

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第5分野

健康保持増進・予防医薬品の開発に関する研究

エネルギー消費調節機構に立脚した生活習慣病予防薬に関する基礎研究

所属 独立行政法人
国立健康・栄養研究所
研究者 大坂 寿雅

分担研究者

エーザイ株式会社 研究開発本部 創薬第Ⅲ研究所 田中勲

要旨

エネルギー消費の生理機構の解明により肥満症およびこれに起因する生活習慣病の治療および予防薬開発に関する基礎的知見を得ることを目的として、食事誘導性熱産生の生理機構を研究したところ腸内の浸透圧受容器の重要性を発見した。また、脱共役蛋白質遺伝子トランスジェニックマウスを作成し 70 週令までのエネルギー代謝における影響を調べたところ、高脂肪食によるインスリン抵抗性が軽減されていることを見出した。

1. 研究目的

エネルギー消費の生理機構を明らかにし、肥満症およびこれに起因する生活習慣病の治療および予防薬開発に関する基礎的知見を得ることを目的とする。このため食事誘導性熱産生(diet-induced thermogenesis, DIT)と体温調節における非ふるえ熱産生とに注目し、その脳・自律神経系・分子レベルでの機構の解明をめざす。

エネルギー摂取が消費を上回ることが肥満の原因であり、糖尿病・高血圧・高脂血症などの生活習慣病の多くは肥満が誘因であり憎悪因子であることは一般に良く認識されている。とりわけ、成人においてはエネルギー消費の低下が肥満の原因として重要な意味を持つ。そこで、腸内に栄養素溶液を注入して誘起されるエネルギー消費反応を DIT の実験モデルとして、その生理機構を解析し、自律神経系の関与や受容体機構を追求する。分子レベルでは脱共役蛋白質(uncoupling protein, UCP)の関与が想定されるので、DIT と非ふるえ熱産生における意義と活性化機構を探り、UCP の生産や活性化を促す生理機構や化学物質の開発の基礎となる知見を得る。とりわけ、脳によって全身のエネルギー消費がどのように調節されているかという理解の上に UCP が位置づけられるよう研究を行うことによって生活習慣病の予防および治療に役立つ薬物の創出をめざす。

2. 研究方法

ウレタン(1.2 g/kg)麻酔下でウィスター系雄ラットの酸素消費量と二酸化炭素産生量を測定する

ことでエネルギー代謝量を経時的に求めた。同時に、結腸および皮膚の温度を連続測定した。十二指腸にカニューレを装着し、5-20%ブドウ糖、0.9-3.6%食塩水、20%果糖、20%メチルブドウ糖、7.2%尿素、5-10%アミノ酸（グリシン、セリン、スレオニン、アルギニン）、蒸留水、紅花油を 10 ml/kg の量で 10 分間かけて注入した。また、食塩水に関しては大腿静脈、肝門脈、または腹腔内に 30 分かけて投与を行い、十二指腸に投与の場合と比較した。また、20%ブドウ糖と 3.6%食塩水を腸内および静脈内注入した時には血漿浸透圧を 0, 20, 60, 120 分後に測定した。DIT における消化管内浸透圧を明らかにするために、正常摂食動物の胃、十二指腸、空腸、血漿の浸透圧を測定した。

UCP2 と UCP3 のトランスジェニックマウスを 3 系統ずつ継代し、トランスジーンの安定性や発現組織とその強度を解析した。外来 UCP2 の発現は総じて低く、UCP3 は系統間で異なる発現パターンであった。ここでは骨格筋において UCP3 が野生型に比較して 3 倍程度の mRNA 高発現が観察された line52 について高脂肪食負荷の体重、摂餌量、血糖値、脂質値、インスリン値への影響を調べた。高脂肪食は総カロリーの 44.9%がラードを主とした脂肪で構成される D12451 (Research Diets 社) を用いた。

3. 研究成果

十二指腸に 10-20%ブドウ糖溶液を注入すると用量依存性にエネルギー消費率は増加し約 1 時間で最大値になった後に、徐々に低下して 2-3 時間で始めのレベルに戻る反応が起きた。深部体温である結腸の温度は熱産生を反映して上昇した。しかしながら、この反応はブドウ糖に特異的ではなく、1.8-3.6%食塩水、20%果糖、20%メチルブドウ糖、5-10%アミノ酸（グリシン、セリン、スレオニン、アルギニン）の投与でも類似の反応が起きた。反応の大きさは注入した溶液の浸透圧に比例していた。細胞膜を比較的自由に通過できるために生体にとっては有効な浸透圧刺激とはなりにくい 7.2%尿素の投与によつてはごく小さい反応が起きたが 1 時間以内に代謝率は下のレベルに戻った。生理食塩水、蒸留水、紅花油は効果がなかった。呼吸交換率はブドウ糖、果糖、グリシン、セリンを投与後に上昇し、アルギニン投与後に低下し、食塩やメチルブドウ糖投与後には変化無かった。エネルギー消費量と呼吸交換率の変化との間には相関はなかった。

3.6%食塩水を腸内および大腿静脈内注入した時に血漿浸透圧は類似の時間経過で投与後に徐々に上昇し 1 時間後に 20 mOsm 増加した。大腿静脈内、肝門脈内、腹腔内に 3.6%食塩水を投与したときにもエネルギー消費量は増加したが、その大きさは腸内投与の場合の約半分であった。正常固形飼料を摂食しているラット十二指腸内容物の浸透圧は 600-800 mOsm であり、血漿浸透圧の 306 mOsm よりも有意に高かった。

また、静脈内に投与した栄養素についても浸透圧受容器を介したエネルギー消費機構が存在し、骨格筋が主な熱産生のある場である可能性を示唆する結果を得た。また脳の摂食中枢とされる視床下部外側野に存在するオレキシンニューロンがエネルギー消費促進に働いていることを示唆する結果を

見出した。

UCP3 高発現マウスにおいては 18 週令ではトランスジェニック群の雄で対照群に比較して、低体重、低インスリン値、耐糖能の改善が観察された。70 週令では体重増加の抑制傾向とインスリン値の相対的低値は持続したが、経口糖負荷試験で調べた耐糖能については改善は見られなかった。しかし、糖負荷後のインスリン値は対照群に比べて低く、インスリン抵抗性は軽減されている結果を得た。一方、血糖値、トリグリセライド値、遊離脂肪酸値は試験期間を通じて有意な差は認められなかった。

4. 考 察

各種の栄養素溶液を十二指腸内に投与したところエネルギー消費反応が誘起されが、食塩水などの非栄養素溶液の投与によっても類似の反応が起きた。反応の大きさは溶液の浸透圧に依存しており、生体にとって浸透圧刺激になりにくい尿素の投与では反応は非常に小さかった。したがって、投与した溶質の化学的性質は関係なく、溶液の浸透圧に依存した反応であることが見出された。大腿静脈や肝門脈に溶液を投与しても反応が誘起されたが、その大きさは腸内投与に比べて小さかったことから、主な浸透圧受容部位は腸管内かその近傍の腸間膜であることが推測された。正常摂食後の腸内浸透圧は実験に用いた 10%ブドウ糖や 1.8%食塩水とほぼ同じレベルであった。したがって正常な摂食後に腸内の浸透圧受容器は腸内容物によって刺激されていることが考えられる。

UCP3 過剰発現マウスでは高脂肪負荷および加齢に伴うインスリン抵抗性の憎悪に対して顕著な抑制作用が見られた。ヒトの疫学調査からも UCP3 の変異とインスリン抵抗性の相関が指摘されており、UCP3 は当初予想していた体重よりもむしろインスリン感受性に対して重要な役割を担っているものと考えられた。

5. 結 論

麻酔ラットにおいて DIT のモデルを確立し、DIT の少なくとも一部は食事成分によって腸の浸透圧受容器が刺激されることに起因していると考えられた。また、高脂肪食が引き起こすインスリン抵抗性を UCP3 の過剰発現によって予防できるとの仮説を得た。

6. 研究発表

- 1) Osaka, T., Kobayashi, A. and Inoue, S. Thermogenesis induced by osmotic stimulation of the intestines in the rat. *Journal of Physiology*, 532:261-269, 2001.
- 2) Kobayashi, A., Osaka, T., Inoue, S., and Kimura, S. Thermogenesis induced by intravenous infusion of hypertonic solutions in the rat. *Journal of Physiology*, 535: 601-610, 2001.

- 3) Okane, N., Osaka, T., Kobayashi, A., Inoue, S., and Kimura, S. Effects of the capsaicin analogue resiniferatoxin on thermoregulation in anesthetized rats. *Journal of Thermal Biology*, **26**: 345-349, 2001.
- 4) Wang, J., Osaka, T., and Inoue, S. Energy expenditure by intracerebroventricular administration of orexin to anesthetized rats. *Neuroscience Letters*, **315**: 49-52, 2001.

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第5分野

健康保持増進・予防医薬品の開発に関する研究

平成14年9月10日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社