

機関番号：11101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21780119

研究課題名（和文）脂肪細胞の脂質代謝及び糖代謝を調節するキサントフィルの探索

研究課題名（英文）Regulating lipid and glucose metabolism in adipocyte cells by xanthophyll contained in natural products.

研究代表者

前多 隼人（MAEDA HAYATO）

弘前大学・農学生命科学部・助教

研究者番号：80507731

研究成果の概要（和文）：脂肪細胞での脂質代謝、糖代謝を調節する農林水産物に含まれるキサントフィルの探索をおこなった。その結果、コマツナなどに含まれるネオキササンチンや、パプリカに含まれるキサントフィルが脂肪細胞の脂質代謝、糖代謝に関わるアディポサイトカインの発現を調節する作用を示すことを明らかにした。また、これらの作用が脂肪細胞内の核内受容体のリガンド作用によるものであることを示した。

研究成果の概要（英文）：This study was investigated the effects of regulating lipid and glucose metabolism in adipocyte cells by xanthophyll. Neoxanthin and some xanthophyll contained in Paprika had efficacy as a metabolic syndrome therapeutic materials by regulating adipocytokine expression.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食品機能、脂肪細胞、カロテノイド、キサントフィル、アディポサイトカイン

1. 研究開始当初の背景

緑黄色野菜、海産物などの食品の中には赤や黄色の色素であるカロテノイドが含まれている。カロテノイドの中でも酸素分子を含む極性基を持つものはキサントフィルと呼ばれている。これまでの研究でワカメなどの褐藻類に含まれるキサントフィルの一種であるフコキササンチンは、他の食品成分とは異なる特徴的な生理作用を示すことを明らか

にしてきた。フコキササンチンは脂肪細胞に働きかけ、脂質代謝の亢進や、糖代謝の調節をおこない、肥満に伴う疾患を効果的に予防、改善する。一方、海藻以外の農林水産物にもフコキササンチンに類似した構造を持つキサントフィルが広く存在している。本研究では農林水産物中に含まれるキサントフィルによる脂肪細胞を介した肥満に関係する疾患の予防、改善作用について検討をおこなった。

特にキサントフィルによる脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインの分泌調節による脂質代謝、糖代謝の改善作用と、その分泌調節の作用メカニズムの解明に注目した。これにより、フコキサンチンのような機能性に優れた、新規のメタボリックシンドロームの予防食品素材の開発を目指した。

2. 研究の目的

- (1)脂肪細胞への脂肪蓄積抑制効果の高いキサントフィルを農林水産物から探索した。また、特に強い効果を示すキサントフィルの食品中の含有量について、測定をおこなった。
- (2)キサントフィルによる脂肪細胞から分泌されるインスリン抵抗性の惹起に関するアディポサイトカインの分泌調節作用について評価した。
- (3)脂質代謝、糖代謝調節作用について、肥満状態の脂肪細胞のモデルである脂肪細胞とマクロファージの共培養系で評価し、キサントフィルによる糖代謝改善作用について明らかにした。
- (4)*in vitro*による評価の結果、効果の高かったキサントフィルについて、肥満モデルマウスに投与し、内臓脂肪蓄積抑制効果や血漿成分の改善効果について検討をおこなった。

3. 研究の方法

- (1)農林水産物に含まれる代表的なキサントフィルの含有量について、HPLCを用いて定量をおこなった。
- (2)マウス由来 3T3-L1 前駆脂肪細胞を脂肪細胞へと分化誘導をおこない、その過程においてキサントフィルを添加し、脂肪細胞の分化に与える効果についてオイルレッド O 法や GPDH(グリセロール-3-リン酸脱水素酵素)活性を測定することで評価した。また、脂肪細胞の分化の過程において発現量が増加する PPAR γ の発現量の変化について測定した。
- (3)3T3-L1 脂肪細胞に対してキサントフィルを添加し、インスリン抵抗性の惹起や脂質代謝調節に関与する脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインの発現量の変化について、リアルタイム RT-PCR 法や ELISA 法にて評価した。
- (4)3T3-L1 脂肪細胞とマウス由来 RAW264.7 マクロファージ様細胞を共培養し、肥満状態の脂肪細胞のモデル系を構築した。このモデル系にキサントフィルを添加し、脂肪細胞での慢性炎症状態に関与する TNF- α や IL-6、MCP-1 などの炎症系サイトカイン発現抑制作用についてリアルタイム

RT-PCR 法にて評価した。

- (5)糖尿病肥満モデルマウスである KK-*A*^y マウスに対して、*in vitro*の実験で効果の高かったキサントフィルを投与し、脂質代謝、糖代謝改善作用について評価した。また、食事性肥満のモデルとして、正常マウスである C57BL/6J マウスに高脂肪食とともにキサントフィルを含む飼料を投与し、脂肪蓄積に与える影響や、脂質代謝亢進に関与する遺伝子の発現量の変化について測定をおこなった。
- (6)キサントフィルによる、脂肪細胞の核内転写因子である PPAR γ のリガンド作用について、レセプター/コアクチベーター・リガンドバイディングアッセイにて評価した。

4. 研究成果

- (1)緑黄色野菜に含まれるキサントフィルによる 3T3-L1 脂肪細胞の分化に与える影響について検討した。その結果、コマツナなどに含まれるネオキササンチンを添加した細胞では GPDH 活性が抑制された。また脂肪細胞に特徴的な核内転写因子である PPAR γ の発現量が抑えられた。このことからネオキササンチンは分化抑制効果を示すことが明らかとなった(図 1)。

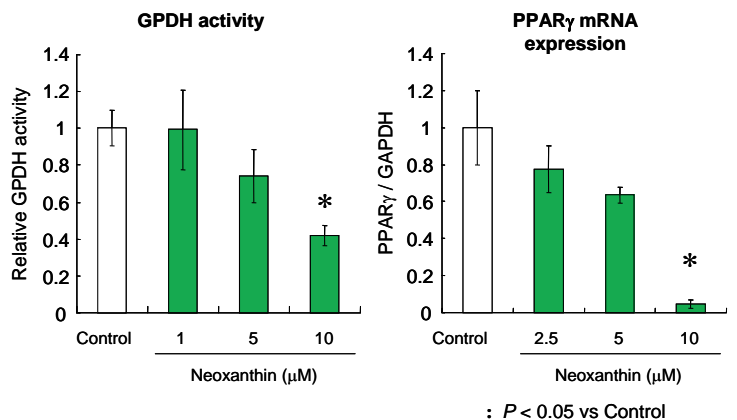
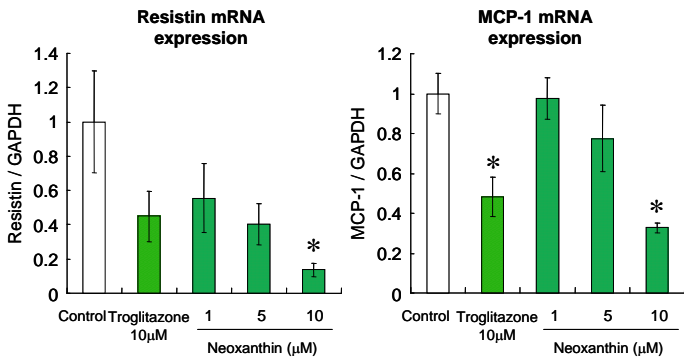


図 1 Neoxanthin による脂肪細胞分化抑制作用

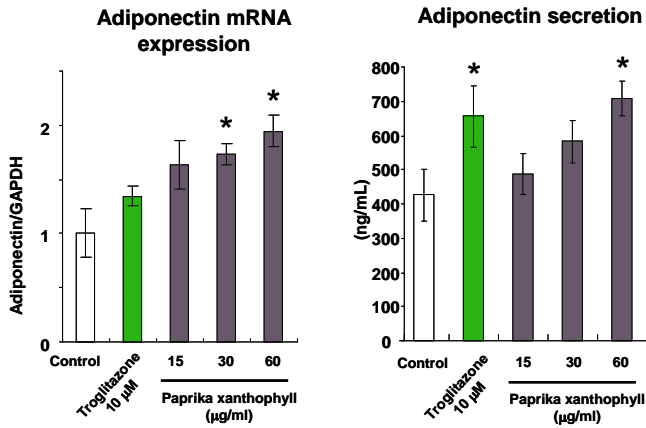
- (2)ネオキササンチンを 3T3-L1 脂肪細胞に添加したところ、インスリン抵抗性の惹起に関するレジスチンや MCP-1 の mRNA 発現量、およびタンパク質の分泌量が抑えられた。このことからネオキササンチンは脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインの発現を調節し、糖代謝を改善する作用があることが示唆された(図 2)。



* : $P < 0.05$ vs Control

図2 Neoxanthinによる脂肪細胞でのアディポサイトカインの発現調節作用

(3)パプリカに含まれるキサントフィルが脂肪細胞から分泌されるインスリン抵抗性改善に関するアディポネクチンの分泌を促進することが明らかにした(図3)。また、逆にインスリン抵抗性惹起に関するアディポサイトカインの分泌を強く抑制することが示された。



* : $P < 0.05$ vs Control

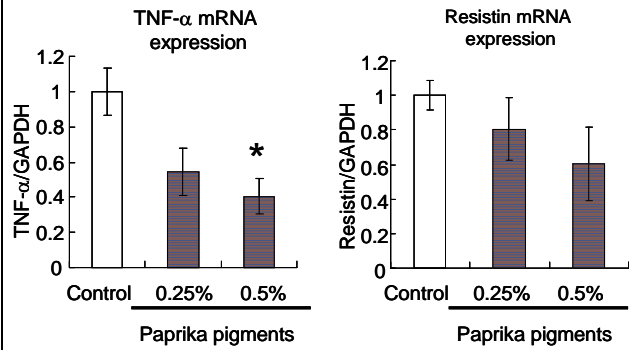
図3 パプリカに含まれるキサントフィルによるアディポネクチン分泌促進作用

(4)3T3-L1 脂肪細胞とマクロファージの共培養系を用いて、肥満による慢性炎症状態の脂肪細胞に対する炎症性サイトカインの発現調節作用について検討した。その結果、パプリカに含まれるキサントフィルはTNF- α 、IL-6、MCP-1などの炎症性サイトカインの発現を強く抑える効果を示すことが明らかとなった(図4)。

	Control	Troglitazone 10 µM	Paprika xanthophyll (µg/ml)		
			15	30	60
IL-6	1.00±0.24	0.78±0.05	0.41±0.02*	0.38±0.08*	0.24±0.02*
MCP-1	1.00±0.17	0.43±0.14*	1.06±0.29	0.72±0.07*	0.51±0.03*
TNF- α	1.00±0.09	0.56±0.08*	0.86±0.07	0.75±0.05	0.65±0.05*

図4 パプリカに含まれるキサントフィルによる炎症性サイトカインの発現抑制作用

(5)(4)の結果を踏まえ、パプリカキサントフィルをKK- A^y マウスに投与したところ、脂肪組織でのTNF- α 、レジスチンの発現量が抑えられた(図5)。また、血漿中の濃度も低下した。このことから、パプリカに含まれるキサントフィルは肥満によるインスリン抵抗性を改善する作用があることが示唆された。



* : $P < 0.05$ vs Control

図5 パプリカキサントフィルを投与したKK- A^y マウスの白色脂肪組織でのTNF- α 、ResistinのmRNA発現量

(6)C57BL/6Jマウスに、高脂肪食とともに褐藻類に含まれるキサントフィルであるフコキサンチンを投与した。その結果、内臓脂肪が有意に減少し、脂肪細胞での脂質代謝亢進に関わるUCP1の発現が上昇した。また、UCP1の発現に関する遺伝子の上昇が認められた。また、インスリン抵抗性の惹起に関するアディポサイトカインの白色脂肪組織での発現量が抑えられた。

(7)脂肪細胞でのアディポサイトカイン調節作用が認められたキサントフィルについて、脂肪細胞の核内転写因子のリガンド活性について評価した。その結果、リガンド活性が認められた。このことから、これらのキサントフィルはリガンドとして作用し、脂肪細胞での脂質代謝、糖代謝を調節する作用を示すことが示唆された。

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 3 件)

①Miyashita K, Maeda H, Okada T, Abe M, Hosokawa M. Anti-obesity and anti-diabetic effects of allenic carotenoid, fucoxanthin. *agro Food industry hi-tech*, 21, 24-27 (2010) 査読有

②前多隼人, 東小太郎. 機能性食品素材としての雑海藻の高度利用. *ニューフードインダストリー*, 52, 33-40 (2010)

③ Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Murakami-Funayama K, Miyashita K. Anti-obesity and anti-diabetic effects of fucoxanthin on diet induced obesity conditions in murine model. *Molecular Medicine Reports*, 2, 897-902 (2009) 査読有

[学会発表] (計 7 件)

①前多隼人, 阿部美菜子, 細川雅史, 宮下和夫, 片方陽太郎. 脂肪細胞での脂質代謝に及ぼす小松菜色素成分の効果. 日本農芸化学会 2011年度大会, 2011年3月27日 (京都市)

②山崎真央, 前多隼人, 中田辰男, 内沢秀光, 片方陽太郎. クロモジ精油の生理作用に関する研究. 日本農芸化学会 2011年度大会, 2011年3月27日 (京都市)

③前多隼人, 阿部美菜子, 斎藤修一, 片方陽太郎, 細川雅史, 宮下和夫. パプリカカロテノイドによる脂肪細胞でのアディポサイトカイン分泌調節作用. 第 15 回日本フードファクター学会学術集会, 2010年10月4日 (仙台市)

④山崎真央, 前多隼人, 中田辰男, 内沢秀光, 片方陽太郎. クロモジの精油による抗がん・抗炎症作用. 日本農芸化学会 東北支部・北海道支部合同支部大会, 2010年9月28日 (仙台市)

⑤前多隼人. 中鎖脂肪酸トリアシルグリセロールによるカロテノイドの機能性向上効果の検討~機能性食品素材としての利用法の確立~. 日本油化学会第 49 回年会, 2010年9月15日 (函館市)

⑥阿部美菜子, 斎藤修一, 片方陽太郎, 細川雅史, 宮下和夫, 前多隼人. パプリカカロテノイドによる脂肪細胞でのアディポサ

イトカイン分泌調節作用. 日本油化学会第 49 回年会, 2010年9月15日 (函館市)

⑦阿部美菜子, 斎藤修一, 片方陽太郎, 細川雅史, 宮下和夫, 前多隼人. パプリカ色素による脂肪細胞での脂質代謝・糖代謝改善作用. 日本農芸化学会 2010 年度大会, 2010年3月28日 (東京都)

[図書] (計 1 件)

前多隼人, 細川雅史. シーエムシー出版, カロテノイドの科学と最新応用技術 2-12 章 アレンカロテノイドの機能性, 201-210 (2009)

[その他]

ホームページ等

弘前大学農学生命科学部 生物資源学科
食料開発コース 前多隼人

<http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/kohou2/public/oyo/h.maeda/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前多隼人 (MAEDA HAYATO)

弘前大学・農学生命科学部・助教

研究者番号: 80507731