

# 油脂の摂取タイミングが体内時計の乱れと肥満に及ぼす影響とその作用機構解明

神戸大学大学院 農学研究科  
山下 陽子

## 1. 研究の目的と背景

一般的に、脂肪摂取の過多は肥満に繋がるといわれているが、それはエネルギー収支のアンバランスだけでなく、生体内に組み込まれた体内時計が乱れることが要因の一つであると考えられている。しかし、摂取する油脂の種類によって、ヒトへの作用が違うことが知られており、それも体内時計に制御される可能性が示唆されている。しかし、油脂の種類の違いが体内時計や肥満に及ぼす影響とその作用機構の詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、異なる油脂を与えた際に、体内時計の乱れやそれに伴う肥満の発症に及ぼす影響とその作用機構の解明を目的とした。

## 2. 研究材料

### 2-1. 油脂の種類の違いが時計遺伝子と脂質代謝関連因子に及ぼす影響について (*in vivo*)

高脂肪食として、ラードあるいはアマニ油をそれぞれ30%含有する飼料を14週間マウスに与えた。これにより、体に良いとされる脂とそうでないと言われている脂がそれぞれ体内時計の発現と肥満に及ぼす影響を検証した。飼育終了時に、肥満や糖尿病のマーカー、組織における脂質代謝に関わる因子の発現量を評価するとともに、時計遺伝子発現への影響を調べた。

### 2-2. 脂肪酸の種類の違いが時計遺伝子と脂質代謝関連因子に及ぼす影響について (*in vitro*)

時計遺伝子の *Bmal1* あるいは、*Clock* にルシフェラーゼをラベルした 3T3-L1 脂肪細胞あるいは Hepa 1-6 肝細胞株を樹立し、経時的に時計遺伝子の発現量を測定できる実験系を確立した。続いて、これらの細胞株に、ラードやアマニ油に特徴的な脂肪酸であるパルミチン酸と  $\alpha$ -リノレン酸を添加した際の時計遺伝子の発現周期について測定した。

## 3. 研究結果

### 3-1. 油脂の種類の違いが肥満と時計遺伝子発現に及ぼす影響

ラードあるいはアマニ油を混餌した飼料を14週間摂取

させたところ、飼育終了時の体重及び体重あたりの白色脂肪組織重量 (Table) が普通食と比較してラード摂取で有意に増加していたが、アマニ油摂取では差がないことが確認できた。血液マーカーの日内変動を測定するため、各タイムポイントでの血漿脂質や血糖値を測定し、それぞれの周期を比較した (Fig. 1)。その結果、中性脂肪値と遊離脂肪酸値は zeitgeber time (ZT)4 では普通食と比較してラード摂取で有意に上昇し、24時間周期の位相も前進していたが、アマニ油摂取では普通食との間に変動はなかった。総コレステロール値は、ラード摂取群で全体的に高い値を示し、振幅が消失していた。アマニ油摂取ではラード摂取よりも値は低かったが、ラードと同様に振幅の消失がみられた。血糖値については群間で有意な差は認められなかった。

Table 体重 (g) と白色脂肪重量 (体重%)

	普通食	ラード	アマニ油
体重 (g)	32.2 ± 0.7 <sup>a</sup>	37.7 ± 1.0 <sup>b</sup>	34.0 ± 1.1 <sup>a</sup>
total WAT	10.05 ± 1.42 <sup>a</sup>	17.98 ± 0.63 <sup>b</sup>	13.13 ± 1.86 <sup>a</sup>
eWAT	2.49 ± 0.36 <sup>a</sup>	5.33 ± 0.40 <sup>b</sup>	3.24 ± 0.47 <sup>a</sup>
pWAT	1.22 ± 0.19 <sup>a</sup>	2.21 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.56 ± 0.16 <sup>a</sup>
mWAT	1.41 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.94 ± 0.12 <sup>b</sup>	1.38 ± 0.17 <sup>a</sup>
sWAT	4.92 ± 0.76 <sup>a</sup>	8.50 ± 0.33 <sup>b</sup>	6.95 ± 1.12 <sup>ab</sup>

WAT: white adipose tissue

異なるアルファベット間では有意差があることを示している。

続いて、油脂の種類の違いによる脂質代謝関連因子の発現周期の変動を調べるために、精巢上体脂肪での mRNA 発現量を測定した (Fig. 2)。肥満の抑制に関わる因子 X について、ラード摂取ではその発現周期の振幅の低下が認められたが、アマニ油摂取では変動しなかった。また、因子 X の発現を誘導する因子についても同様の結果が得られた。これまでの報告で、因子 X を含む脂質代謝関連因子は時計遺伝子によってその発現が制御されていることが示唆されている。したがって、時計遺伝子と因子 X の関連を調べるために、時計遺伝子の発現周期について測定した (Fig. 3)。その結果、*Bmal1*、*Cry2*、*Per3*、並びに *Dbp* の振幅の低下がラード摂取で認められ、アマニ油で

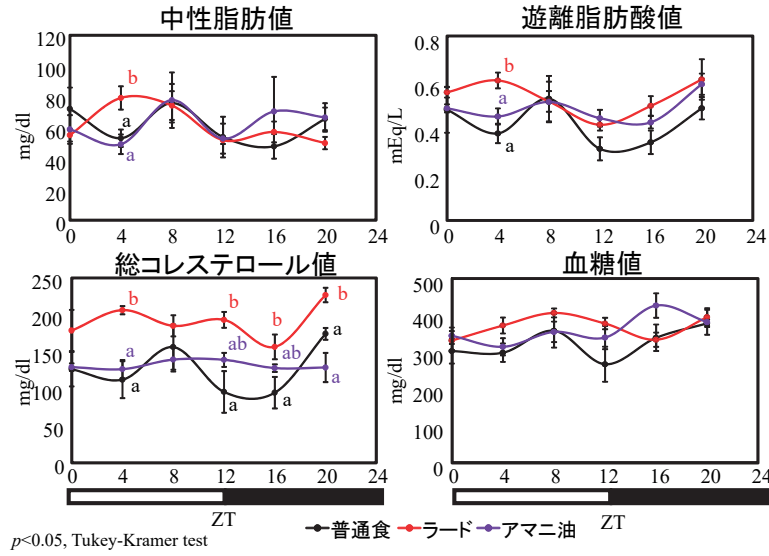


Fig. 1 血漿成分値の周期

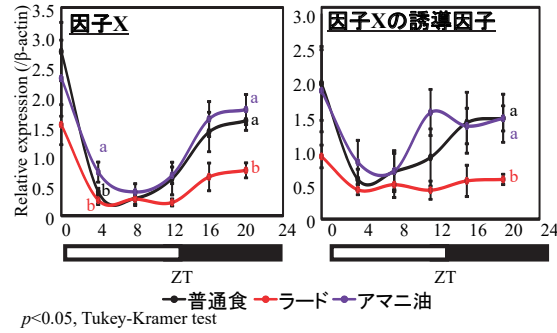


Fig. 2 脂質代謝関連因子 X とその誘導因子の発現周期

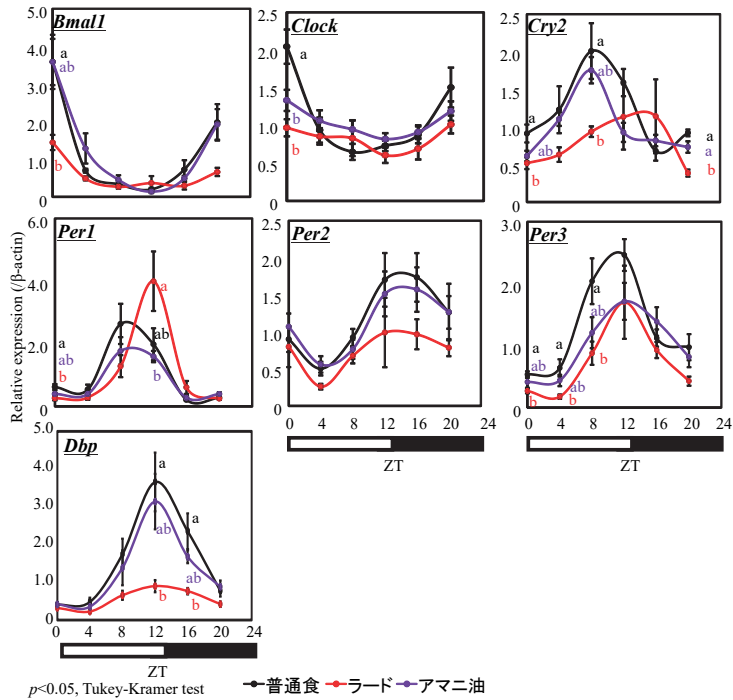


Fig. 3 時計遺伝子の発現周期

は差がないという、因子 X と同様の発現周期の変動が認められた。このことから、油脂の種類の違いによって精巢上体脂肪での因子 X とその誘導因子、並びに時計遺伝子の発現周期に及ぼす影響が異なることが明らかとなった。

### 3-2. 脂肪酸の違いが時計遺伝子と脂質代謝関連因子の発現に及ぼす影響について

時計遺伝子と因子 X の関連について詳細に検討するために、培養細胞を用いたリアルタイム遺伝子発現測定法を構築した。マウス由来の肝がん細胞である Hepal-6 に *Bmal1* の遺伝子のプロモーター領域にルシフェラーゼを挿入した。そしてデキサメタゾンを経時的に作用させることで時計遺伝子の発現周期を誘導し、そのときの発光強度をリアルタイムで経時的に測定し、発現周期の解析を行った (Fig. 4)。コントロールと比較して、パルミチン酸とオレイン酸の作用により発光強度と振幅の低下傾向があった。一方で、 $\alpha$ -リノレン酸ではコントロールとの差はなかった。この方法を用いて脂肪細胞である 3T3-L1 でも各種脂肪酸を添加した際の目的の因子の発現周期について検討していく予定である。

## 4. 結論・考察

本研究でラードの摂取は肥満が誘導されたが、同濃度のアマニ油摂取では、肥満が誘導されない事が判った。その作用機構の一端には、ラード摂取により誘導される肥満関連因子 X と時計遺伝子の発現周期の低下が、アマニ油摂取ではそれが認められないことが関与していることが示唆された。これまで高脂肪食の摂取が時計遺伝子の発現周期を乱すことが報告されていたが、高脂肪食に含まれる油脂の種類が異なると、時計遺伝子の発現周期に及ぼす影響が異なることが明らかにしたのは、本研究が初めてである。

また、肥満の抑制に関わる因子 X やその発現誘導に関わる因子の発現についてもそれぞれ周期を持つこと、そしてラード摂取群において時計遺伝子と同様に振幅の低下が認められたことから、ラード摂取により引き起こされる因子 X の変動は時計遺伝子を介す可能性が示唆された。

油脂が時計遺伝子の発現に作用するメカニズムについてはまだ明らかではないが、そのひとつに炎症が関係していることが考えられる。ラードの摂取によって炎症に中心的な役割を果たす NF $\kappa$ -B が誘導される。BMAL1 はプロモーター領域に存在する E-box に結合することでさまざまな因子の転写を誘導するが、NF $\kappa$ -B は BMAL1 の E-box への結合を阻害することで、BMAL1 によって誘導される因子の発現周期を乱すことが報告されている。このことから、ラード摂取により惹起された炎症が時計遺伝子に影響を及ぼし、さらに、アマニ油は炎症を惹起しないことから時計遺伝子の発現周期の乱れを引き起こさないことが予想される。

## 5. 今後の課題

本研究では、ラードとそれに多く含まれるパルミチン酸が、脂質代謝関連因子の発現周期を乱すとともに、時計遺伝子の発現周期も低下させることを発見した。これは、時計遺伝子が乱れたことに起因するのか？ 脂質代謝関連因子が時計遺伝子を乱したのか？ その前後関係と詳細なメカニズムがまだ不明であり、今後、より詳細に研究を進めていく必要がある。それにより、油脂が時計遺伝子を乱すことで肥満を惹起していることを究明していく。さらに、これらの現象が、油脂の種類によって異なることから、今後は、健康維持増進に有益な油脂を選択して摂取する必要性を提唱するための基礎データをさらに構築していく必要があると考えている。

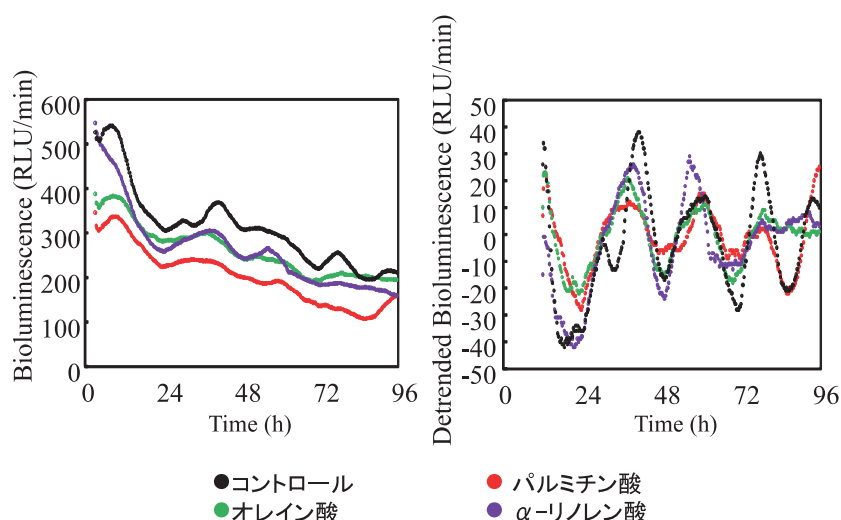


Fig. 4 *Bmal1* の発現周期に対する各種脂肪酸の作用 (Hepal-6)