

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007 年度～2008 年度
 課題番号：19780091
 研究課題名（和文）メタボリックシンドローム予防素材としてのプラズマローゲンの生理作用の解明
 研究課題名（英文）Study of physiological function of plasmalogen for prevention of metabolic syndrome
 研究代表者
 西向 めぐみ（NISHIMUKAI MEGUMI）
 北海道大学・大学院農学研究院・博士研究員
 研究者番号：40374730

研究成果の概要：プラズマローゲンはリン脂質の一種で、リポタンパク質中の生理的な抗酸化因子であり、動脈硬化症やアルツハイマー病と深く関わっていると考えられている。今回の内臓脂肪細胞を用いた *in vitro* での検討で、摂取、吸収されたプラズマローゲンは他の脂質（中性脂質、その他リン脂質）の場合に比べ、内臓脂肪細胞の脂肪蓄積に抑制的に働くこと、さらにアディポネクチンの放出増加など、アディポサイトカイン放出に関与することが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	0	1,800,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	450,000	3,750,000

研究分野：食品科学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：プラズマローゲン、内臓脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

食の欧米化、生活スタイルの変化とともに増加している肥満は、メタボリックシンドローム（高脂血症、高血圧、糖尿病）の主要素であり、生活習慣病の発症と深く関係している。メタボリックシンドローム発症原因として、脂肪過剰蓄積による細胞内活性酸素産生により、内臓脂肪のアディポサイトカイン（アディポネクチン、レジスチン、レプチン、TNF- α など）の産生バランスが異常になることが指摘されている。

我々はこれまでに抗酸化性リン脂質であるプラズマローゲンを食事として摂取した場合、血中・リンパ液中のプラズマローゲ

ン濃度を上昇させること、また、イノシトールの摂取によって血中または肝臓中のプラズマローゲン濃度を顕著に上昇させ、さらにヒトにおいてはプラズマローゲンの血中濃度上昇とともに、高脂血症や内臓脂肪蓄積を特徴とするメタボリックシンドロームの改善がみられることを示唆してきた。プラズマローゲンは生物界に広く、また比較的多く存在するリン脂質のサブクラスで、グリセロールの 1 位にビニルエーテル結合を持つリン脂質である。脳や心筋に比較的多く存在し、これらの組織では総リン脂質の 20%以上を占める脂質であるが、その機能性については内外的にはまだ未知の部分

が多い。摂取または体内で合成されたプラズマローゲンはカイロミクロン等のリポタンパク質に取り込まれ、効率よくリポタンパク質中のコレステロールの酸化を抑制できることから、血中のプラズマローゲン量の増加は動脈硬化症の予防にも有効であると考えられる。さらに、リポタンパク質中のプラズマローゲンは脂肪細胞に到達して細胞内に取り込まれるため、プラズマローゲンの抗酸化作用を介して、過酸化状態にある脂肪細胞機能を正常化させる効果が期待できる。

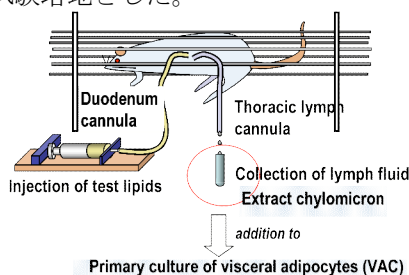
2. 研究の目的

(1) 吸収されたプラズマローゲンが内臓脂肪細胞へ与える影響～実際に体内へ取り込まれた脂質であるカイロミクロンを含むリンパ液を脂肪細胞へ添加し、その際のアディポサイトカインの分泌を検討することによって、生体内により近い状態での脂質と脂肪細胞の関係を評価する。

(2) 体内で合成されたプラズマローゲンが脂肪細胞に与える影響～プラズマローゲン体内プール増加物質を投与したラットの血清中の脂質が脂肪細胞に与える影響を検討する。

3. 研究の方法

(1) 吸収されたプラズマローゲンが内臓脂肪細胞へ与える影響～胸管リンパ管にカテーテルを挿入したラットに、牛脳から抽出したプラズマローゲン含有リン脂質画分を含む脂質（プラズマローゲン含有 20%）、比較対照として大豆油のみ、または大豆コリンリン脂質を含む 10%脂質エマルジョンを投与し、脂質投与後のリンパ液を回収した。回収したリンパ液は遠心分離（10,000rpm、30分）でカイロミクロン画分を回収し、カイロミクロン濃度（中性脂質濃度で換算）が 0.1%または 0.5%になるように培地に添加し、試験培地とした。



この時、プラズマローゲン含有牛脳リン脂質画分を含む脂質を投与したラットから回収したカイロミクロン中のプラズマローゲン濃度は1%であった。前駆脂肪細胞(VAC, VA culture Kit, Primary Cell Co., Ltd.)を24穴プレートに播種、4日後コンフルエントの状態になった内臓脂肪細胞に、カイロミクロンを含む試験培地を添加して培養し

た。48時間後、培養上清を回収し、培養細胞中の中性脂質量、培養上清中のアディポサイトカイン濃度を測定した。次にカイロミクロン添加量を0.5%に固定し、12、24、48時間後の培養上清中のアディポサイトカイン濃度を測定した。

(2) 体内で合成されたプラズマローゲンが脂肪細胞に与える影響～プラズマローゲン体内プール増加物質としてイノシトールを用いた。AIN93Gに準拠した基本食に2.5%または5%のイノシトール添加した餌を10日間摂取させ、採血し、血清を得た。培養細胞の培地に使用するウシ血清の代わりにラットから採取した血清を培地に添加し、試験培地とした。前駆脂肪細胞(VAC, VA culture Kit, Primary Cell Co., Ltd.)を24穴プレートに播種、4日後コンフルエントの状態になった内臓脂肪細胞に、ラット血清を含む試験培地を添加して培養した。48時間後、培養上清を回収し、培養細胞中の中性脂質量、培養上清中のアディポサイトカイン濃度を測定した。

4. 研究成果

(1) 吸収されたプラズマローゲンが内臓脂肪細胞へ与える影響～カイロミクロン添加後の内臓脂肪細胞への脂質の蓄積量を Fig.1 に示した（対照はカイロミクロンを添加していない群）。添加したカイロミクロン量に比例して、脂肪蓄積量は増加し、牛脳リン脂質群において、比較対照である大豆油群に比べ、蓄積は少なく、0.5%添加では有意であった。大豆コリンリン脂質群でも減少傾向がみられた。

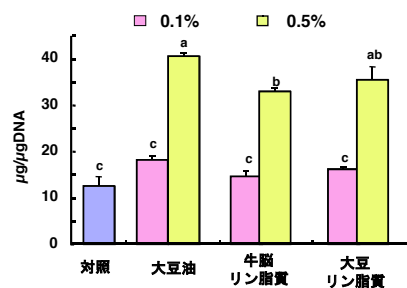


Fig.1 カイロミクロン添加48時間後の内臓脂肪細胞への脂質蓄積の比較

次に、脂肪蓄積量に差の見られたカイロミクロン0.5%を添加したときのアディポサイトカイン放出量の経時変化を検討した。Fig.2 にアディポネクチン、レジスチンの結

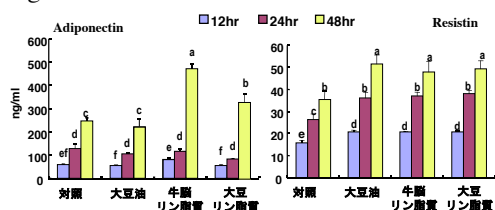


Fig.2 カイロミクロン添加12,24,48時間後の脂肪細胞からのアディポサイトカイン放出量

果を示した。培養上清中のアディポネクチン放出量は時間の経過とともに増加し、対照群に比べリン脂質添加群で高く、特に牛脳リン脂質添加群で高い値を示した。レジスチンは経時的に増加し、脂質添加群において対照に比べ増加したが、脂質の種類による差は見られなかった。レプチンも同様の結果であった。

今回の検討では、リン脂質を摂取したラットカイロミクロンの内臓脂肪細胞への添加で、脂肪細胞への脂肪の蓄積が抑制され、アディポネクチンの放出が促進された。特に、プラズマローゲンでの影響が強かった。

(2) 体内で合成されたプラズマローゲンが脂肪細胞に与える影響～イノシトールの添加により、血中のプラズマローゲン濃度は基本食群に比べ上昇した(Fig.3)。Fig.3はLC-MS/MS法を用いて測定した結果を示している。コリン型、エタノールアミン型、各々6種類経2種類の分子種の合計量で、含有比としてはsn-2位にアラキドン酸が結合しているものが多かった。また、血中中性脂質濃度、肝臓中のコレステロール濃度、中性脂質濃度は減少していた。

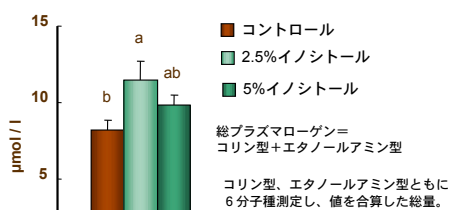


Fig.3 イノシトール摂取時の血清プラズマローゲン濃度

このプラズマローゲン濃度の増加が見られた2.5%イノシトール摂取時の血清をウシ血清の代わりに培地(イノシトール血清群)に加え、内臓脂肪細胞に添加して培養した。

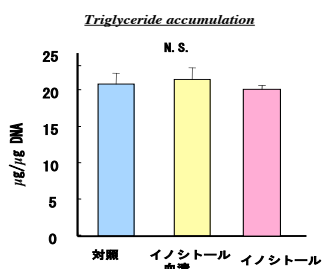


Fig.4 血清またはイノシトール添加後の内臓脂肪細胞への脂質蓄積

対照は通常通りウシ血清を、イノシトールは対照にイノシトールを1mMになるように添加したものである。内臓脂肪細胞への脂肪蓄積には、イノシトール摂取群の血清添加で影響は無かった(Fig.4)。培養上清中のアディポネクチン放出量にも差は見られな

かった。培養上清中のレプチン放出量は有意差は見られなかったが、イノシトール摂取群血清添加でやや上昇した(Fig.5)。イノシトールそのものの添加による影響は1mMでは見られなかった。

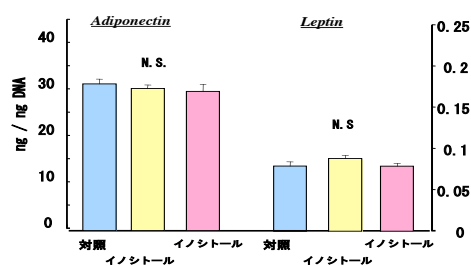


Fig.5 血清またはイノシトール添加後の内臓脂肪細胞からのアディポサイトカイン放出

今回の内臓脂肪細胞を用いたin vitroでの検討で、摂取、吸収されたプラズマローゲンは他の脂質(中性脂質、その他リン脂質)の場合に比べ、内臓脂肪細胞の脂肪蓄積に抑制的に働くこと、さらにアディポネクチンの放出増加など、アディポサイトカイン放出に関与することが示唆された。また、前年度と今年度の結果より、体内で合成されたプラズマローゲンよりも、摂取したプラズマローゲンの方が、脂肪細胞への影響が大きいと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

- ① Nishimukai Megumi, Watanabe Jun, Wasaki Jun, Hara Hiroshi, Ito Susumu: Effects of epilactose on calcium absorption and serum lipid metabolism in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10340-10345, 2008, 査読有り
- ② Watanabe Jun, Nishimukai Megumi, Wasaki Jun, Hara Hiroshi, Ito Susumu: Prebiotic properties of epilactose. *Journal of Dairy Science*, 91, 4518-4526, 2008, 査読有り
- ③ Minamida Kimiko, Ota Kyohei, Nishimukai Megumi, Tomita Fusao, Hara Hiroshi, Asano Kojo: *Asaccharobacter celatus* gen. nov., sp. nov., isolated from rat caecum. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58, 1238-1240, 2008, 査読有り
- ④ Nishimukai Megumi, Hara Hiroshi, Soybean phosphatidylcholine-induced enhancement of lymphatic absorption of triglyceride depends on chylomicron formation in rats.

Bioscience Biotechnology and Biochemistry,
71(5), 1192-1197, 2007, 査読有り

⑤ Ito Shigeki, Taguchi Hidenori, Hamada Shigeki, Nishimukai Megumi, Ito Susumu, Matsui Hirokazu (10名中8番目), Enzymatic properties of cellobiose 2-epimerase from *Ruminococcus albus* and the synthesis of rare oligosaccharides by the enzyme. *Applied Microbiology and Biotechnology* 79(3), 433-441, 2008, 査読有り

〔学会発表〕(計3件)

① 西向めぐみ、抗酸化リン脂質 plasmalogen のリンパ吸収動態の解析、第50回日本脂質生化学会、2008年6月5・6日、徳島

② 後藤美紀子、西向めぐみ、前場良太、原博、myo-イノシトール摂取が誘導する血漿中リン脂質亜分画プラズマローゲン濃度増加の LC-MS/MS による解析、第7回日本栄養改善学会北海道支部、2008年11月29日、札幌

③ 渡辺雄大、西向めぐみ、抗酸化脂質 plasmalogen のリンパ吸収、日本脂質栄養学会、2007年8月31日、出雲

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称：生体内のプラズマローゲン増加剤
発明者：前場良太、原博、西向めぐみ、山崎裕也、根津亨
権利者：株式会社 ADEKA、北海道大学
種類：特許出願
番号：2008-205042
出願年月日：平成20年8月8日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

西向めぐみ (NISHIMUKAI MEGUMI)
北海道大学・大学院農学研究院・博士研究員
研究者番号：40374730

(2)研究協力者

原博 (HARA HIROSHI)
北海道大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：70198894