

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分
平成30年3月9日現在

摂食シグナル胆汁酸の分子栄養学的機能解析と食品成分による
摂食応答制御

Analysis on molecular nutritional functions of bile
acids as a feeding signal, and regulation of metabolic
response to feeding by food factors

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

課題番号：15H05781

佐藤 隆一郎 (SATO RYUICHIRO)



研究の概要

胆汁酸は摂食後に血中濃度が最大値となり、摂食応答シグナルとして機能する。この機能を明らかにすべく基盤研究と食品機能研究を同時並行で行った。複数の胆汁酸輸送体を抑制する食品成分を探索し、それぞれについて候補化合物を見出し、それらが期待される代謝改善効果を *in vivo* で発揮することを示した。また、骨格筋において胆汁酸受容体 TGR5 が活性化されると筋量が増強するという新たな概念を提示することに成功した。

研究分野：農芸化学、食品科学

キーワード：胆汁酸、摂食シグナル、TGR5、FGF15/19

1. 研究開始当初の背景

胆汁酸の機能は長いこと不明であり、21世紀に入り核内受容体のリガンドとして生理活性を有することが明らかにされた。このように胆汁酸機能研究の歴史はここ数十年に限られており、未成熟分野とも言える。最近の研究成果により、摂食刺激に対し、胆嚢より胆汁が分泌され、そこに含まれる胆汁酸が発信するシグナルが、インスリンと並行して摂食応答を制御する複数の因子として作動していることが次第に明らかにされている。従って、肥満、過栄養などが引き金となり暴走するインスリンを介した摂食応答を、同時に作動する胆汁酸を介した摂食応答系により適正化することが望まれ、胆汁酸機能を介した応答系の分子基盤を深く理解することが必要となっている。

2. 研究の目的

分子細胞生物学的基礎研究により胆汁酸代謝の分子基盤を明らかにする。この知見に基づき、胆汁酸を標的とした食品成分による摂食応答適正化による代謝改善が可能となる。胆汁酸摂食シグナル機構を明らかにし、新たな概念の提示をすると同時に、食品成分の新規な標的として胆汁酸摂食シグナル経路の重要性を示す。

3. 研究の方法

胆汁酸は肝臓においてコレステロールの

異化により生成される。コレステロール-胆汁酸生成の代謝経路を理解するうえで、コレステロール生合成を制御する因子 SREBP の活性化機構の分子基盤解析を行った。活性化に必須な結合タンパク質 SCAP に結合する新たな因子を免疫沈降、質量分析技術を駆使し、見出す。その結果見出した、新規結合因子 HSP90 の機能解析を行った。

小腸下部で吸収された胆汁酸は、核内受容体 FXR に結合、活性化し、応答遺伝子 FGF15/19 発現を上昇させる。FGF19 はホルモン様機能を有する分泌タンパク質で、門脈を経て、肝臓へとシグナルを伝達する。FGF19 の発現制御と小胞体ストレスに着目して、分子細胞生物学的解析を行った。

胆汁酸は小腸上部に分泌されたのちに、小腸下部でその大半が吸収され肝臓へと戻る。この過程で、小腸下部にある胆汁酸特異的輸送体 IBAT と、肝臓への取り込みに関与する輸送体 NTCP が重要な働きをする。これら輸送体の輸送活性を抑制することは、コレステロールの胆汁鎖異化を促進し、また胆汁酸代謝を改善することが予想されることから、これら2種類の輸送体の輸送活性を抑制する食品成分の探索評価系を構築した。精製食品成分約160種類について、胆汁酸輸送抑制活性を評価した。候補化合物については、放射性胆汁酸の取り込み活性抑制効果の評価、マウスへの投与実験による、代謝改善効果の検証を行った。

胆汁酸受容体 TGR5 は骨格筋細胞にも発現する G タンパク質共役受容体で胆汁酸を結合すると細胞内 cAMP が上昇する。同様の作用を示す β_2 アドレナリン受容体の合成リガンドは筋量増強剤として知られている。したがって、TGR5 は胆汁酸刺激により筋量を増強する作用が期待される。この作業仮説を証明すべく、ヒト TGR5 を骨格筋に過剰発現する Tg マウスを独自に開発した。同時に TGR5 ノックアウトマウスを入手し、2 種類のマウスの比較検討を行った。

これまでにヒト TGR5 のリガンドとして作用する食品成分の探索を行い、柑橘成分ノミリンを見出してきている。ノミリン-TGR5 の結合様式をドッキングシミュレーションと多数の 1 アミノ酸変異導入を行い、解析を進め、その結合様式を明らかにした。

4. これまでの成果 (右図参照)

細胞内で 2 回の膜貫通領域を持つ小胞体膜タンパク質として合成される前駆体 SREBP が、ゴルジ装置に輸送され、そこで活性型へと変換される過程において、ヒートショックタンパク質 HSP90 が重要な役割を演じることを見出した。HSP90 タンパク質は、SREBP とそのエスコートタンパク質である SCAP が形成する複合体に直接結合し、その双方のタンパク質の安定性を維持する働きをすることを明らかにした。胆汁酸への異化過程は、肝臓におけるコレステロール代謝制御に依存していることから、HSP90 の胆汁酸代謝制御についてさらなる研究を進める (論文[2])。

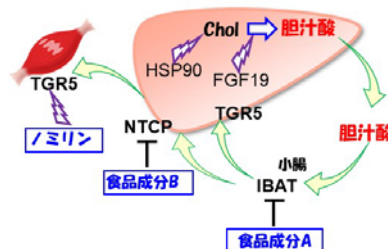
小胞体ストレスにより活性化されるストレス応答転写因子 ATF4 が FGF19 ならびに FGF21 発現を促す新たな調節機構を見出した。胆汁酸による FGF19 の直接的な発現制御との調節機構をさらに明らかにする。

ヒト IBAT もしくは NTCP を安定発現する培養細胞株を樹立し、この細胞を用いてタウリン抱合型胆汁酸の取り込み活性を評価した。それぞれの輸送体に対して、個別の食品成分に輸送抑制効果が見出された。これらを餌に混ぜ、マウスへの投与実験を行い、胆汁酸輸送活性の低下、予想される代謝改善効果が検証された。特に、NTCP 阻害活性を有する食品成分は血中胆汁酸濃度を上昇させ、骨格筋筋量を増加させた。

TGR5 欠損マウスでは骨格筋量の有意な減少が、Tg マウスでは有意な増加が認められ、骨格筋の TGR5 が筋量を調節する因子であることを示した。さらに運動が TGR5 発現を亢進することを見出した。運動は骨格筋細胞に小胞体ストレスを惹起し、この刺激が TGR5 遺伝子発現を上昇させるメカニズムを遺伝子プロモーター領域の解析で証明した。

我々はこれまでにヒト TGR5 のリガンドとして柑橘成分ノミリンを見出してきている。ノミリン-TGR5 の結合様式を明らかにし、

TGR5 の 3 つのアミノ酸がその結合に関与することを明らかにした (論文[1])。



摂食シグナル胆汁酸の機能と食品成分

5. 今後の計画

*胆汁酸受容体 TGR5 の肝臓における機能解析と絶食応答の分子メカニズム解明

胆汁酸が摂食応答シグナルとして作用する臓器である肝臓における機能とその発現制御について明らかにする。

*胆汁酸分子種による機能性評価

胆汁酸代謝変動により種々の胆汁酸分子種量が変動することより、活性に大きな変化を及ぼすことが予想される。事実 TGR5 は二次胆汁酸により強く活性化されることから、胆汁酸代謝変動と機能作用についての解析を進める。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

[1]Sasaki, T., Mita, M., Ikari, N., Kuboyama, A., Hashimoto, S., Kaneko, T., Ishiguro, M., Shimizu, M., Inoue, J., and Sato, R.: Identification of key amino acid residues in the hTGR5-nomilin interaction and construction of its binding model. *PLoS ONE* 12, e0179226. (2017)

[2]Kuan, Y-C., Hashidume, T., Shibata, T., Uchida, K., Shimizu, M., Inoue, J., and Sato, R.: Heat Shock Protein 90 Modulates Lipid Homeostasis by Regulating the Stability and Function of Sterol Regulatory Element-Binding Protein (SREBP) and SREBP Cleavage-Activating Protein. *J. Biol. Chem.* 292, 3016-3028. (2017)

[3]Hashidume, T., Kato, A., Tanaka, T., Miyoshi, S., Itoh, N., Nakata, R., Inoue, H., Oikawa, A., Nakai, Y., Shimizu, M., Inoue, J., and Sato, R.: Single ingestion of soy β -conglycinin induces increased postprandial circulating FGF21 levels exerting beneficial health effects. *Sci. Rep.* 6, 28183. (2016)

*佐藤隆一郎 コレステロール代謝制御の分子細胞生物学研究 日本農芸化学会学会賞 (2016)

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/food-biochem/>