

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 17 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580148

研究課題名（和文）ホップ由来プロシアニジン及びその低分子化プロシアニジンの肥満予防機能の解明

研究課題名（英文）Elucidation of anti-obesity effects of hop procyanidins or its depolymerized compounds

研究代表者

長田 恭一（OSADA KYOICHI）

明治大学 農学部 准教授

研究者番号：30271795

研究成果の概要（和文）：

ホップの搾りかすには高分子のプロシアニジン化合物が多く存在するが、その生理機能は不明である。そこで、肥満を呈して糖尿病を発症するラットにホップの搾りかすポリフェノール（HP）を摂取させた。その結果、白色脂肪組織重量の増大が抑えられて体重の増大が HP を含まない対照食を摂取したラットよりも低くなった。また、生体内のトリグリセリド濃度も HP の摂取で低くなった。HP の摂取で肝臓の脂肪酸合成酵素の活性が低くなること、また、食餌脂肪と糖質の吸収を阻害することが肥満抑制作用の機序であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Hop (*Humulus lupulus* L.) pomace contains procyanidin-rich polyphenols, large oligomeric compounds of catechin. Effect of high dose (1%) of dietary hop pomace polyphenols (HP) in OLETF rats, an animal model of type 2 diabetes, was studied. The rats fed HP tended to have a lower body weight and reduced white adipose tissue weight than the rats fed a control diet. Triglyceride levels in both plasma and liver tended to be lower in the HP fed group than in the control group. Thus, dietary HP may exert anti-obesity effect through the ameliorative function on hepatic fatty acid metabolism and inhibition of fat and glucose absorption from intestine.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|---------|--------|---------|
| 2010 年度 | 1000000 | 300000 | 1300000 |
| 2011 年度 | 1700000 | 510000 | 2210000 |
| 2012 年度 | 500000 | 150000 | 650000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3200000 | 960000 | 4160000 |

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：ホップ、ポリフェノール、プロシアニジン、肥満、糖尿病、脂質代謝、ラット、抗酸化

1. 研究開始当初の背景

種々のポリフェノール類の生理活性に関しては、とくに、茶カテキンを中心に、様々な生理機能が立証され、特定保健用食品の素材として、社会的に認知されるものが出てきている。申請者は、これまでに、りんご未熟果実に多く含まれる 2-4 量体のプロシアニジン化合物の脂質代謝調節作用や肥満予防機能を明らかにしてきた。しかし、高分子プロシアニジン化合物の生理作用や代謝については未だに明確化されていない。最近になって、ビール製造時に廃棄されるホップの搾りかす中に存在するポリフェノール類の中に、8 量体以上の高分子プロシアニジン化合物が高濃度に存在することが明らかにされたが、そのような高分子プロシアニジン化合物の生理活性については安全性を含めて未知であり、食品として利用されていない。さらに、高分子プロシアニジン化合物を分解して生体利用率の高い 2-4 量体を作成する技術も最近明らかにされている。そこで、申請研究では、このような未利用のホッププロシアニジンあるいはその低分子化プロシアニジンが発揮する生理活性について、とくに、生活習慣病に関わりの深い肥満や血圧上昇の予防作用、糖尿病発症の遅延作用について明確化し、それらの機能発揮メカニズムまで明らかにすることを企画した。本研究により、ホッププロシアニジンがメタボリックシンドローム発症の予防に資する食品素材であることが立証され、さらにはその低分子化プロシアニジンの機能性も明らかとなり、わが国の国民健康の維持、増進に貢献できる新しい知見が得られると考えた。

2. 研究の目的

ホップ搾りかすに存在するカテキン重合体の高分子プロシアニジンの肥満抑制機能ならびに糖尿病発症抑制作用を調べることを

目的とした。すなわち、ホップ由来プロシアニジンを食事で肥満を誘発した動物および遺伝的に肥満、糖尿病、高血圧を発症する動物に摂取させ、食事脂肪の消化と吸収の阻害、肝臓での脂質代謝調節による肥満と糖尿病予防機能を明らかにする。また、その機能発現メカニズムについても明らかにする。最終的に、ホッププロシアニジンがメタボリックシンドローム発症予防に寄与する食事成分であることを明示することを最終目標とした。

3. 研究の方法

- (1) レプチンレセプターが欠損し、遺伝的に肥満が誘導されるラット (Zucker Fatty Rat) を用い、ホップポリフェノール (HP) の濃度を変えて投与して生理効果の濃度への依存性とホップポリフェノールの摂取至適濃度を検証した。5 週齢雄 Zucker Fatty ラットに HP をそれぞれ 0.2%、1.0% 添加した 25% コーン油含有 AIN93G 純化飼料をそれぞれ 85 日間、摂取量に差がでないようにペアーフィーディング条件で投与した。
- (2) 肥満と糖尿病を発症する OLETF ラットに対して、HP を含む飼料を摂取させた場合の肥満抑制ならびに糖尿病発症遅延効果について検証した。4 週齢のオス OLETF および LETO (NC 群) ラットを 1 週間予備飼育した後、油脂源としてラード 2% とハイオレイックサフラワー油 5% を含む AIN93 純化飼料に HP (H 群) を 1% 添加 (対照は無添加 = C 群) したものを与え摂取量に差が生じないようにして飼育した。飼育期間中に体重、腹囲、血圧を測定し、飼育 70 日目にエーテル麻酔を施して腹部動脈より採血死させ、白色脂肪組織重量、脂質代謝パラメーターならびに糖尿病パラメーターを測定した。

(3) HPによる糖尿病発症予防効果について抗酸化作用に焦点を当てた。高血糖状態では、抗酸化酵素の失活や活性酸素種産生の亢進によって酸化ストレスが増大する。この酸化ストレスは膵臓β細胞のインスリン分泌やインスリン受容体の感受性を低下させるため、糖尿病状態が進行する大きな原因となる。そこで、ストレプトゾトシン (Stz) を腹腔投与して糖尿病を誘発させたラットを用いて、インスリン分泌低下に起因した糖尿病状態に対するHPの効果を検証した。Stzの投与量を変えることによって軽度と重度の糖尿病ラットを作製し、HPの摂取が肥満を介さずに起こる糖尿病に対してどのような効果を示すのかを検証した。

4. 研究成果

(1) 白色脂肪組織重量は対照の無ポリフェノール飼料を摂取した群と比較してHP摂取群は有意に低くなった。血清脂質成分については、トリグリセリド濃度は対照と比べ、HP摂取群は低い傾向にあった。肝臓脂質成分はHP摂取による変動はなかった。糖尿病パラメータの血清ヘモグロビンA1cレベルは対照と比べて、HP摂取で若干低くなった。肝臓の脂肪酸合成と分解のキー酵素の活性を測定したところ、脂肪酸合成系のFASは対照と比べて、HP摂取群では濃度に依存して活性が低くなる傾向にあった。G6PDHも対照と比べて、HP摂取群は活性が低くなる傾向にあった。一方、分解系のACOXは対照と比較してHP摂取群は濃度に依存して高くなる傾向にあった。このように、HP摂取により肥満に伴う糖尿病発症は遅延する可能性がある予想された。

(2) C群と比較して、H群は体重増加、腹囲増

大、脂肪組織重量の増加はいずれも抑えられた。血圧の上昇もC群と比べてH群は59日目では低くなった。血漿中のトリグリセリドと総コレステロールレベルはC群と比べてH群は低くなり、HDL-コレステロールレベルは高くなった。そのため、動脈硬化指数はC群よりもH群は低くなった。また、飼育40日目の空腹時血糖値とヘモグロビンA1cの各レベルはC群と比べてH群は有意に低くなった。肝臓の脂肪酸合成系酵素活性はC群と比べてH群は有意に低くなった。β酸化系の酵素活性は、ばらつきが大きく明らかな違いは認められなかった。アディポサイトカインレベルは、レプチンとアディポネクチン各レベルに大きな違いはなかったが、MCP-1レベルはC群と比べてH群では有意に低くなった。このように、HPを摂取することによって、OLETFラットでは体重増加が抑えらるとともに糖尿病発症が遅延されることが明らかとなった。このように、HPは肥満予防食品素材であることが明らかとなった。

(3) 軽度糖尿病病態では、HPの摂取で若干ではあるが空腹時血糖値とインスリンレベルが改善された。また、HPの摂取によって血漿還元活性や各抗酸化酵素の活性が高くなった。よって、HPの摂取により抗酸化パラメータの改善を通じて軽度糖尿病の進行が抑えられると思われる。一方、重度糖尿病病態では、HP摂取による糖尿病パラメータと抗酸化パラメータの改善は認められなかった。以上の結果から、HPはインスリン分泌低下に起因した糖尿病の進行を抑えることが示されたが、その効果は肥満予防効果に比べて弱いことが明らかとなった。最後に、HPの抗糖尿

病作用の一因を調べるため、腸管からの脂肪と糖質の吸収に与える影響を検証した。その結果、HPは脂質ミセル形成や脂肪と糖質の消化酵素の活性を濃度依存的に阻害することが明らかとなった。さらに、反転腸管法により、HPがグルコースの腸管通過を阻害することを確認した。以上の結果から、HPの肥満および糖尿病に対する予防効果は、腸管からの脂肪と糖質の吸収阻害が一因であると考えられる。また、HPの腸管での消化吸収に及ぼす影響は、糖質よりも脂肪に対する作用の方が強いことも明らかとなった。

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. Kazuki Yui, Hiroki Uematsu, Keisuke Muroi, Kazuhiro Ishii, Minako Baba, Kyoichi Osada. Effect of dietary polyphenols from hop (*Humulus lupulus* L.) pomace on adipose tissue mass, fasting blood glucose, hemoglobin A1c and plasma monocyte chemotactic protein-1 levels in OLETF rats. *Journal of Oleo Science* 62: in press 2013 査読有
2. 東知宏, 長田恭一, 相倉悦子, 今坂浩, 半田正之. りんご未熟果実由来ポリフェノール摂取による肥満予防作用. *日本食品科学工学会誌* 60: 184-192 2013
3. 由井一希, 清藤文音, 長田恭一. キサントフォーム高含有ホップ抽出物による肥満抑制および抗高脂血症作用. *脂質生化学研究* 54: 190-193 2012 査読有

4. 照沼彰一郎、熊田紀子、長田恭一. 食事由来酸化コレステロールの脂質代謝攪乱作用に対するピタバスタチンとエゼチミブによる低減効果の解明 *脂質生化学研究* 53 155-158 2011 査読有

5. Sasaki Tasuku, Osada Kyoichi. Hepatic function and lipid metabolism are modulated by short-term feeding of cholesterol oxidation products in rats. *Journal of Oleo Science* 59: 503-507 2010 査読有

[学会発表] (計13件)

1. 由井一希、清藤文音、松菌飛鳥、長田恭一: キサントフォーム高含有ホップ抽出物の肥満抑制および脂質代謝改善作用 第3回機能油脂懇話会(20121121) 三浦市
2. 由井一希、清藤文音、長田恭一: キサントフォーム高含有ホップ抽出物の肥満抑制および脂質代謝改善作用について 日本食品科学工学会第59回大会(20120829) 藤女子大学
3. 由井一希、植松大樹、清藤文音、松菌飛鳥、池田さと美、森永真央、長田恭一: キサントフォーム高含有ホップ抽出物の糖尿病発症遅延効果および進行抑制作用 第66回日本栄養食糧学会(2012年0517) 東北大学
4. 長田恭一: 「脂質代謝研究の今日的话题」酸化コレステロールの生体有害性とその有害性を低減する食品成分と薬剤 第65回日本栄養食糧学会(20110515) お茶の水大学

5. 長田恭一：果実の機能性：ポリフェノールとセラミドの生理活性 日本農芸化学会東北支部平成 23 年度シンポジウム (2010709) 弘前大学
6. 植松大樹、由井一希、堀井大輔、清藤文音、長田恭一：ホップ抽出物の糖尿病予防作用に関する研究 平成 23 年度日本農芸化学会 (20120323) 京都女子大学
7. 植松大樹、堀井大輔、長田恭一：ホップおよびホップ搾りかす由来抽出物の糖尿病予防作用に関する研究 平成 23 年度日本食品科学工学会 2011.9.10 東北大学
8. 由井一希、清藤文音、長田恭一：キサントフォーム高含有ホップ抽出物は高脂肪食条件でラットの肥満を抑制する 平成 23 年度日本食品科学工学会 (20110910) 東北大学
9. 植松大樹、長田恭一：ホップポリフェノールの肥満及び糖尿病予防機能 日本栄養食糧学会 2010 年度大会. (20100515). 徳島大学
10. 由井一希、長田恭一：ホップポリフェノールの肥満及び糖尿病予防機能の解明 食品科学工学会 2010 年度大会. (20100910). 東京農業大学
11. 植松大樹、長田恭一：ホップポリフェノールの脂質代謝調節機能に関する研究 日本油化学会第 49 回年会. (20100916). 北海道大学
12. 植松大樹、長田恭一：ホップ抽出物の糖

尿病予防作用に関する研究” 日本農芸化学会 2010 年度大会. (20110327). 京都大学

13. 由井一希、長田恭一：ホップ絞り粕プロシアニジンの肥満及び糖尿病予防機能の解明 日本農芸化学会 2010 年度大会. (20110327). 京都大学

〔図書〕 (計 1 件)

1. 野田敏司, 志水恵子, 相場勇志, 長田恭一, 古賀泰裕. プロバイオティクスによるウイルス感染症予防へのトライアル. *In* 食と健康を支援する 第 2 集 (山田耕路編著) 一般社団法人生物機能研究所. 141-152 2011

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
長田 恭一 (研究代表)

研究者番号：30271795

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：