

# タンパク質と糖質による油脂嗜好性制御機構の解明

大阪公立大学生物科学研究科食栄養学分野

松村 成暢

## 研究の目的と意義

油脂を含む食品は嗜好性が高く過食を招きやすい。このため、油脂の摂取量は厳密に制御されなければならない。しかしながら、油脂の摂取量が他の栄養素と独立して制御されているという報告はなく、油脂の摂取量は他の食事も含めた総摂取カロリーに基づき間接的に制御されていると考えられてきた。近年、我々は油脂の摂取量がタンパク質と糖質摂取量に大きく影響を受けること、末梢組織の代謝変化が油脂の嗜好性を制御することを見出した。これまでに食欲を抑制する因子は数多く報告されているが、食欲とは独立し、タンパク質や糖質の摂取量により油脂の嗜好性が制御されているという報告はない。そこで本研究では (1) タンパク質と糖質の摂取による油脂嗜好性制御機構の解明 (2) 末梢組織による油脂嗜好性 (欲求) を制御する機構の解明を行った。

## 研究方法

### 動物飼育

本研究は大阪公立大学遺伝子組み換え実験安全委員会から倫理的に問題がないことの承認を受けた上で、大阪公立大学動物実験規程および National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals に遵守して実施した。マウス (C57BL/6NCrSlc 雄 5 週齢) を日本エスエルシー (静岡) より購入した。12 時間の明暗期サイクル (明期 6:00-18:00) で、温度  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  に維持して飼育した標準食 (Normal Chow: NC; 固形飼料 NMF; オリエンタル酵母株式会社, 東京, 日本) と水を自由摂食とし、ペパークリーンを敷いたクリーンケージにて繁殖した。

### 摂食実験

タンパク質摂取が体重増加に与える影響を検討するため、カゼイン (オリエンタル酵母) を粉末にした標準食に 20% の割合で混合したものをマウスに与え体重変化の測定を行った。

次に、別のマウスを用いて大豆油自由摂取時に飼料中のカゼイン含量が体重変化に与える影響を検討した。マウスのケージに給水瓶とは別に大豆油を入れたボトルを設置し、マウスが飼料と大豆油そして水を自由に摂取できる環境にした。なお、コントロール群には標準飼料のみを与え、対称群として標準飼料に 10% のカゼインを添加したもの、標準飼料に 20% のカゼインを添加したものを与え比較検討を行った。

いずれの実験も試験食を6週間与えた後に、解剖を行い、各種臓器重量の測定を行った。

### 組織中 mRNA 解析

カゼイン含有飼料を6週間自由摂食させた後に、各種臓器を摘出した。摘出した臓器は解析まで-70度で保存した。凍結したままのサンプルにガラスビーズと Sepasol RNA Super (Nacalai, Kyoto) を加え、ビーズホモジナイザー (Precellys evolutionbertin, Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France) により臓器を破碎した。その後、Sepasol の説明書に従い RNA を抽出した。抽出した RNA より Rever Tra Ace qPCR RT Master Mix (TOYOBO, 大阪, 日本) を使用して cDNA を合成した。抽出した RNA を、エネルギー代謝に関わる遺伝子の発現を quantitative PCR により定量を行った。

### 結果

はじめにカゼイン (タンパク質) 摂取量が体重変化に与える影響の検討を行った。標準飼料 (NCD: Normal chow diet) のみを与えた群と比較して、NCD に 20% カゼインを与えた群はやや体重が増加する傾向が観察された (図 1)。また、肝臓の軽度な肥大および各種脂肪組織重量が増加する傾向が観察された (図 2)。

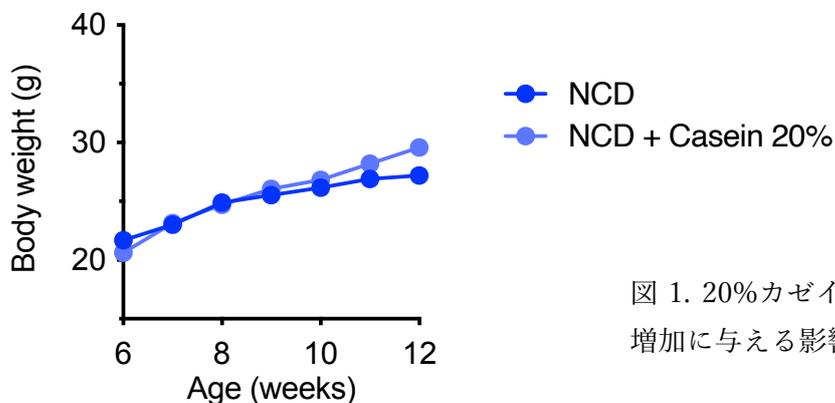


図 1. 20%カゼイン混合食が体重増加に与える影響。

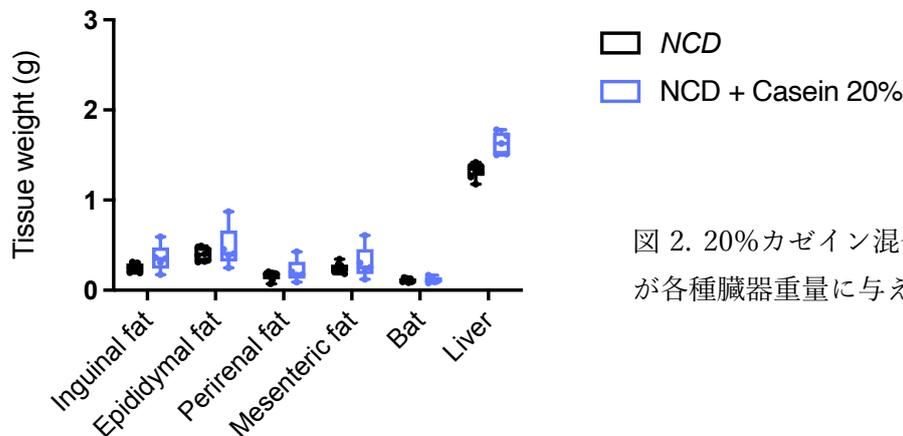


図 2. 20%カゼイン混合食 6 週間摂取が各種臓器重量に与える影響。

次に油脂自由摂取時に飼料中カゼイン含量が体重増加に与える影響の検討を行った。大豆油が自由に摂取できる環境下にて、タンパク質含量が異なる飼料(Casein 10%または20%を標準飼料に混合したもの)をマウスに与え体重変化の測定を行った。その結果、油脂自由摂取下では飼料中タンパク質含量が増えるほど体重増加が大きくなる傾向が観察された(図 3)。また、6 週間カゼイン混合食を摂取した後の臓器重量を比較すると、カゼイン濃度が高くなる、つまり飼料中のタンパク質濃度が高くなるほど脂肪組織重量が増加する傾向がみられた。カゼインを 20%含有した飼料を摂取した群ではコントロール群と比較して全ての脂肪組織において有意な重量増加が観察された(図 4)。一方で Bat (brown adipose tissue 褐色脂肪組織)や肝臓ではカゼイン摂取による影響は観察されなかった。また、各種臓器のエネルギー代謝に関連する遺伝子の mRNA 発現量を解析したが、どの遺伝子にも有意な変化はみられなかった (data not shown)。

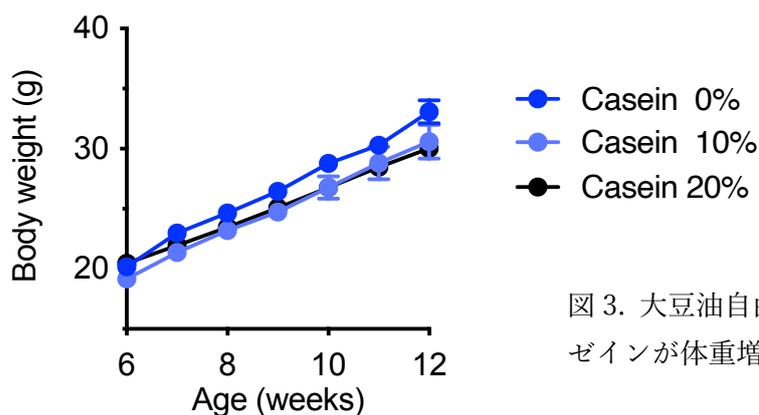


図 3. 大豆油自由摂取下で 10%、20%カゼインが体重増加に与える影響。

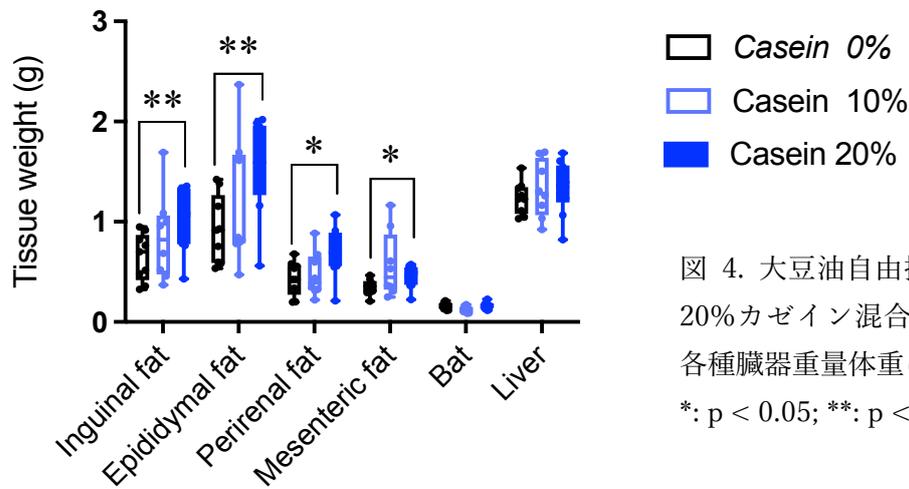


図 4. 大豆油自由摂取下で 10%、20%カゼイン混合食 6 週間摂取が各種臓器重量体重に与える影響。  
\*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ 。

## 考察

過去の我々の研究ではマウスにコーン油を好きなだけ摂取させると体重増加は標準食のみで飼育した場合と変わらないがエネルギー消費量が増加することが確認されている (Matsumura et al., 2018, 2019)。この実験条件下で、マウスは 1 日あたり約 1 グラムのコーン油と約 1 グラムの標準食を摂取する。この時、全食量に対して油脂の摂取量が多すぎるため、マウスはタンパク質不足になりタンパク質に対する欲求が増加していると推測される。そこで、本実験では過去の実験と同様に油脂を好きなだけ摂取できる実験条件でタンパク質摂取量が体重増加に与える影響を検討したところタンパク質摂取量が増えると体重増加が加速することが明らかとなった。

油脂を大量に摂取することで標準飼料の摂取量が減少すると、炭水化物およびタンパク質が欠乏状態になると予想される。油脂を多量に摂取すると必然的にエネルギー過多となるが、炭水化物およびタンパク質が欠乏している状態では肥満になる手前で摂食抑制が働くとともに、エネルギー消費の増加が起こるのではないだろうか。一方で今回の検討のように油脂を多量に摂取している状態でタンパク質 (カゼイン) を補充するとマウスが肥満することから、油脂摂取時にはタンパク質の摂取量が体重増加と食欲に大きな影響を与えていると推測される。つまり、食事のタンパク質含量を減らすことにより、油脂の摂取による肥満を予防することができるということなのかもしれない。

また、今回の検討では飼料中のタンパク質含量を増やしても油脂の摂取量には大きな変化が観察されなかった (data not shown)。このことは食事のタンパク質含量が油脂の摂取量に変化を与えないことを示唆している。一方で油脂の摂取はタンパク質含量の多い食事の摂取量を増加させ肥満を招いたことから、油脂の摂取はタンパク質欲求を高めることが明らかとなった。今回検討は行わなかったが、糖質に関しても同様にタンパク質欲求を高めるかもしれない。今後さらなる検討が必要である。

## 謝辞

本稿を終えるにあたり、本研究をご支援いただきました一般財団法人 杉山化学研究所に深く感謝申し上げます。

## 参考文献

Matsumura S, Odanaka M, Ishikawa F, Sasaki T, Manio MCC, Fushiki T, Inoue K. *Physiol Behav.* 2019 May 15;204:112-120.

Chronic high corticosterone with voluntary corn oil ingestion induces significant body weight gain in mice.

Matsumura S, Ishikawa F, Sasaki T, Odanaka M, Manio MCC, Fushiki T, Inoue K. *Mol Nutr Food Res.* 2018 Nov;62(22):e1800241.

Voluntary Corn Oil Ingestion Increases Energy Expenditure and Interscapular UCP1 Expression Through the Sympathetic Nerve in C57BL/6 Mice.