

肥満における生活習慣病合併の成因、
予防および治療に関する研究
—高齢者のQOL向上と医療費削減を目指して—

厚生省研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

（研究課題番号 H10-長寿-023）

平成12年3月

主任研究者 井上修二

国立健康・栄養研究所

厚生省研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

肥満における生活習慣病合併の成因、予防および治療に関する研究

—高齢者の QOL 向上と医療費削減を目指して—

主任研究者 井上修二 国立健康・栄養研究所

研究要旨 過去3年間で、肥満と4つの生活習慣病の因果関係につき、肥満からの糖尿病発症メカニズムには①インスリンレジスタンスと②インスリン分泌不全の二つの発症型式があることを *in vivo* と *in vitro* の成績で確立し、さらに、本糖尿病モデルのインスリン抵抗の主部位は脂肪組織であること、高中性脂肪血症発症メカニズムには①高インスリン血症によって肝中性脂肪分泌、末梢中性脂肪取り込み能力とも亢進しているのに脂肪組織の中性脂肪取り込み能力の限界によるというメカニズムに加えて、②体脂肪量増大による遊離脂肪酸の肝での再エステル化亢進、microsomal triglyceride transfer protein (MTP) 活性上昇による肝の中性脂肪分泌亢進、③肝の中性脂肪分泌亢進とインスリンレジスタンスによる末梢組織での中性脂肪取り込み能力の低下の両者による顕著な高中性脂肪血症などの発症形式があること、脂肪肝発症メカニズムには①肝脂肪合成酵素活性による肝内脂肪合成亢進、②肝内での血中遊離脂肪酸再エステル化亢進及び③両者による発症型式があること、高血圧メカニズムには①循環血流量の増大、②交感神経緊張亢進による発症形式があること、③臨床的にインスリン抵抗性症候群あるいは Syndrome X といわれる病態と一致する病態を人為的に作成しうることなど、夫々の生活習慣病の発症形式に heterogeneity の存在を実証することができた。肥満の高脂血症の治療メカニズムにも発症と同じく、heterogeneity があることを認めた。肥満には消費エネルギーの低下を招く病態や糖尿病になると抗酸化作用が弱くなり、糖尿病合併症進展を助長する病態が加わること、熱産生と熱放散が末梢及び中枢で独立のメカニズムで消費エネルギーを増加させるカプサイシンのメカニズムやリパーゼ阻害などの消化吸収阻害作用メカニズムを利用した肥満治療に補助的に使用しうる物質、膵β細胞増殖による糖尿病治療薬の開発につながる物質などの探求とそのメカニズムの解明が今後の課題であることを指摘した。

A. 研究目的

高齢者の寿命を縮め、QOL (Quality of Life) を低下させる主な原因は生活習慣病（成人病）の合併である。代表的な生活習慣病である糖尿病、高血圧、高脂血症などによる心筋梗塞、脳動脈硬化症、糖尿病性腎症などによる腎不全などは寿命を縮めるだけでなく、QOL の低下を招く。糖尿病網

膜症による視力障害も高齢者の QOL の低下を招く病態である。生活習慣病の増加とともに、進行したこのような病態の増加は、医療費増大の大きな原因になっている。このような代表的な生活習慣病発症の 3~6 割は肥満が誘因となっていることが疫学的にも認められているので、肥満からのこれらの疾患の成因（メカニズム）を明らかに

することは学問的な課題であるだけでなく、生活習慣病の予防対策上も重要な課題である。また肥満に伴う脂肪肝も過度のアルコール飲酒や肝炎ウイルス感染によって肝硬変に進行しやすい病態としてその対策が必要な疾患である。肥満から発症した生活習慣病については、肥満が併存する初期の段階では減量できない場合でも、肥満に伴うインスリン抵抗性を改善すると病態は正常化したり軽症化することが分かっている。肥満に対する治療法の差異により病態の改善に血中の代謝変動のみでなく、肝、脂肪、筋肉組織など組織レベルの変動を含めてどのような差異が生じるのかという問題も、学問的課題だけではなく、治療対策上も重要な課題と考えられる。

本研究は、肥満の基本的なモデル、①視床下部性肥満、②遺伝性肥満(Zucker fatty rat)と③食餌性肥満(高脂肪食、高蔗糖食、両者混合食)を使用し、遺伝的背景の有無と環境(食事、運動)の相互関係にもとづいた肥満からの糖尿病、高脂血症、高血圧、脂肪肝などの生活習慣病合併の発症メカニズムとその予防および治療における病態の変動を検討することが目的である。

本年度は、肥満からの生活習慣病の発症メカニズムにつき、引きつづき検討を行うとともに治療に結びつけるべき肥満及び肥満に伴う病態とその治療メカニズムにつき検討した。

B. 研究方法

(1) 肥満と糖尿病：1) 約 10 週令の SD 雌ラットを使用し、VMH 破壊高脂肪食飼育視床下部性肥満ラット(インスリンレジスタンス糖尿病発症)、少量ストレプトゾトシン投与 VMH 破壊高脂肪食飼育視床下部性

肥満ラット(インスリン分泌不全糖尿病発症)を作成し、両糖尿病モデルの糖尿病発症時点で parametrium、omentum(内臓脂肪)、subcutaneous の脂肪組織の peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) の蛋白量を測定した。

2) 40%膵部分摘除ラットに VMH 破壊を施行し、2週間後、頸静脈カニュレを設置、アルギニン注入負荷時の血中グルカゴンの測定、膵組織の PCNA 染色による増殖像の検討、又、膵ラ氏島については PCNA とインスリン、グリカゴン、ソマトスタチン抗体の二重染色を施行し、ラ氏島内の増殖細胞の同定を行った。3) 既知の growth factor、growth factor 作用を有する peptide の 37 種類のプライマーを作成し、VMH 破壊ラットの胃、膵、肝、小腸におけるこれら増殖寄与候補の遺伝子発現を RT-PCR 法で検討した。4) 遺伝性肥満糖尿病モデル OLETF ラットと LETO(対照)ラット及び Wistar fatty ラットと対照ラットに、a) 頸静脈カニュレを設置、無麻酔、無拘束下で経口ブドウ糖負荷試験を行い、血糖、血中インスリンの測定、b) 脂肪、筋組織の GLUT 4 Glycogen synthase、肝組織の PEPCK の遺伝子発現の測定を行った。

(2) 肥満と高脂血症：14 週令 Zucker fatty 肥満ラットと対照ラットを使用して、血中脂質、血中インスリン、TGSR、ヘパリン静注後のリポ蛋白リパーゼ(LPL)を測定し、Zucker fatty 肥満ラットの高中性脂肪血症のメカニズムを検討した。

(3) 肥満と高血圧：14 週令の Zucker fatty 肥満ラットを高脂肪食で飼育し、動脈カニュレによる血圧測定、血中レニン、アルドステロン、血中電解質、循環血液量

の測定を行った。

(4) 肥満及び肥満に伴う病態と治療メカニズム：1) 齧歯類において褐色脂肪組織(BAT)は熱産生の主要臓器である。脱共役タンパク質(UCP1)はBATにのみ存在し、ミトコンドリアでの酸化リン酸化を脱共役することで熱としてエネルギーを消費させる分子で、UCP1とホモロジーの高いUCP2と3も代謝的熱産生に強く関与しうることから肥満との関係について非常に注目されている。そこで視床下部腹内側核破壊肥満ラット(VMH)におけるBATでのUCPの遺伝子発現に対する摂食と絶食の影響を検討する目的で、VMH破壊ラットと対照ラットを自由摂食または48時間絶食させ、BATを摘出し全RNAおよびタンパク質を調製した。血中インスリン、レプチン、遊離脂肪酸の測定とUCP遺伝子発現を検討した。さらにペルオキシソーム増殖剤活性化剤受容体PPAR γ mRNAとタンパク質の含有量を測定した。2) 糖尿病ではアスコルビン酸(AA)が減少し、活性酸素代謝のホメオスタシスが乱れ、これが合併症の一因となる可能性が示唆されている。今回、正常およびGoto-Kakizaki(GK)糖尿病モデル動物におけるAAの還元酵素素能を解析した。3) 軸索損傷後の神経再生過程が、糖尿病に伴い低下することが報告されているが、*in vitro*での研究報告は少ない。本研究では、神経組織のコラーゲンゲル培養法を適用し、摘出網膜組織、迷走(NG)ならびに脊髄神経線維束(DRG)切断端からの神経突起再生について糖尿病マウスと対照マウスで比較検討した。4) リパーゼ阻害作用のあるカワラケツメイ抽出物(CT-II)を高脂肪食飼育開始時及び肥満確立期に、食餌中に0~3.5%

混合して投与し、体重、血中脂質、血清AST、ALT及び肝組織像を検討した。

C. 研究結果

(1) 肥満と糖尿病：1) PPAR γ の活性はVMH破壊高脂肪食飼育群、ストレプトゾトシン処置VMH破壊高脂肪食飼育群とも内臓脂肪組織のomentumにおいては対照群と差がなかったが、皮下脂肪組織においてはストレプトゾトシン処置VMH破壊高脂肪食飼育群では低下傾向を示し、VMH破壊高脂肪食飼育群では顕著な低下を示した。2) 40%腭摘VMH破壊ラットは、アルギニン負荷によるグルカゴン分泌は対照ラットと差を認めなかった。PCNA法では腭の外分泌細胞、内分泌細胞(ラ氏島細胞)とも増殖を示し、ラ氏島の二重染色では、PCNAとインスリン抗体のみが陽性染色を示した。3) PCR法によるgrowth factorの検出では、胃におけるtrefoil peptideの約20倍の発現をみた他に、小腸の増殖に関与しているとされるシクロオキシゲナーゼの遺伝子発現の増加を認めた。4) OLETFラットでは糖尿病発症後、体重は減少し、ブドウ糖に対するインスリン分泌反応は低値を示したが、Wistar fattyラットでは発症後も体重は増加し、インスリン分泌反応は高値を示した。*in vitro*のデータは分析中である。

(2) 肥満と高脂血症：Zucker fatty肥満ラットは対照ラットの約28倍の著明な血中中性脂肪の高値を示し、TGSRは約3倍と高値で、LDLは約1/4の低値を示した。

(3) 肥満と高血圧：普通食飼育Zucker fatty肥満ラットでは、血圧の軽度の上昇、循環血流量の増加が認められたが、高脂肪食で飼育すると血圧はさらに高値になった。高脂肪食飼育では耐糖能は糖尿病型に悪化

し、インスリン分泌も上昇した。高脂血症も悪化したことより、臨床的にみられるインスリン症候群あるいは Syndrome X の病態と一致する。

(4) 肥満及び肥満に伴う治療メカニズム：1) 自由摂食の対照ラットと VMH 破壊ラットの BAT1, 2, 3 UCP 遺伝子の発現に差はなかった。絶食状態の対照ラットでは BAT UCP1 遺伝子発現のみが減少したが、VMH 破壊ラットでは UCP1, 2, 3 遺伝子の発現はいずれも増加した。さらに絶食時、PPAR γ の mRNA とタンパク量は対照ラットでは変化がなかったのに VMH 破壊ラットでは著明な上昇を示した。2) 遺伝的 II 型糖尿病動物 GK rat (15 週令) の血中と肝の AA 濃度はコントロール群より低下していた。しかし、脳内の AA レベルは対照群と差がなかった。肝及び脳の AA 還元再生酵素の活性は NADPH をコファクターとする肝の酵素群の活性は低下していたが、GSH をコファクターとする酵素群の活性や脳の還元酵素活性は対照群と差がみられなかった。AA 還元再生酵素の発現では、NADPH をコファクターとする還元酵素である 3- α -hydroxysteroid dehydrogenase の肝での発現が抑制されていた。その他の 5 種類の還元酵素の発現は、対照群とほぼ等しかった。3) 通常グルコース濃度下では、網膜組織片からの再生突起数は、糖尿病群の方が対照群に比べ有意に少なかった。それに対し、NG、DRG 軸索切断端からの再生突起数は、糖尿病群の方が対照群に比べ有意に多かった。また、対照群では培養液中の高グルコース負荷により、各神経組織からの再生突起数の有意な減少がみられたが、糖尿病群では明らかな影響がみられなかった。4) CT-II は投与量依存

的に高脂肪食飼育ラットの体重増加を抑制し、肥満確立後ラットの体重を減少させた。又、肥満確立後ラットの血中中性脂肪の低下、AST と ALT の低下と脂肪肝組織の改善をもたらした。

D. 考察

(1) 肥満と糖尿病：1) 昨年度までの *in vivo* の成績、糖負荷試験における血中インスリン分泌及び遊離脂肪酸動態、SSPG 法によるインスリン感受性所見、*in vitro* の筋、脂肪組織の GLUT4、肝の PEPCK の所見から VMH 破壊高脂肪食飼育視床下部肥満ラットはインスリンレジスタンス、少量ストレプトゾトシン処置 VMH 破壊高脂肪食飼育ラットはインスリン分泌不全と肥満からの糖尿病発症には二つの発症形式があることを明らかにすることができ、両者を肥満糖尿病モデル動物として確立することが出来た。肥満におけるインスリンのレセプター結合以後の異常を招く因子として血中遊離脂肪酸、TNF- α 、PPAR γ があげられ、前二者は筋肉組織、後者は脂肪組織でグルコース取り込みに影響を与えるものと推測されている。本研究の PPAR γ の成績からは、この肥満糖尿病モデルのインスリンレジスタンスには脂肪組織が主として関与していることが示唆された。2) 40% 腭摘 VMH 破壊ラットのグルカゴン分泌の所見と β 細胞のみが二重染色されるという所見は、VMH 破壊は 40% 腭摘ラットの膵内分泌機能を再生させることができることを明らかにした。その上、インスリン分泌細胞だけを再生させたことは、この現象に関与する growth factor を見出せば、糖尿病治療薬の開発に結びつく可能性を示唆するものである。3) VMH 破壊による腹部臓器細胞増殖に関与する可能

性のある growth factor を二因子見出した。従って、現時点では VMH 破壊による臓器細胞増殖には臓器ごとに異なる growth factor が関与していることが示唆されたことになる。しかし、未知の因子の関与の可能性も強く、今後のこれらの因子を含めてさらに研究を進める予定である。

(2) 肥満と高脂血症：本年までの研究で高中性脂肪血症の成因として、VMH 破壊肥満ラットでは血中への中性脂肪分泌も血中からの中性脂肪異化も亢進しているが、脂肪組織の中性脂肪取り込み能力限界によることが主因であること、中性脂肪促進には MTP 活性の上昇が寄与していること、インスリンレジスタンスがあらわれる慢性期では脂肪量増大とインスリン抵抗による血中遊離脂肪酸放出促進とその肝での再エステル化促進及び MTP 活性の上昇が関与していることを明らかにしてきた。本年の研究では Zucker fatty ラットの高中性脂肪血症は中性脂肪分泌の亢進と、インスリンレジスタンスのために LPL 活性が低下する中性脂肪異化低下の二因子が主因であることを明らかにすることができた。

(3) 肥満と高血圧：昨年の研究で Zucker fatty 肥満ラットは循環血液量増加及び軽度交感神経活動上昇を伴う軽度血圧上昇を認めた。本年は Zucker fatty 肥満ラットを高脂肪食飼育することで臨床的に観察されているインスリン抵抗性症候群と同じ病態を作成しうる可能性を示すことができた。さらに、この現象に交感神経活動が関与しているのかを検討を進める予定である。

(4) 肥満及び肥満に伴う病態と治療メカニズム：1) 自由摂食時に VMH 破壊ラットの BAT で UCP1, 2, 3 の発現に変化が見られな

かったことから、VMH 破壊ラットでは過食による食餌性熱産生が誘導されず、エネルギー摂取が熱産生による消費エネルギーよりも上回っているものと推定される。この現象がこの肥満の原因の一因子として寄与している可能性がある。また UCP 遺伝子の発現を調節すると考えられている PPAR γ が絶食時における VMH 破壊ラットの BAT で上昇していたことから、VMH のこれら UCP 遺伝子発現増加に PPAR γ が関与していることが示唆された。2) type II 糖尿病 GK ラットにおいては 3- α -hydroxy steroid dehydrogenase を介した AA 還元再生酵素の活性が低下し、これによる還元再生能の乱れが本病態における AA 低下と活性酸素障害増強に関与していることが示唆された。この AA の低下が過酸化脂質の過剰産生を誘導し、糖尿病合併症の進展に関与している可能性が考えられる。3) 網膜（中枢神経）の神経再生能は糖尿病により低下し、迷走ならびに脊髄神経求心性線維（末梢神経）の再生能は逆に亢進することが示された。また in vitro での高グルコース負荷によって、正常マウス各神経組織からの突起再生は明らかに抑制される糖尿病マウスでは明らかな抑制を受けないことが示された。この結果から、生体内で高血糖状態に順応した糖尿病の神経組織が、培養下での高グルコース環境下にも順応して突起再生能を維持している可能性が示唆された。4) カワラケツメイのリパーゼ阻害作用含有抽出物は動物実験では脂肪吸収を阻害することにより肥満の予防あるいは治療に奏効する可能性が示唆された。しかし、この結果は短期的実験によるものであり、臨床的には食事療法の補助的利用には有効である可能

性を示唆していると理解すべきものである。

E. 結論

肥満と4つの生活習慣病の因果関係につき、肥満からの糖尿病発症メカニズムにはインスリンレジスタンスとインスリン分泌不全の二つの発症型式があること、高中性脂肪血症発症メカニズムには高インスリン血症によって肝中性脂肪分泌、末梢中枢脂肪取り込み能力とも亢進しているのに脂肪組織の中性脂肪取り込み能力の限界によるメカニズムに加えて、体脂肪量増大による遊離脂肪酸の肝での再エステル化亢進、MTP活性上昇による肝中性脂肪分泌亢進、又、中性脂肪分泌亢進とインスリンレジスタンスによる末梢組織での中性脂肪取り込み能力の低下の両因子の寄与などの発症型式があること、脂肪肝発症メカニズムについては脂肪合成酵素活性による肝内脂肪合成亢進、血中遊離脂肪酸再エステル化亢進及び両者による発症型式があること、高血圧発症メカニズムには循環血流量増大や交感神経活動上昇などの発症型式があることなど、夫々生活習慣病の発症型式に heterogeneity の存在を実証した。

F. 研究発表

1 論文発表

(a) 著書

1. Inoue S.: Animal models of obesity: hypothalamic lesions. :Progress in Obesity Research 8, Guy-Grand, B., Ricquier, D, Ailhaud, H, (eds.) John Libbey, London, 1999: 358-364

(b) 原著

1. Kobayashi A., Osaka T., Namba Y., Inoue S., Kimura S.: CGRP microinjection into the ventromedial or

dorsomedial hypothalamic nucleus activates heat production. Brain Res., 1999: 827: 176-184

2. Kobayashi S., Osaka T., Namba Y., Inoue S., Kimura S.: Involvement of sympathetic activation and brown adipose tissue in calcitonin gene-related peptide-induced heat production in the rat. Brain Res., 1999: 849: 196-202
3. Suga A., Hirano T., Inoue S., Tsuji M., Osaka T., Namba Y., Miura M., Adachi M.: Plasma leptin levels and triglyceride secretion rate in VMH-lesioned obese rats: a role of adiposity. Am. J. Physiol., 1999: 276: E650-E657
4. Suga A., Hirano T., Kashiba M., Oka J., Osaka T., Namba Y., Tsuji M., Miura M., Adachi M., Inoue S.: Rapid increase in circulating leptin in ventromedial hypothalamus-lesioned rats: role of hyperinsulinemia and implication for upregulation mechanism. Diabetes, 1999: 48: 2034-2038
5. Takano M., Sango K., Horie H., Sato M., Iijima Y., Ohno Y., Inoue S., Ishikawa I.: Diabetes alters neurite regeneration from mouse retinal explants in culture. Neurosci. Lett., 1999: 275: 175-178
6. Sango K., Horie H., Inoue S.: Administration of an aldose reductase inhibitor, ONO-2235, to streptozotocin-diabetic mice restores reductions of DRG neural attachment in extracellular matrix in vitro. Neurosci. Lett., 1999: 263: 157-160
7. Saito H., Sango K., Horie H., Ikeda H., Ishigatsubo H., Ishikawa Y., Inoue S.: Enhanced neural regeneration from transected vagus nerve

- terminals in diabetic mice in vitro. *NeuroReport*, 1999; 10: 1025-1028
8. Nara, M., Kanda, T., Tsukui, S., Inukai, T., Simomura, Y., Inoue S., Kobayashi, I. : Running exercise increases tumor necrosis factor- α secreting from mesenteric fat in insulin-resistant rats. *Life Sci.*, 1999 : 65 : 237-244
 9. Nara, M., Kanda, T., Tsukui, S., Inukai, T., Umeda, T., Inoue S., Kobayashi, I. : Reduction of leptin precedes fat loss from running exercise in insulin-resistant rats. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 1999 : 107:431-434
 10. Ishikawa K., Ohta T., Hirano M., Yoshimoto K., Tanaka S., Inoue S. : Relation of lifestyle factors to metacarpal bone mineral density was different depending on menstrual condition and years since menopause in Japanese women *Eur. J. Clin. Nutr.* 2000 : 54 : 9-13
 11. Suga A., Hirano T., Kageyama H., Osaka T., Namba Y., Tsuji M., Miura M., Adachi M., Inoue S. : Effect of fructose and glucose on leptin, insulin and insulin resistance in lean and VMH-lesioned obese rats. *Am. J. physiol.*, (in press)
 12. Yamazaki Y., Osaka T., Murayama T., Inoue S. : JJT-501, a new oral hypoglycemic agent, reverses hypertriglyceridemia in Zucker fatty and ventromedial hypothalamic-lesioned rats. *Metabolism*, (in press)
 13. Yamamoto M., Shimura S., Itoh Y., Osaka, T., Egawa M., Inoue S., : Effects of lipase inhibitor (CT-II), an extract from edible herbs, on rats fed a high-fat diet. *Int. J. Obes.*, (in press)
- (c) 総説
1. 学会発表
 - (a) 国際学会発表
 1. Plenary lecture
 1. Inoue S. : Pathogenesis and pathophysiology of ventromedial hypothalamic obesity. The 4th Latin American Congress on Obesity 1999, Sept. 10, Buenos Aires, Argentine
 2. Inoue S. : The pathogenesis and pathophysiology of ventromedial hypothalamic obesity. Luncheon Seminar, The 1st International Forum on Progressive Endocrinology, 2000, Feb.12, Kobe, Japan
 3. Inoue S. : Obesity and lifestyle-related diseases-Basic and clinical approaches, 2000 Annual Meeting of Korean Society for the study of obesity, 2000, Apr. 15, Seoul, Korea
 2. Symposium
 1. Inoue S. : Obesity and lifestyle-related diseases, Symposium 'Risk factors and preventive strategies' 3rd Scientific meetings of Malaysian Association for the Study of Obesity, 1999, Jun 28, Kuala Lumpur, Malaysia
 2. Inoue S. : Pathogenesis and pathophysiology of ventromedial hypothalamic obesity in rats. Symposium 'Animal models' George A. Bray's Memorial International Conference, 1999, Nov 14, Charleston, USA
 3. Free Communications

1. Inayama T., Kashiba M., Oka J., Higushi M., Umegaki K., Inoue S., Kobayashi S., Yamamoto Y., Kubo H., Saito M., Kumagai Y., Matsuda M.: Exercise induced plasma albumin-s-cysteine formation in humans, 8th Asian Congress of Nutrition, 1999, 8, 31, Seoul, Korea
 2. Inoue S : Obesity and its related diseases (lifestyle-related diseases) 1999 Annual Meeting of Australian Association for the Study of Obesity, 1999, Aug. 21, Sydney, Australia
- (b) 国内学会発表
1. 特別講演
 1. 井上修二 : 視床下部性肥満の成因と病態 (会長講演). 第 20 回日本肥満学会, 1999. 10. 14, 東京
 2. シンポジウム, ワークショップ
 1. 大坂寿雅, Tai Hee Lee, 小林章子, 井上修二, 木村修一: カブサイシンとエネルギー代謝. 第 20 回日本肥満学会ワークショップ「肥満とエネルギー代謝」, 1999. 10. 14, 東京
 2. 小林章子, 大坂寿雅, 井上修二, 木村修一: グルコースの静脈内投与による熱産生機構. 第 20 回日本肥満学会ミニシンポジウム「熱産生」, 1999. 10. 14, 東京
 3. 須賀麻子, 平野勉, 影山晴秋, 加柴美里, 岡純, 大坂寿雅, 三浦雅一, 辻正富, 足立満, 井上修二: VMH 破壊ラットにおける早期レプチン上昇のメカニズム: インスリンの影響とフィードバック機構の存在. 第 20 回日本肥満学会ミニシンポジウム「レプチン」, 1999. 10. 14, 東京
 4. 井上修二 : BMI と疾患. 第 20 回日本肥満学会シンポジウム「肥満症と生活習慣病—診断と治療の指針」, 1999. 10. 14, 東京
 3. 一般口演, ポスターセッション等
 1. 岡根菜生子, 大坂寿雅, 小林章子, 李泰熙, 井上修二, 木村修一: レシニフェラトキシンによる熱産生. 第 76 回日本生理学会大会, 1999. 3. 28, 長崎
 2. 影山晴秋, 須賀麻子, 加柴美里, 平野勉, 岡純, 大坂寿雅, 辻正富, 井上修二: ストレプトゾトシン糖尿病ラットにおける脱共役タンパク質 (UCP) 遺伝子の発現. 第 42 回日本糖尿病学会総会, 1999. 5. 13, 横浜
 3. 須賀麻子, 平野勉, 影山晴秋, 加柴美里, 岡純, 大坂寿雅, 三浦雅一, 辻正富, 井上修二: VMH 破壊ラットでは脂肪増生なしに早期にレプチンが増加する. 第 42 回日本糖尿病学会総会, 1999. 5. 14, 横浜
 4. 大坂寿雅, 小林章子, 井上修二, 木村修一: 麻酔ラットにおいて糖の腸内注入によって誘起される熱産生への自律神経系の関与. 第 22 回日本神経科学会, 1999. 7. 7, 大阪
 5. 小林章子, 大坂寿雅, 井上修二, 木村修一: 静脈内グルコース投与による熱産生における自律神経の非関与. 第 22 回日本神経科学会, 1999. 7. 7, 大阪
 6. 加柴美里, 岡純, 市川留美, 須賀麻子, 影山晴秋, 稲山貴代, 錦見盛光, 石川孝博, 井上正康, 井上修二: 糖尿病病態におけるアスコルビン酸還元再生酵素群と酸化ストレス. 日本生化学会第 72 回大会, 1999. 10. 9, 東京
 7. 山崎百合子, 大坂寿雅, 村上透, 井上修二: 視床下部性肥満ラットにおけるインスリン抵抗性改善薬 JTT-501 の効果. 第 20 回日本肥満学会, 1999. 10. 14, 東京
 8. 影山晴秋, 須賀麻子, 平野勉, 岡純, 大坂寿雅, 三浦雅一, 井上修二: 視床下部腹内側核破壊肥満ラットにおける脱共役タンパク質遺伝子の発現様式. 第 20 回日本肥満学会, 1999. 10. 14, 東京
 9. 市川留美, 加柴美里, 岡純, 影山晴秋, 須賀麻子, 井上修二: 糖尿病病態におけるアスコルビン酸還元再生酵素群と酸化ストレス. 第 20 回日本肥満学会,

1999. 10. 14, 東京
10. 加柴美里, 岡純, 影山晴秋, 須賀麻子, 大坂寿雅, 井上正康, 井上修二: 肥満病態における抗酸化分子群の変動. 第20回日本肥満学会, 1999. 10. 14, 東京
11. Xue C. Y., Kageyama H., Kashiba M., Kobayashi A., Osaka T., Namba Y., Inoue S. : Different origin of hypertriglyceridemia induced by a high-fat and a high-sucrosediet in [協力研究員]
- ventromedial hypothalamic-lesioned obese and normal rats. 第20回日本肥満学会, 1999. 10. 15, 東京
12. 加柴美里, 岡純, 笠原恵美子, 市川留美, 井上正康, 井上修二: グルタチオン代謝病態とアスコルビン酸還元酵素動態, 日本過酸化脂質・フリーラジカル学会第23回大会, 1999. 11. 25, 東京

岡 純 (国立健康・栄養研究所 老人健康・栄養部 室長)

仙波 恵美子 (和歌山県立医科大学 第2解剖学教授)

遠藤 泰久 (京都工芸繊維大学 解剖学教授)

富田 多嘉子 (静岡県立大学 生活健康科学教授)

柳田 晃良 (佐賀大学 農学部応用生物科学教授)

河田 昭雄 (京都大学 農学部食品工学助教授)

米田 喜重郎 (東京医科大学 実験動物実験センター助教授)

小林 功 (群馬大学 臨床検査医学教授)

G. 知的取得状況
特になし

厚生省研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

肥満における生活習慣病合併の成因、予防および治療に関する研究

－高齢者の QOL 向上と医療費削減を目指して－

分担研究者 大坂寿雅 国立健康・栄養研究所 主任研究官

研究要旨 食物成分であるブドウ糖・果糖・アミノ酸・食塩などを腸内及び静脈内に投与するとエネルギー消費が亢進した。この反応は栄養素の種類によらず溶液の浸透圧の大きさに依存していた。食事誘導性熱産生機構には浸透圧受容が重要な役割を果たしている。

A. 研究目的

これまでに食物成分であるトウガラシの辛み物質カプサイシンを皮下投与して誘起される熱産生に関して、脳及び末梢神経機構を研究し、脳においては延髄腹外側部が不可欠であり、交感神経系及び副腎髄質が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。さらに食物成分によるエネルギー代謝促進機構の解明をめざして、十二指腸および静脈内に各種栄養素溶液を麻酔動物に注入したときの熱産生反応を調べた。また、この反応に関与する自律神経機構およびインスリンの関与について明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

一晩絶食後にウレタン麻酔したウイスター系ラットの腹部を正中切開し、前胃に開けた小孔からカニューレを十二指腸に挿入して留置した。5-20%ブドウ糖、0.9-3.6%食塩水、20%メチルブドウ糖、20%果糖、7.2%尿素、5-10%のグリシン、アルギ

ニン、スレオニン、セリン溶液を10 ml/kg, 10分間で投与した。呼気ガス分析により熱産生量と呼吸商を、深部体温の代表として結腸温度を測定した。また、静脈内投与によって誘起される熱産生の研究にも、ウレタン麻酔ラットを用いて、溶液投与前後の酸素消費量を測定した。ブドウ糖溶液（1g/kg）は、大腿静脈に挿入したカニューレから5分間で注入した。対照実験としてブドウ糖と同浸透圧の溶液（NaCl、マンニトール、尿素）を投与した。ブドウ糖による熱産生機構で自律神経系の関与は節遮断薬のヘキサメソニウム、 β 受容体遮断薬のプロプラノロールの効果を調べた。インスリンの関与は、抗インスリン血清を前処置したときの効果を調べた。溶液の投与後5および20分で頸静脈から採血し、血漿浸透圧を測定した。

動物の取り扱いについては本研究所の動物実験指針及び動物室使用内規に基づいて行い、ラットに無用な苦痛を与えない

ように注意した。

C. 研究結果

ブドウ糖や果糖の溶液を腸内注入すると呼吸商の上昇を伴って熱産生量が増加した。この反応は投与後約1時間でピークになり、3時間でも元のレベルより高いままであった。結腸温は約0.5度上昇した。この反応によって投与した糖のエネルギー量の9-16%が消費された。しかしながら、栄養素でない食塩水やメチルブドウ糖溶液の投与によっても熱産生量が増加した。このとき呼吸商は変化しなかった。アミノ酸溶液の投与によっても熱産生量が増えたが、この反応は投与したアミノ酸の分子数に比例しており、投与したアミノ酸の重量とは相関しなかった。尿素溶液の投与では熱産生は少なかった。なお、腸内投与したと同量の食塩を30分間かけて大腿静脈や肝門脈内に投与すると、投与後に一時的な熱産生反応が起きたが、その大きさは腸内投与に比べて有意に小さかった。

ブドウ糖溶液の静脈内投与により酸素消費量が増加し、5-7分で最大になったのち40分以内にもとのレベルにもどった。プロプラノロールやヘキサメソニウムの前処置は、ブドウ糖による熱産生に影響しなかった。抗インスリン血清の前投与により熱産生が増強した。マンニトールおよびNaCl溶液の投与もブドウ糖と同程度に酸素消費量が増加したが、尿素溶液は他の物

消費量が増加したが、尿素溶液は他の物質に比べて反応が小さかった。溶液投与後の血漿浸透圧は、10ミリオスモル以内の変化だった。

D. 考察

腸内および静脈内に各種栄養素を投与したときの熱産生反応は、ブドウ糖以外にNaClやマンニトール溶液の投与でも酸素消費量が同程度に増加し、浸透圧コントロールに用いた尿素で反応が小さかったことから、血漿浸透圧の増加により熱産生が促進することがわかった。静脈内投与に比べて腸内投与の場合の熱産生反応が大きかったことから、浸透圧受容部位の少なくとも一部は腸内にあると考えられる。

血漿浸透圧の変化の大きさは、摂食後にみられる上昇と同程度であったので、本実験条件での浸透圧刺激は生理的な範囲である。また、プロプラノロール・ヘキサメソニウム・抗インスリン血清の前処置はブドウ糖投与後の熱産生に影響しなかったため、この反応には自律神経系やインスリンは関与していない。

E. 結論

食物成分を腸内及び静脈内に投与するとエネルギー消費が亢進した。この反応は非栄養素の注入によっても誘起され、反応の大きさは溶液の浸透圧の大きさに依存していた。細胞膜を比較的自由に通過する

ために生体にとっては有効な浸透圧刺激になりにくい尿素溶液の注入では反応は一時的で小さかった。したがって、食事誘導性熱産生機構には栄養素に特異的な機構以外に浸透圧受容が重要な役割を果たしている。

F. 研究発表

原著論文

1. Kobayashi, A., Osaka, T., Namba, Y., Inoue, S., Kimura, S.: CGRP micro-injection into the ventromedial or dorsomedial hypothalamic nucleus activates heat production. *Brain Res*, 1999, 827, 176-184,
2. Kobayashi, A., Osaka, T., Namba, Y., Inoue, S., and Kimura, S.: Involvement of sympathetic activation and brown adipose tissue in calcitonin gene-related peptide-induced heat production in the rat. *Brain Res*, 1999, 849, 196-202,
3. Suga, A., Hirano, T., Inoue, S., Tsuji, M., Osaka, T., Namba, Y., Miura, M., Adachi, M.: Plasma leptin levels and triglyceride secretion rates in VMH-lesioned obese rats: a role of adiposity. *Am J Physiol*, 1999, 276, 1, E650-657
4. Suga, A., Hirano, T., Kashiba, M., Oka, J., Osaka, T., Namba, Y., Tsuji, M., Mura, M., Adachi, M., Inoue, S.: Rapid increase in circulating leptin in ventromedial hypothalamus-lesioned rats: role of hyperinsulinemia and implication for upregulation mechanism. *Diabetes*, 1999, 48, 2034-2038
5. Suga, A., Hirano, T., Kageyama, H., Osaka, T., Namba, Y., Tsuji, M., Miura, M., Adachi, M., Inoue, S.: Effects of dietary fructose and glucose on plasma leptin, insulin and insulin resistance in lean and VMH-lesioned obese rats. *Am J Physiol*, in press
6. Yamazaki Y., Osaka, T., Murayama, T., Inoue, S.: JJT-501, a new oral hypoglycemic agent, reverses hypertriglyceridemia in Zucker fatty and

ventromedial hypothalamic-lesioned rats. *Metabolism*, in press

シンポジウム等

1. 大坂寿雅, Tai Hee Lee, 小林章子, 井上修二, 木村修一, カプサイシンとエネルギー代謝, 第 20 回 日本肥満学会ワークショップ「肥満とエネルギー代謝」, 1999, 10, 14, 東京
2. 小林章子, 大坂寿雅, 井上修二, 木村修一, グルコースの静脈内投与による熱産生機構, 第 20 回 日本肥満学会ミニシンポジウム「熱産生」, 1999, 10, 14, 東京
3. 須賀麻子, 平野勉, 影山晴秋, 加柴美里, 岡純, 大坂寿雅, 三浦雅一, 辻正富, 足立満, 井上修二, VMH 破壊ラットにおける早期レプチン上昇のメカニズム: インスリンの影響とフィードバック機構の存在, 第 20 回 日本肥満学会ミニシンポジウム「レプチン」, 1999, 10, 14, 東京

一般口演等

1. 小林章子, 大坂寿雅, 井上修二, 木村修一, 視床下部腹内側核への CGRP 投与による褐色脂肪組織熱産生の末梢機構, 第 76 回 日本生理学会大会, 1999, 3, 28, 長崎
2. 岡根菜生子, 大坂寿雅, 小林章子, 李泰熙, 井上修二, 木村修一, レシニフェラトキシンによる熱産生, 第 76 回 日本生理学会大会, 1999, 3, 28, 長崎
3. 影山晴秋, 須賀麻子, 加柴美里, 平野勉, 岡純, 大坂寿雅, 辻正富, 井上修二, ストレプトゾトシン糖尿病ラットにおける脱共役タンパク質 (UCP) 遺伝子の発現, 第 42 回 日本糖尿病学会総会, 1999, 5, 13, 横浜
4. 須賀麻子, 平野勉, 影山晴秋, 加柴美里, 岡純, 大坂寿雅, 三浦雅一, 辻正富, VMH 破壊ラットでは脂肪増生なしに早期にレプチンが増加する, 第 42 回 日本糖尿病学会総会, 1999, 5, 14, 横浜
5. 大坂寿雅, 小林章子, 井上修二, 木村修一, 麻酔ラットにおいて糖の腸内注入によって誘起される熱産生への自律神経系の関与, 第 22 回 日本神経科学会, 1999, 7, 7, 大阪
6. 小林章子, 大坂寿雅, 井上修二, 木村

- 修一, 静脈内グルコース投与による熱産生における自律神経の非関与, 第 22 回日本神経科学会, 1999, 7, 7, 大阪
7. 山崎百合子, 大坂寿雅, 村上透, 井上修二, 視床下部性肥満ラットにおけるインスリン抵抗性改善薬 JTT-501 の効果, 第 20 回日本肥満学会, 1999, 10, 14, 東京
 8. 影山晴秋, 須賀麻子, 平野勉, 岡純, 大坂寿雅, 三浦雅一, 井上修二, 視床下部腹内側核破壊肥満ラットにおける脱共役タンパク質遺伝子の発現様式, 第 20 回日本肥満学会, 1999, 10, 14, 東京
 9. 加柴美里, 岡 純, 影山晴秋, 須賀麻子, 大坂寿雅, 井上正康, 井上 修二, 肥満病態における抗酸化分子群の変動, 第 20 回日本肥満学会, 1999, 10, 14, 東京
 10. Chang Yong Xue, Kageyama, H., Kashiba, M., Kobayashi, A., Osaka, T., Namba, Y., Inoue, S.: Different origin of hypertriglyceridemia induced by a high-fat and a high-sucrose diet in ventromedial hypothalamic-lesioned obese and normal rats, 第 20 回日本肥満学会, 1999, 10, 15, 東京