

高脂肪食摂取が血中レプチン濃度に及ぼす影響

中 谷 昭・岡 崎 政 博*・坂 田 進**

奈良教育大学保健体育講座 (運動生理学)

(平成13年4月27日受理)

Effect of High Fat Diet on Serum Leptin Level in Rats

Akira NAKATANI, Masahiro OKAZAKI and Susumu SAKATA

(Department of Physical Education, Nara University of Education, Nara 630-8528, Japan)

(Received April 27, 2001)

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of high fat diet with different percent calories as fat on serum leptin level in rats. Male Wistar rats, 4 weeks old, were assigned to regular chow (12% calories as fat), a 40% high fat diet or a 60% high fat diet group. They ate each diet ad libitum for 5 weeks. Food intake per day was the highest in chow fed group and the lowest in 60% high fat fed group. Although epididymal fat pad weight, plasma triglyceride, free fatty acid and total cholesterol in both high fat diet groups were significantly higher than in the chow fed group, there was no difference in body weight among the three diet groups. Serum leptin in the 40% fat and the 60% fat diet were higher than in the chow fed group (~136% and ~140%, respectively). Serum leptin was strongly correlated with epididymal adipose tissue weight ($r=0.83$, $P<0.001$). These results suggest that a high fat diet increases serum leptin level, and that increased leptin level might inhibit food intake and control body weight.

Key Words: high fat diet, leptin, rat

キーワード: 高脂肪食, レプチン, ラット

1. 緒 言

脂肪組織はエネルギーの貯蔵庫であり, 持久的運動時にはノルエピネフリンなどの脂肪分解ホルモンの作用により脂肪組織から血液中に遊離脂肪酸が放出され, 骨格筋においてエネルギー源となる¹⁶⁾. また, 脂肪組織は内臓の保護や体温の保持など重要な役割を果たしている¹⁸⁾. しかし, 運動不足によりエネルギー消費量が減少し, 栄養過多によりエネルギー摂取量が増大すると, 脂肪組織が増大し肥満が発生する. 肥満になると, 高血圧, 高脂血症, 動脈硬化, 心筋梗塞, 糖尿病などいわけ

る生活習慣病の危険性の高まることが知られている¹¹⁾.

ところで, 脂肪組織はこれまで単なるエネルギーの貯蔵庫として考えられてきたが, 近年, インスリン抵抗性を引き起こす TNF- α (tumor necrosis factor- α) や血栓形成に作用する PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) など, 生理活性を持ついくつかの化学物質 (adipocytokine) を分泌する細胞であることが明らかになってきた¹⁷⁾. 1994年に Zhang ら¹²⁾により同定された肥満遺伝子の産物であるレプチンは, 脂肪細胞から分泌され, 視床下部に対して作用し, 摂食量を抑制するとともにエネルギー消費を増大することにより体重や体脂

* 現在 昭和医科工業株式会社勤務

** 奈良県立医科大学 第2生理学教室

肪量を調節すると考えられている¹²⁾。しかし、レプチンに関するこれまでの研究は肥満者や肥満動物を用いた研究であり、正常動物において食事や運動が血中レプチン濃度にどのような影響を及ぼすのかについての検討はほとんどなされていない。

そこで、本研究においてはラットを対象に、食事における脂質のカロリー比が異なる高脂肪食を長期に摂取した場合、血中レプチンや体脂肪量にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

2. 方法

1) 実験動物

実験動物として5週令のWistar系雄ラット(日本SLC)24匹を用いた。これを普通食群(飼育用飼料;日本クレア製;カロリー比で脂質が約12%)とカロリー比で脂質が40%及び60%の高脂肪食群の3群に分け、5週間飼育した。ラットは室温 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、明期と暗期を12時間サイクルとする動物飼育室で飼育し、飼育期間中飼料及び水は自由摂取とした。各群の食餌成分は表1に示した。

表1 各群の食餌の組成 (g / 100 g) 及びカロリー比 (kcal / 100 g) *

	普通食		40%高脂肪食		60%高脂肪食	
	g / 100 g	kcal / 100 g	g / 100 g	kcal / 100 g	g / 100 g	kcal / 100 g
脂質	4.5	40.5	20	180.0	35	315.0
糖質	50.2	200.8	42	168.0	27	108.0
タンパク質	24.9	99.6	30***	102.0	30***	102.0
その他**	20.4	0	8	0	8	0
合計	100	340.9	100	450.0	100	525.0

* 脂質は9 kcal/g, タンパク質4 kcal/gとして計算した。

** その他には、ビタミン、ミネラル、食物繊維などが含まれる。

*** 高脂肪食のタンパク質には用いたミルクカゼイン重量を示した(タンパク含量は85%)

2) 測定方法

飼育期間終了後、pentobarbital sodium 麻酔下、副腎丸脂肪組織を摘出し、室温の Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液で数回洗浄した後、ろ紙で水分をとり重量を測定した。副腎丸脂肪組織は皮下脂肪と異なり遊離して存在するため摘出しやすく、他の脂肪組織重量と高い相関を示すため(未発表データ)、副腎丸脂肪組織重量を体脂肪量の指標として用いた。採血は腹部大動脈より行った。血液を血清分離剤入りスピッツに約30分間放置した後、遠心分離して血清を得、血中脂質及びレプチンの測定に用いた。体重及び飼料摂取量は飼育期間中週2回測定した。1日の飼料摂取量は、飼料を与える前後で重量を測定し求めた。摂取カロリーは1日の摂取量に、普通食は 3.40kcal/g 、40%高脂肪食は 4.50kcal/g 、60%高脂肪食は

5.25kcal/g をそれぞれかけて換算した。

血中脂質は、総コレステロール量、中性脂肪量及び遊離脂肪酸量を自動分析法(株式会社ファルコバイオシステム)により測定した。

血中レプチンはマウスレプチン測定用キット(Quantikine M;R & D systems)を用い、ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)により測定した。

3) 統計処理

各群の平均値及び標準偏差を算出し、グループ間の比較は分散分析を用いて行った。有意水準は5%未満とした。

3. 結果

1) 摂食量及び摂取カロリーの変化

図1に摂食量の変化を示した。摂食量は各群3週目まで増加した後ほぼ一定となった。摂食量は普通食群が最も高く、60%高脂肪食群が最も低かった。

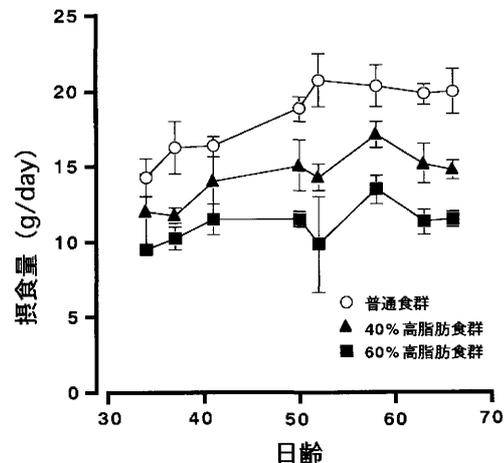


図1 飼育期間中の1日当たりの摂食量の変化

図2は摂食量から計算により求めた摂取カロリーの変化を示したものである。各群とも3週目までわずかに増加し、その後はほぼ一定の値を示した。摂取カロリーは各群ほぼ同じ値であった。

2) 体重及び脂肪組織重量

図3は各群の加齢に伴う体重の変化を示したものである。体重は加齢とともに増加が見られたが、食餌による違いは見られなかった。図4には5週目の各群の副腎丸脂肪組織重量を示した。普通食群の脂肪組織重量が $2.48 \pm 0.63\text{g}$ であるのに対し、40%高脂肪食群では $4.82 \pm 0.96\text{g}$ 、60%高脂肪食群では $4.63 \pm 0.45\text{g}$ と高脂肪食群では有意な($P < 0.001$)増加を示した。

3) 血中脂質

各群の血中脂質レベルは表2に示した。総コレステロール量は、普通食群の $51.5 \pm 9.3\text{mg/dl}$ に対し、40%高

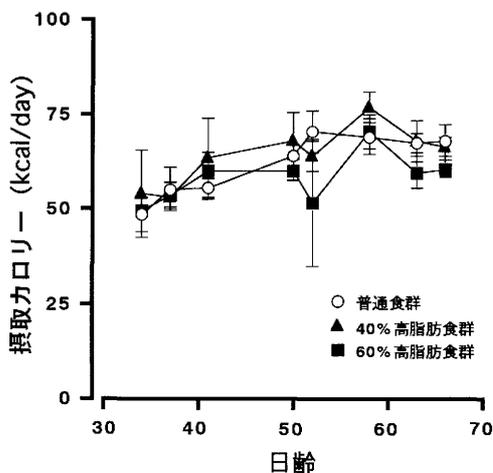


図2 飼育期間中の1日の摂食カロリーの変化

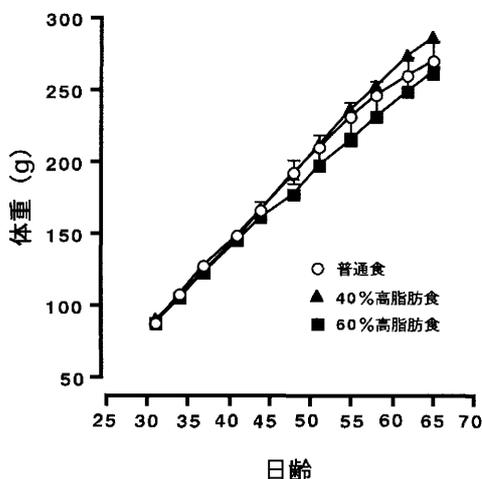


図3 飼育期間中の各群の体重の変化

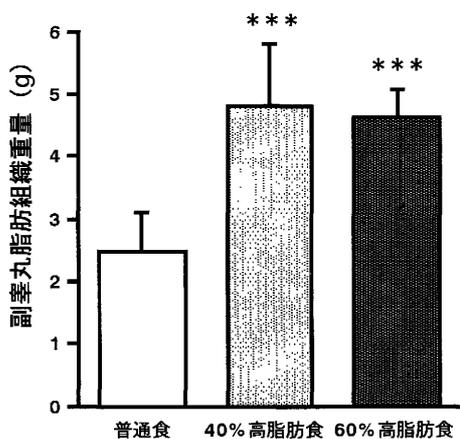


図4 各群の副睪丸脂肪組織重量の比較
***; 普通食群との有意差, P<0.001

脂肪食群では $82.9 \pm 11.8 \text{ mg dl}$, 60%高脂肪食群で $99.3 \pm 10.9 \text{ mg dl}$ と高脂肪食群で有意に ($P < 0.001$) 高い値を示した。中性脂肪量や遊離脂肪酸量も総コレステロール量と同様、高脂肪食群で有意に ($P < 0.001$) 高い値を示した。

表2 各群の血中脂質

	普通食群	40%高脂肪食群	60%高脂肪食群
総コレステロール (mg dl)	51.5 ± 9.3	$82.9 \pm 11.8^{***}$	$99.3 \pm 10.9^{***}$
中性脂肪 (mg dl)	124 ± 36	$230 \pm 18^{***}$	$234 \pm 66^{***}$
遊離脂肪酸 ($\mu \text{Eq/L}$)	291 ± 142	$797 \pm 337^{***}$	$624 \pm 219^{***}$

** ; 普通食群との有意差, P < 0.001

しかし、40%高脂肪食群と60%高脂肪食群の間には有意な差が見られなかった。

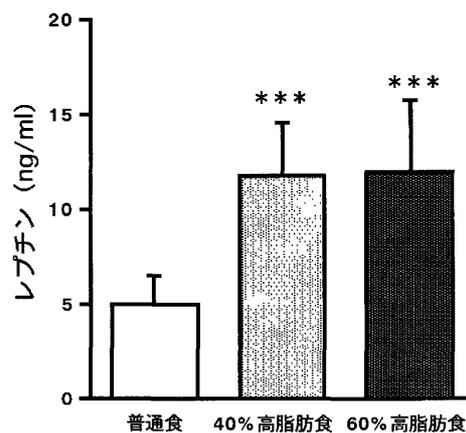


図5 各群の血中レプチンの比較
*** ; 普通食群との有意差, P<0.001

4) 血中レプチン

図5は各群の血中レプチンを比較したものである。普通食群の $5.0 \pm 1.5 \text{ ng ml}$ に対し、40%高脂肪食群では $11.8 \pm 2.8 \text{ ng ml}$, 60%高脂肪食群で $12.0 \pm 3.8 \text{ ng ml}$ と高脂肪食群で有意な ($P < 0.001$) 増加が見られた。しかし、高脂肪食群間には有意な差が認められなかった。

5) 副睪丸脂肪組織重量と血中レプチンとの関係

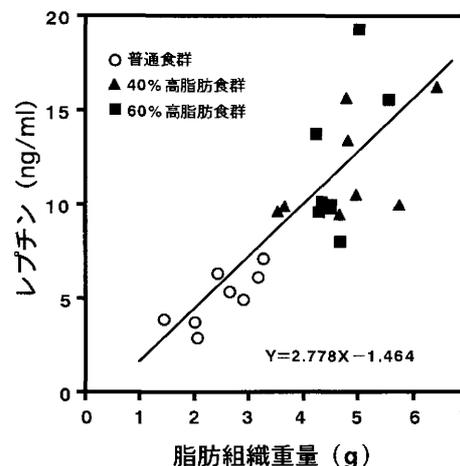


図6 血中レプチンと副睪丸脂肪組織重量との関係

図6は副睪丸脂肪組織重量と血中レプチンとの関係を示したものである。副睪丸脂肪組織重量とレプチンとの間には $r=0.827$ の有意な($P<0.001$)相関が見られた($Y=2.778X-1.464$)。

4. 考 察

脂肪組織を構成する脂肪細胞は細胞内容積の90%以上が中性脂肪からなる特殊な細胞であり、エネルギーの貯蔵庫として重要な働きをしている⁽⁸⁾。しかし、エネルギーの消費量より摂取量が大きくなると、中性脂肪として脂肪細胞に貯えられるため、脂肪組織が増大し肥満を発症する⁽⁹⁾。一方、我々の体重は長期にわたりほとんど変動することがなく一定に保たれている。その調節機構としてこれまでは血糖や血中遊離脂肪酸など食事により変動する血中成分が考えられてきたが(セットポイント説⁽¹¹⁾)、1994年にZhangら⁽¹²⁾による遺伝性肥満マウス(ob/obマウス)の研究から新たにレプチンの存在が明らかにされた。レプチンは脂肪細胞から血液中に分泌され、視床下部に対して作用し、摂食量を抑制するとともにエネルギー消費を増大することにより体重や体脂肪量を調節すると考えられている⁽²⁾。

Hosodaら⁽⁵⁾は平均体脂肪率が21.4%の正常者と39.9%の肥満者を比較し、肥満者で血中レプチンが8倍高いことを報告している。本研究において血中レプチンは40%高脂肪食と60%高脂肪食を摂取したラットにおいて、普通食を摂取したラットの約2倍の高値を示した(図4)。また、体脂肪量の指標として用いた副睪丸脂肪組織重量は普通食群に対し、40%高脂肪食群及び60%高脂肪食群で約2倍の増加が見られた(図3)。従って、高脂肪食摂取による体脂肪量の増加がラットにおいても血中レプチン濃度を高めたものと考えられる。また、Perusseら⁽¹⁰⁾はヒトにおいて、水中体重法により求めた体脂肪率と血中レプチンとの間に、男性では $r=0.83$ 、女性では $r=0.74$ の有意な相関(いずれも $P<0.001$)が見られたことを報告している。本研究においても副睪丸脂肪組織重量と血中レプチンとの間には有意な相関関係が認められた(図6)。これらのことから血中レプチンは体脂肪量増大に比例して増加するものと考えられる。

レプチンは脂肪組織から分泌され視床下部へ作用し摂食を抑制する⁽²⁾。また、レプチンを動物に投与すると摂食量が低下し、その結果体重の減少することが報告されている^(1,3,9)。本研究においてもレプチンレベルの高かった高脂肪食群では、摂食量が普通食群と比較して40%高脂肪食群では約26%、60%高脂肪食群では約42%低い値を示した(図1)。その結果、摂取カロリーがすべての群ではほぼ同じ値を示し(図2)、各群の体重に差が認められなかったものと考えられる(図3)。

従って、高脂肪食(高カロリー食)を摂取した場合には、脂肪組織からレプチンが分泌され、摂食抑制が起こることにより、体重が増大しないようコントロールされるものと考えられる。しかし、今回、高脂肪食群では普通食群と体重がほぼ同じであったものの、副睪丸脂肪組織重量が有意に高く(図4)、また血中中性脂肪や総コレステロールなど血中脂質も有意に高かった(表2)。このような変化は高血圧、動脈硬化症、糖尿病などの原因ともなり、脂肪の割合の高い食事をする、体重が同じでも体脂肪量の増加をもたらす、生活習慣病を引き起こす可能性のあることを示唆するものである。

以上の結果より、異なったカロリーの高脂肪食を摂取した場合、血中レプチンが増加し、摂食量が低下することにより、体重が一定に保たれるものと考えられる。

5. 摘 要

異なった脂質カロリー比の高脂肪食の長期摂取が血中レプチンレベルに及ぼす影響について検討した。実験動物として5週令のWistar系雄ラット24匹を用い、これを普通食群(脂質カロリー比が12%)とカロリー比で脂質が40%及び60%の高脂肪食群に分け5週間飼育した。その結果は以下のとおりである。

- 1) 1日当たりの摂食量は普通食群で最も多く、60%高脂肪食群で最も少なかったが、1日当たりの摂取カロリーは各群ほぼ同じ値を示した。
- 2) 副睪丸脂肪組織重量は高脂肪食摂取で約2倍に増大したが、体重に差が見られなかった。
- 3) 血中レプチンは普通食群に対し、高脂肪摂取群で有意な増加を示した(約2倍)。
- 4) 副睪丸脂肪組織重量と血中レプチンには $r=0.827$ の有意な($P<0.001$)相関が認められた。

以上の結果から、高脂肪食摂取による脂肪組織の増大は血中レプチンを増大し、その結果摂食量が抑制され体重が一定に保たれたものと考えられる。

なお、本研究の一部は科学研究費補助金基盤研究(C)(2)(課題番号10680029、研究代表者:中谷 昭)により実施した。

文献

- (1) Campfield, L.A., F.J.Francoise, J.Smith, Y.Guisez, R.Devos, and P.Burn. Recombinant mouse ob protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 269:546-549,1995.
- (2) Friedman, J.M. Leptin, leptin receptors and the control of body weight. *Eur.J.Med.Res.* 2:7-13, 1997.
- (3) Halaas, J.L., K.S.Gajiwala, M.Maffei, S.L.Cohen, B.T.Chait, D.Rabinowitz, R.L.Lallone, S.K.Burley, and J.M.Friedman. Weight-reducing effects of plasma protein encoded by the

- obese gene. *Science* 269:543-546, 1995.
- (4) Harris, R.B. Role of set-point theory in regulation of body weight. *FASEB J.* 15:3310-3318, 1990.
- (5) Hosoda, K., H. Masuzaki, Y. Ogawa, T. Miyawaki, J. Hiraoka, I. Hanaoka, A. Yasuno, T. Nomura, Y. Fujisawa, Y. Yoshimasa, S. Nishi, Y. Yamori, and K. Nakao. Development of radioimmunoassay for human leptin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 221:234-239, 1996.
- (6) 井澤鉄也. 脂肪細胞の脂肪分解反応と運動. *日本運動生理学雑誌* 8(1):1-24, 2001.
- (7) 河田照雄. 機能細胞としての脂肪細胞. *臨床医* 23(9):24-27, 1997
- (8) 奥田拓道. 肥満 科学同人, 1987.
- (9) Polleymounter, M.A., M.J. Cullen, M.B. Baker, R. Hecht, D. Winters, T. Boone, and F. Collins. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 269:540-543, 1995.
- (10) Perusse, L., G. Collier, J. Gagnon, A.S. Leon, D.C. Rao, J.S. Skinner, J.H. Wilmore, A. Nadeau, P.Z. Zimmet, and C. Bouchard. Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J. Appl. Physiol.* 83(1):5-10, 1997.
- (11) 佐藤佑造, 梶岡多恵子, 下方浩史. 体脂肪の生理的役割とその代謝. *臨床スポーツ医学* 17(1):1-11, 2000.
- (12) Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, and J.M. Fredman. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372:425-432, 1994.