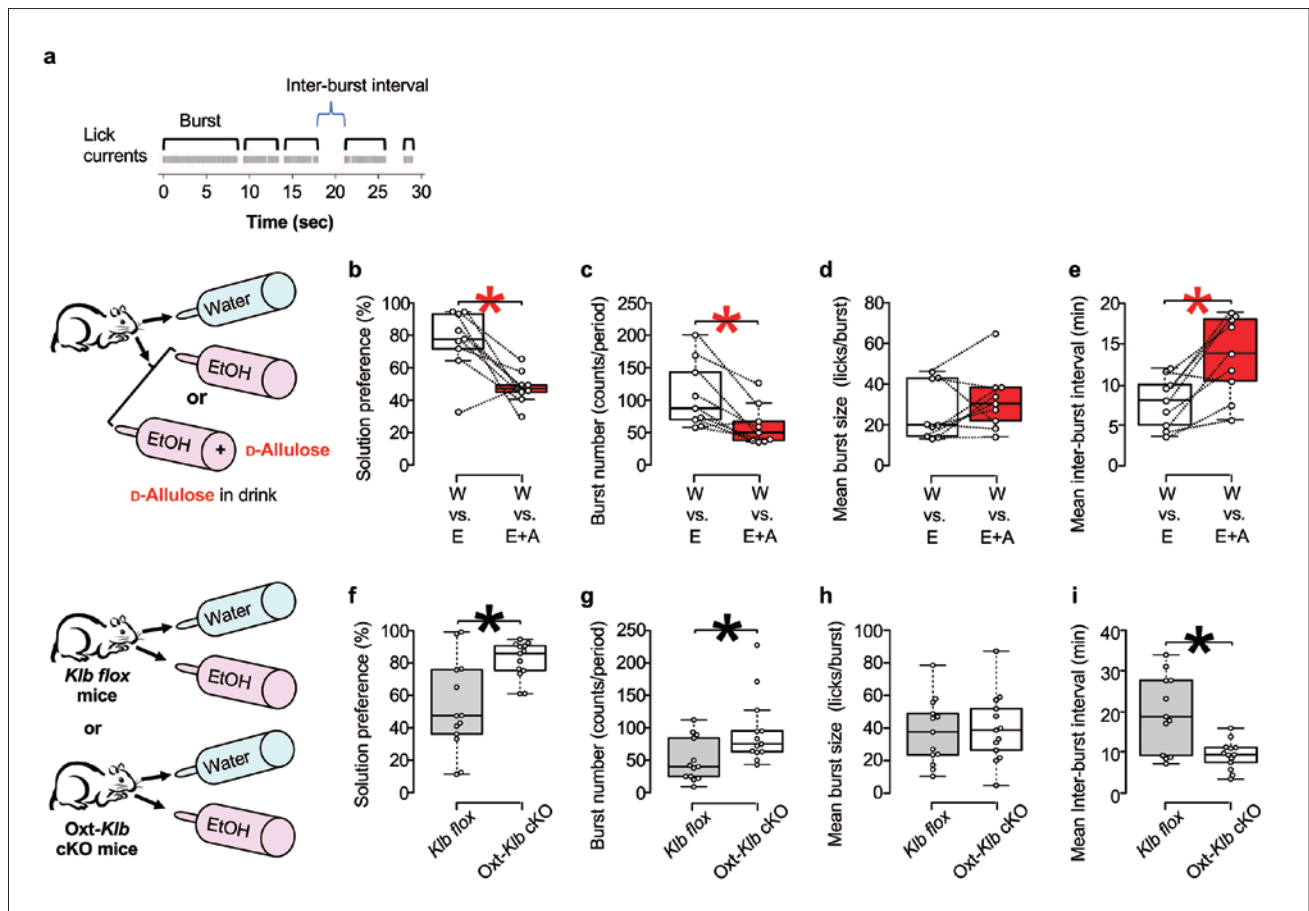


Fig. 1

ルを代替する機能があることが明らかとなった。

飲酒抑制効果の作用対象は、溶液のおいしさか飲酒欲求かを判別するために、リック解析を行った (Fig. 1a)。その結果、野生型マウスにおいては、8% エタノール溶液に D- アルロースを添加することにより、おいしさの指標は変化せず、嗜好性、欲求の指標が低減し、飲酒間隔が延びることが明らかとなった (Fig. 1b~e)。次に、2 瓶選択試験で認められた D- アルロースによるエタノール嗜好性の抑制効果とリック解析による欲求指標の抑制と飲酒間隔の延長効果を、OXT 神経特異的 FGF21 受容体欠損マウスで検証したが、認められなかった (Fig. 1f~i)。すなわち、D- アルロースによる飲酒欲求の抑制効果には、FGF21 の OXT 神経細胞に対する入力が必要であることが明らかとなった。

飲酒欲求が FGF21-OXT 系の活性と負の相関を示したため、欲求を調節する腹側被蓋野にあるドーパミン神経細胞 (VTA^{DA}) の活性と OXT 神経細胞の活性を、神経活性化マーカーである c-Fos に対する組織免疫科学的な手法を用いて評価した。その結果、エタノールや D- アルロースは、OXT 神経細胞と VTA^{DA} 神経細胞を活性化させ、D- アルロースとエタノールの混合溶液は、両者をさらに強く活性化した。OXT 神経細胞と VTA^{DA} 神経細胞の活性化の程度は、正の相関を示した。また、両者の活性化反応は、OXT 神経特異的 FGF21 受容体欠損マウスでは消失した。

以上より、酒や FGF21 誘導性希少糖の摂取に伴い、肝臓から FGF21 が分泌されると、視床下部 OXT 神経と VTA^{DA} 神経を活性化することにより、満足感

が生成され、飲酒欲求が低減し、飲酒間隔が長くなることが明らかとなった (Fig. 2s)。

研究 2: アルコール依存症、および、アルコール性脂肪肝の新規モデルマウスの開発

FGF21 誘導性希少糖による飲酒抑制効果が、アルコール依存症の状態においても有効であるのか、および、肝臓の保護効果が報告されている FGF21 を希少糖によって誘導することにより、飲酒量の低減とは独立したアルコール性脂肪肝の改善効果が認められるのかを、次に検討することをめざした。しかし、良い病態モデルマウスが無かったために、新たなモデルマウスの樹立プロトコルを独自開発した。

マウスは自発的にはアルコールを飲まないため、既存の飲酒モデルでは、流動食にアルコールを混ぜることによりマウスにエタノールを摂取させて、生体への効果を調べていた。しかし、流動食は分離したり固まったりするなど、非常に使い勝手が悪く、マウスの栄養状態の変動も大きく、モデル樹立が一定しないという難点があった。そこで我々は、寒天により流動食を固め、固形食としてマウスに与える新しいプロトコルを開発した。混ぜる寒天の量やエタノール濃度を調整し、比較的短期間 (1~2 週間程度) でアルコール依存および脂肪肝を呈するマウスを開発できる実験条件を同定した。本プロトコルでは流動食を用いたプロトコルに比べて、マウスのエサの摂取量を正確に測定できるため、アルコールを含まない餌を pair feeding させるコントロール群

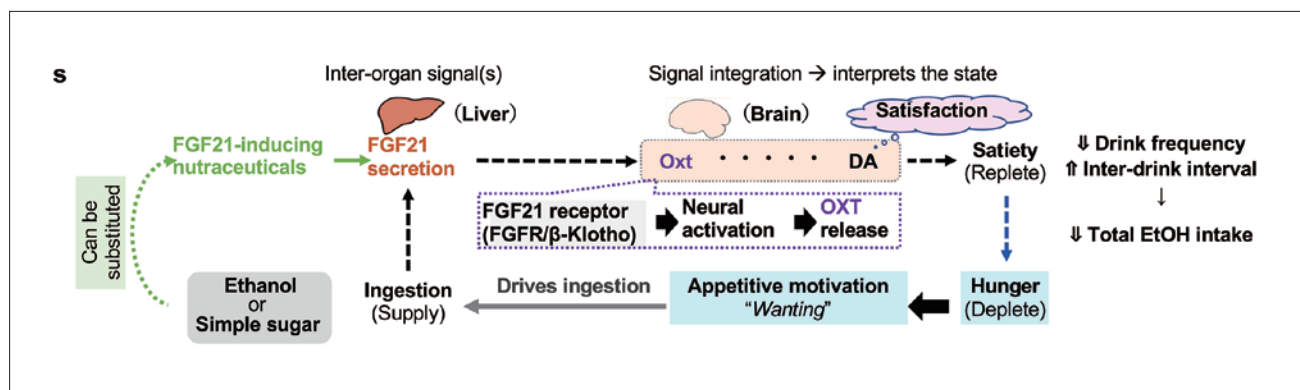


Fig. 2

の準備も容易になった。

樹立したアルコール依存症モデルマウスに対して D- アルロースを与えると、アルコール嗜好性の低減効果を示し、その効果は、D- アルロース摂取終了後も持続する可能性を示す初期データが得られた。これらのデータは、再現性を確認する必要がある。

他方、樹立したアルコール性脂肪肝モデルに対しては、飲酒欲求の抑制効果が最も強い D- アルロースの効果は比較的弱いという初期データが得られた。他方、飲酒抑制効果が次に強い D- タガトース

の方が、アルコール性脂肪肝の改善効果が D- アルロースよりも強そうであるという初期データが得られた。これらのデータもこれらのデータは、再現性を確認する必要がある。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成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を申し上げます。

Elucidation of the regulatory mechanisms for alcohol preference and development of intervention using food ingredients

Tsutomu SASAKI

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

Overdrinking is a major health burden. To address this issue, it is necessary to elucidate the regulatory mechanisms that are responsible for alcohol preference and to develop interventions that act on these mechanisms. Furthermore, appropriate animal models for alcohol-related disorders are needed to analyze the pathophysiology and test the effect of such interventions.

We previously reported that the hepatokine, FGF21 secreted upon simple sugar ingestion stimulates hypothalamic oxytocin (OXT) neurons and works as a sugar-specific negative feedback system that controls simple sugar intake. Because alcohol is a fermented product of sugar, we tested the idea that the FGF21-OXT system also regulates alcohol ingestion, and found it to be the case. Furthermore, we searched for FGF21-inducing sugars using mouse primary hepatocytes and identified three FGF21-inducing sugars (D-allulose, D-tagatose, and D-sorbitol). Among these FGF21 inducers, D-allulose was most effective in decreasing alcohol preference in mice. D-allulose reduced appetite for alcohol without affecting palatability, and also prolonged the inter-drink interval. Furthermore, both alcohol and D-allulose activated hypothalamic OXT neurons and dopamine neurons in the ventral tegmental area (VTA^{DA}), with a positive correlation between the activities of these neurons. These effects were lost in OXT neuron-specific FGF21 receptor knockout mice, suggesting that the FGF21-OXT-VTADA system regulates alcohol preference by controlling the appetite for alcohol.

We also developed new feasible protocols for preparing mice models for alcohol dependent and alcoholic fatty liver. Using these new models, we obtained preliminary data suggesting that D-allulose may be able to address alcohol dependence. However, the effect on alcoholic liver disease was mild and needs further investigation.