

平成30年6月19日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00867

研究課題名(和文) 抗酸化食品成分による内臓脂肪組織の慢性炎症抑制機構の解明

研究課題名(英文) Suppressive effects of dietary antioxidants on inflammation of visceral adipose tissues in diet-induced obese mice

研究代表者

小堀 真珠子 (KOBORI, Masuko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・ユニット長

研究者番号：50353941

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、メタボリックシンドロームの発症に関わる内臓脂肪組織の慢性炎症に対する抗酸化食品成分の抑制効果の作用機構を食餌性肥満モデルマウス及び脂肪細胞を用いて検討した。その結果、カロテノイドの-クリプトキサントニンによる内臓脂肪組織の酸化ストレス抑制作用及び炎症抑制作用は弱かったが、クルクミンの酸化ストレス抑制作用は強く、クルクミン及びケルセチンで発現変動する内臓脂肪組織の遺伝子発現変化を比較解析したところ、クルクミンは内臓脂肪組織の酸化ストレス、小胞体ストレス及び脂肪合成を抑制することにより、またケルセチンは主に内臓脂肪への脂肪蓄積を抑制することによって慢性炎症を抑制することが示された。

研究成果の概要(英文)：Inflammation of visceral adipose tissue is known to cause insulin resistance and metabolic syndrome. We examined the effects of dietary antioxidants on inflammation of visceral adipose tissue of diet-induced obese mice. Although the carotenoid -cryptoxanthin scarcely suppressed the inflammation of epididymal adipose tissue in diet-induced obese mice, curcumin suppressed the oxidative stress and inflammation on the tissue. We compared genes that were considerably up- or downregulated by curcumin with those altered by anti-oxidative flavonoid quercetin in epididymal adipose tissue of obese mice. The results illustrated that curcumin suppressed the oxidative stress, ER stress and lipogenesis in the tissue. Quercetin was more effective in inhibiting the inflammation of the epididymal adipose tissue. Quercetin was suggested to improve the inflammation through improving the lipid metabolism in the liver and reducing the fat accumulation in the tissue.

研究分野：食品機能性

キーワード：クルクミン ケルセチン 内臓脂肪組織 慢性炎症 肥満 免疫

1. 研究開始当初の背景

(1) 食餌性肥満における内臓脂肪組織では、脂肪細胞で抗原提示に関わるクラス II 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC-II) の発現が増加し、さらにマクロファージや T 細胞等の免疫細胞が増加、活性化して、慢性炎症やインスリン耐性を引き起こし、メタボリックシンドロームを発症することが明らかになっている。メタボリックシンドロームの予防に関わる、食品成分の内臓脂肪組織の慢性炎症抑制機構を明らかにするためには、脂肪細胞と免疫細胞を含めた検討が必要である。

(2) 研究代表者らは、これまでに西洋型食にケルセチンを添加することにより、西洋型食で誘導される内臓脂肪組織である精巣上体周囲脂肪組織のマクロファージの増加が抑制されること、また遺伝子発現の網羅解析により、ケルセチンがマクロファージや T 細胞の増加や活性化に関わる遺伝子発現を抑制すること、抗原提示に関わる MHC-II の発現を抑制すること、酸化ストレスで抑制されるミトコンドリアの呼吸鎖複合体の発現を誘導すること等を明らかにした。

(3) またカロテノイドの β -クリプトキサンチンは高コレステロール・高脂肪食で誘導されるマウスの非アルコール性脂肪肝炎を改善したことから、肝臓の遺伝子発現解析等により、 β -クリプトキサンチンの脂肪蓄積抑制作用は弱い、マクロファージ等の免疫細胞の増加と活性化を抑制することにより、特に炎症を抑制して脂肪肝炎を軽減することを明らかにした。疫学研究の結果は β -クリプトキサンチンの血中濃度の高い人ほど、インスリン抵抗性や様々な生活習慣病のリスクが低いことを示している。

2. 研究の目的

(1) β -クリプトキサンチンは肝臓において炎症抑制作用を示すが、内臓脂肪組織の脂肪細胞や免疫細胞に及ぼす影響は殆ど明らかになっていない。そこで、 β -クリプトキサンチンやその他の抗酸化食品成分が、西洋型食で誘導される内臓脂肪組織の慢性炎症に及ぼす影響を、遺伝子発現変化等により明らかにする。

(2) また組織より分離した細胞や培養細胞を用いて、 β -クリプトキサンチン及びケルセチンが慢性炎症やインスリン耐性に関わる脂肪細胞の MHC-II の発現に及ぼす影響等から作用機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) C57/BL6J マウスにコントロール食、西洋型食 (高脂肪、高シヨ糖、コレステロール食) または 0.01% β -クリプトキサンチンを含む西洋型食を 16 週間摂取させ、体重、組織重量、血中成分及び組織中酸化ストレスマーカー

を測定した。

(2) 3T3-L1 細胞を脂肪細胞に分化させた後、IFN γ (4ng/ml) を添加して、24 時間後に RT-PCR によりクラス II 主要組織適合遺伝子複合体 MHC-II を構成する H2Ab1、H2eb1 及び Ciita の発現量を測定した。また β -クリプトキサンチンまたはケルセチンを IFN γ と共に添加することにより、これらの食品成分による MHC-II の発現抑制効果を検討した。

(3) C57/BL6J マウスにコントロール食、西洋型食または 0.1% クルクミンを含む西洋型食を 14 週間摂取させ、体重、組織重量等を測定すると共に、内臓脂肪組織の遺伝子発現を DNA マイクロアレイ及び RT-PCR 法により測定した。また遺伝子発現の網羅解析の結果を、ケルセチンの結果と比較した。合わせて組織染色によりマクロファージの増加を測定すると共に、脂肪組織中のクルクミン濃度等を測定した。

4. 研究成果

(1) 0.01% の β -クリプトキサンチンを西洋型食に添加して 16 週間摂取させた結果、 β -クリプトキサンチンは体重の増加を抑制せず、肝臓や精巣上体周囲脂肪組織等の組織重量に影響を及ぼさなかったが、8 週目以降に有意に血糖値の上昇を有意に抑制した (図 1)。

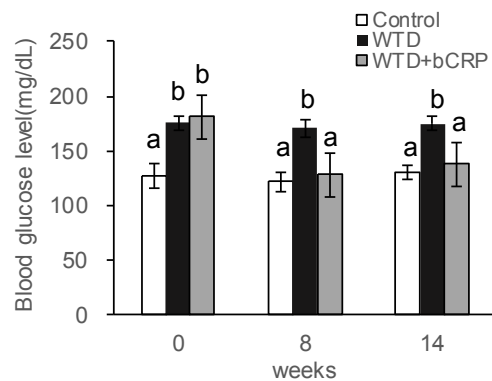


図 1 β -クリプトキサンチンは西洋型食による血糖値の上昇を抑制する

C57/BL6J マウスにコントロール食 (Control)、西洋型食 (WTD) 及び 0.01% β -クリプトキサンチン添加西洋型食 (WTD+bCRP) を摂取させ、0、8、14 週後に血糖値を測定した。

β -クリプトキサンチンは抗酸化性を有することが知られているが、肝臓、精巣上体周囲脂肪組織及び血中において、酸化ストレスマーカーである TBARS の濃度の有意な低下は認められなかった。また、肝臓の抗酸化酵素類の発現の有意な上昇も認められなかった (図 2)。更に、精巣上体周囲脂肪組織の炎症マーカーの抑制作用も認められず、 β -クリプトキサンチンの慢性炎症抑制効果は低いと考えられた。

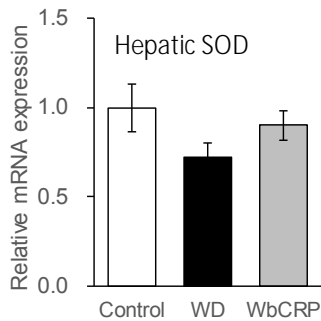


図2 β-クリプトキサンチンが肝臓において抗酸化酵素であるSODの発現に及ぼす影響

C57/BL6J マウスにコントロール食 (Control)、西洋型食 (WTD) 及び 0.01% β-クリプトキサンチン添加西洋型食 (WbCRP) を摂取させ、16 週後に肝臓の SOD の発現を測定した。

(2) 3T3-L1 脂肪細胞に IFN γ を添加すると MHC- を構成する H2Ab1、H2eb1 及び Ciita の発現が誘導された。そこで、ケルセチン及び β-クリプトキサンチンをそれぞれ添加して、これらの成分が IFN γ で誘導される MHC- の発現に及ぼす影響を検討した結果、β-クリプトキサンチンにのみ弱い MHC- の発現抑制作用が認められた (図3)。このことから、慢性炎症を抑制するメカニズムとして、ケルセチン及び β-クリプトキサンチンが IFN γ の脂肪細胞に対する作用を抑制する効果は低いと考えられた。

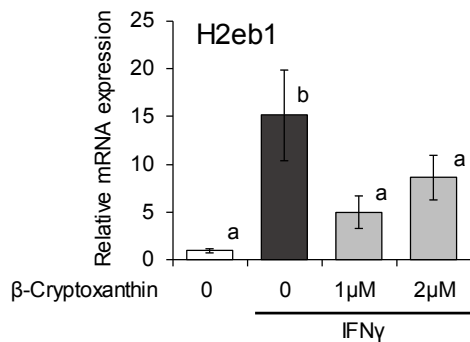


図3 β-クリプトキサンチンは IFN γ で誘導される脂肪細胞の H2eb1 の発現に及ぼす影響

3T3-L1 脂肪細胞に 4ng/ml IFN γ 及び β-クリプトキサンチンを添加して 24 時間培養した後、遺伝子発現を測定した。

(3) β-クリプトキサンチンは、食餌性肥満モデルマウスにおいて、内臓脂肪組織である上体周囲脂肪組織の炎症抑制作用を殆ど示さなかったが、抗酸化成分であるポリフェノールのクルクミンは弱い炎症抑制作用を示した。そこで、飼料中に添加した抗酸化食品成分のクルクミン (0.1%) 及びケルセチン (0.05%) が食餌性肥満モデルマウスの精巣上体周囲脂肪組織に及ぼす影響を比較検討することにより、これらの抗酸化食品成分の

慢性炎症抑制機構を検討した。西洋型食を摂取したマウスと比較してクルクミンを添加した西洋型食を摂取したマウスで変動する遺伝子発現と、ケルセチンを添加した西洋型食を摂取したマウスで変動する遺伝子発現を比較して、解析を行った結果、クルクミンでのみ変動する遺伝子発現は、主に小胞体ストレスに関連する eIF2 シグナル伝達に関わっていた (図4)。小胞体ストレスは酸化ストレスとも関連することが知られている。マウスの精巣上体脂肪組織において eIF2 α のリン酸化を測定した結果、コントロールに比べて、西洋型食を摂取することにより eIF2 α のリン酸化が促進され、クルクミン添加西洋型食を摂取したマウスの脂肪組織では、リン酸化がやや抑制されていることが明らかになった (図4)。

一方、3678 遺伝子の発現はケルセチンでのみ変動した。これらの遺伝子発現変化は主として西洋型食によるマクロファージ等の免疫細胞の増加や活性化の抑制を示していた。(図4(1))。また、ケルセチン及びクルクミンに共通して変動する 1547 遺伝子の発現変化は、主として免疫細胞の増加・活性化及び酸化ストレスを抑制することを示していた (図4(1))。

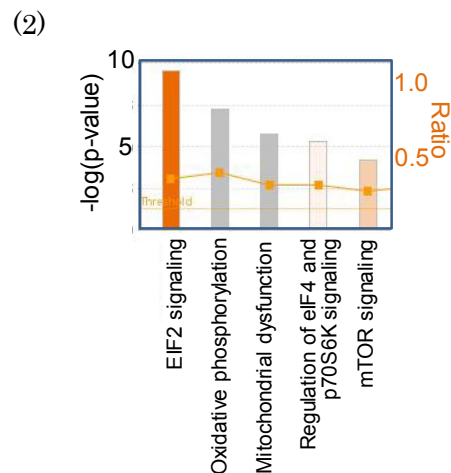
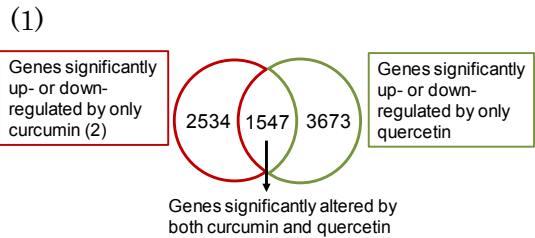


図4 クルクミン及びケルセチンが西洋型食を摂取したマウスの精巣上体周囲脂肪組織の遺伝子発現変化に及ぼす影響

C57/BL6J マウスにコントロール食、西洋型食及び 0.1%クルクミン添加西洋型食または 0.05%ケルセチン添加西洋型食をそれぞれ摂取させ、精巣上体脂肪組織の遺伝子発現を網羅解析し、クルクミンで変動する遺伝子発現とケルセチンで変動する遺伝子発現を比較して、パスウェイ解析ソフトを用いて解析した。

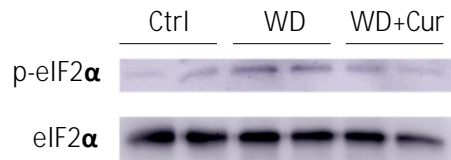


図5 クルクミンは西洋型食による精巢上体周囲脂肪組織のeIF2αのリン酸化を抑制する

C57/BL6Jマウスにコントロール食、西洋型食及び0.1%クルクミン添加西洋型食を摂取させ、精巢上体脂肪組織のeIF2α及びリン酸化eIF2αをウェスタンブロット法により測定した。

ケルセチンは肝臓においては脂質代謝に関わるPPARαの遺伝子発現を誘導して脂質の代謝を誘導し、血中脂質濃度を低下させ更には内臓脂肪組織への脂肪蓄積を抑制する。酸化ストレスの抑制に加えて脂肪蓄積を抑制することにより、内臓脂肪組織の慢性炎症を抑制すると考えられた。一方、クルクミンの肝臓のPPARαの発現誘導作用は弱い。脂肪組織の脂質の網羅解析やRT-PCR法を用いた遺伝子発現解析を含めて検討した結果、クルクミンの内臓脂肪蓄積抑制作用は弱いが、内臓脂肪組織において脂肪合成を抑制し、酸化ストレスや小胞体ストレスを抑制して、メタリックシンドロームの改善に働くことが示唆された。以上のように、抗酸化成分のクルクミン及びケルセチンの内臓脂肪組織の慢性炎症抑制機構の違いが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Masuko Kobori, Yumiko Takahashi, Hiroaki Takeda, Masatomo Takahashi, Yoshihiro Izumi, Yukari Akimoto, Mutsumi Sakurai, Hideaki Oike, Toshiyuki Nakagawa, Masanori Itoh, Takeshi Bamba, Toshiyuki Kimura, Dietary Intake of Curcumin Improves eIF2 Signaling and Reduces Lipid Levels in the White Adipose Tissue of Obese Mice. *Scientific Reports* 8, 9081 (2018)

Masuko Kobori, Yumiko Takahashi, Mutsumi Sakurai, Yukari Akimoto, Tojiro Tshida, Hideaki Oike, Katsunori Ippoushi, Quercetin suppresses immune cell accumulation and improves mitochondrial gene expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Molecular Nutrition & Food Research* 60(2) (2016)
査読有 doi: 10.1002/mnfr.201500595

〔学会発表〕(計7件)

Masuko Kobori, Yumiko Takahashi, Hiroaki Takeda, Masatomo Takahashi, Yukari Akimoto, Mutsumi Sakurai,

Hideaki Oike, Yoshihiro Izumi, Takeshi Bamba, Toshiyuki Kimura, Curcumin alters gene expression and lipid profiles in visceral adipose tissue of diet-induced obese mice. 46th Annual Meeting of Food and Agriculture Panel, US-Japan Cooperative Program in Natural Resource 2017.11 広島

Masuko Kobori, Yumiko Takahashi, Hiroaki Takeda, Masatomo Takahashi, Yukari Akimoto, Mutsumi Sakurai, Hideaki Oike, Yoshihiro Izumi, Takeshi Bamba, Toshiyuki Kimura, Effect of the antioxidant curcumin on transcriptome and lipid profiles in visceral adipose tissues of diet-induced obese mice. ISNFF2017 The International Conference and Exhibition on Nutraceutical & Functional Foods 2017.10 韓国

小堀真珠子、高橋弓子、秋元由香里、桜井睦、大池秀明、木村俊之、クルクミンが食餌性肥満モデルマウスの精巢上体脂肪組織に及ぼす影響、日本農芸化学会2017年度大会、2017.3 京都

Masuko Kobori, Effects of curcumin and quercetin on diet-induced obesity and metabolic syndrome in mice. 45th United State-Japan Cooperative Program in Natural Resources (UJNR) Food and Agriculture Panel Meeting 2016.11 ハワイ

Masuko Kobori, Dietary quercetin suppresses inflammation of visceral adipose tissue and improves metabolic syndrome in diet-induced obese mice. 7th Annual Conference American Council for Medicinally Active Plants 2016.6 ペルー

小堀真珠子、高橋弓子、桜井睦、秋元由香里、大池秀明、一法師克成、ケルセチンの摂取は食餌性肥満モデルにおける精巢上体脂肪組織の炎症を抑制する、日本農芸化学会2016年度大会、2016.3 北海道

Masuko Kobori, Quercetin suppresses the accumulation of immune cells in epididymal adipose tissues of diet-induced obese mice. International Conference on Food Factors (ICoFF2015) 2015.11 韓国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小堀 真珠子 (KOBORI Masuko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・ユニット長

研究者番号：50353941