

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861860

研究課題名(和文)肥満皮膚障害に対する食事療法の確立-Gallic acidの有効性の評価-

研究課題名(英文) Establishment of dietary therapy for dermatological disorder of obesity -  
Evaluation of efficacy of gallic acid -

研究代表者

榎原 弘子 (Makihara, Hiroko)

横浜市立大学・医学研究科・嘱託員

研究者番号：00708696

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、肥満により皮膚障害が発症する現状が明らかになってきたが、その病態メカニズムや予防・治療法に関する研究は非常に少ない。しかしながら、皮膚の免疫組織としての役割や、皮膚障害によるQOLの低下を鑑みると、いち早くケアすることにより皮膚障害の発症を予防することが強く望まれる。

本研究では、抗酸化作用を有する天然成分Gallic acid (GA)の肥満皮膚障害予防効果について基礎的検討を行った。GAは肥満モデルマウスに対し、皮下組織における脂肪細胞の肥大化を抑制し、培養細胞を用いた解析では、脂肪細胞の分化を促進し善玉のサイトカインであるアディポネクチンの分泌を促進することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been reported that skin disorders tend to develop in obesity, but research on its pathophysiological mechanism and prevention is very few. The skin plays an important role as immune system, and declining QOL due to skin disorders is remarkable. So it is strongly desired to prevent the onset of skin disorders by taking care of it as soon as possible.

In this study, we investigated the preventive effect of Gallic acid (GA), the natural component having antioxidant effect, on obesity skin disorder. It was showed that GA inhibited hypertrophy of adipocytes in subcutaneous tissues on obese model mice. Furthermore and it is clear that analysis using cultured cells promotes adipocyte differentiation and promotes secretion of good cytokine adiponectin became.

研究分野：薬理学 薬物療法学

キーワード：肥満 皮膚障害 食事療法 Gallic acid

## 1. 研究開始当初の背景

肥満はメタボリックシンドロームなどの多くの疾患の原因として、その予防および治療法に関する研究が世界的な規模で取り組まれている。

近年では、疫学的な調査により、乾癬などの慢性皮膚疾患の発症や皮膚の炎症などが肥満者に多いということが分かってきている。しかしながら、他の疾患と比較し、病態メカニズムや予防・治療法に関する研究は非常に少ない。皮膚は身体の外表を覆い、微生物などの体内への侵入を防ぐバリアとしての機能を担っており、その免疫組織としての役割を鑑みると、いち早くケアすることによって皮膚障害の発症を予防することは健康維持の観点から非常に重要であるといえる。

## 2. 研究の目的

申請者はこれまでに、アーユルヴェーダ医学における伝統生薬 *Terminalia bellirica* の抗肥満作用を、肥満モデルマウスを使用した研究で報告し、その主要成分のひとつとして gallic acid (GA) を見出している。GA は植物中に豊富に含まれており、お茶や果実(イチゴ)などの食品から摂取することが可能であり、また強い抗酸化作用を有することが知られている。本研究は、申請者がこれまでの研究より見出した植物由来の成分 GA の多彩な薬理作用を、病態モデル動物や培養細胞を用いて検証し、肥満による皮膚障害に対する科学的根拠に基づく食事療法の開発へと速やかに応用することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 肥満による皮膚障害に対する GA の予防効果を検証するため、肥満病態モデルマウス (TSOD マウス) を用いて、GA の有効性を評価した。

3週齢の TSOD マウスおよび対照マウスである TSNO マウスを1週間馴化した後、それぞれコントロール群、GA 群 0.3% および 1.0% 混餌の3群(計6群)に分け、12週間、普通飼料または普通飼料に GA を添加した飼料を自由摂取させた。

### 抗肥満効果

1週間に一度、体重および摂餌量の測定を行った。

### 血液生化学検査

血液生化学検査によって肥満、糖代謝・脂質代謝の指標(グルコース、アディポネクチン、トリグリセリド、コレステロール、遊離脂肪酸)を評価した。

### 脂肪組織

組織学的変化については、ヘマトキシリン・エオジン染色を行ない、皮下組織における脂肪細胞のサイズを評価した。皮下脂肪における各種 mRNA 発現量 (peroxisome

proliferator-activated receptor; PPAR、アディポネクチンなど)を測定し、脂肪細胞の形質および炎症状態を評価した。

### 皮膚組織

ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、形態的な変化を評価した(真皮の菲薄化、皮下脂肪の肥厚、炎症状態)。さらに mRNA 発現量の測定(コラーゲン、エラスチン、MMP、TNF、IL-6)によって、皮膚組織の構造や酸化、炎症の指標を評価した。

(2) GA の脂肪細胞への作用メカニズムについて、マウス由来前駆脂肪細胞 (3T3-L1) を使用した *in vitro* 系の実験により、脂肪細胞の分化の過程における GA の作用点について解析を行なった。

## 4. 研究成果

(1) 肥満モデルマウスに対する GA の皮膚障害予防効果。

### 抗肥満効果

対照群の TSNO マウスと比較し、肥満モデル群の TSOD マウスでは、実験開始1週目以降より有意な体重増加が認められた。しかしながら、GA 混餌群では、TSNO、TSOD それぞれ普通飼料のコントロール群と比較し、有意な体重変動は認められなかった。

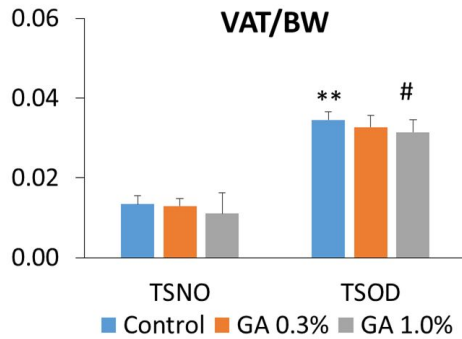
GA はこれまでに抗肥満作用についての報告があり、申請者らは抗肥満作用を介した皮膚障害予防を予測していた。しかしながら本研究では、有意な体重増加抑制は認められなかった。申請者らの以前の研究では、抗肥満作用および消化管からの脂質吸収阻害作用を有するアーユルヴェーダ生薬 *Terminalia bellirica* から、隣りパーゼ阻害作用を指標として活性成分の GA を同定している。また、GA の抗肥満作用は、高脂肪食負荷モデルにおける報告であることから、GA の抗肥満作用は脂質負荷を起因とした肥満に効果を示すことが考えられた。

### 血液生化学検査

実験終了時の血液生化学検査では、対照群の TSNO マウスと比較し、肥満モデル群の TSOD マウスでは、血漿中のグルコース、トリグリセリド、コレステロールのいずれも有意に上昇しており、また GA による改善は認められなかった。これらは、GA が抗肥満作用を示さなかったことによると考えられる。

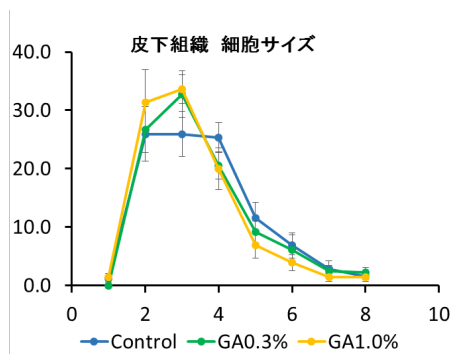
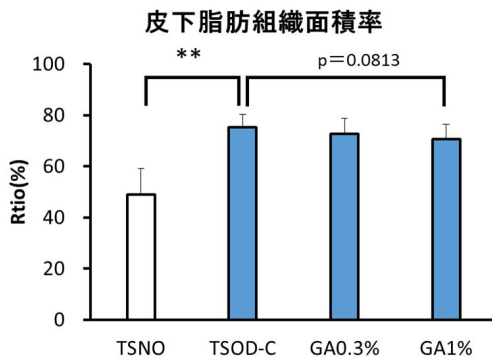
### 脂肪組織

実験終了時の脂肪組織重量は、腸管膜脂肪 (VAT) および皮下脂肪 (SAT) とともに、TSOD マウスで TSNO と比較し有意に増加していた。また、TSOD 群では、GA 1.0% 混餌群において、脂肪蓄積が有意に減少していた。



**皮膚組織**

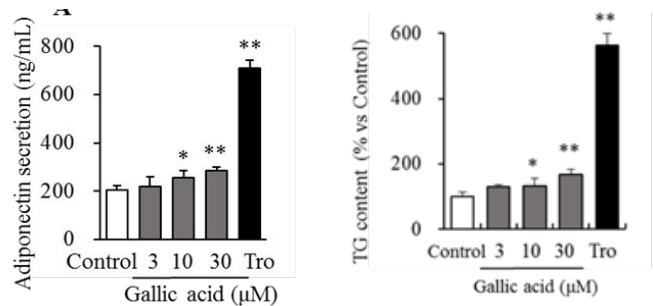
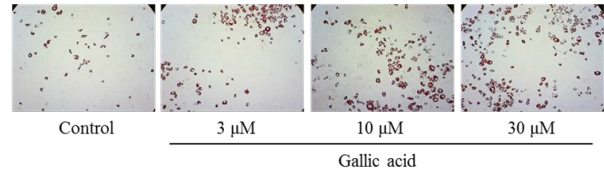
背部皮膚組織を用いて、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、形態を評価した。TSNO マウスと比較し、TSOD マウスでは、皮下脂肪層の割合が有意に増加し、また GA 1.0% 混餌によって、皮下脂肪層の肥厚は抑制傾向を示した。また、皮下脂肪層における、脂肪細胞の面積分布を解析した結果、TSOD マウスにおいて、GA 混餌によって肥大化した脂肪細胞の割合の減少が認められた。



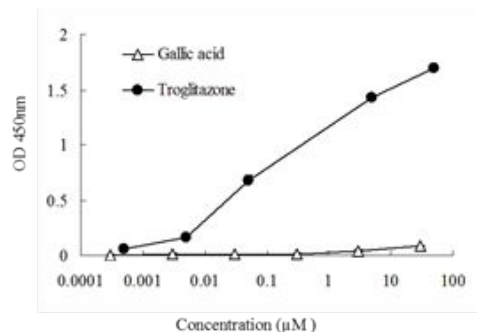
脂肪細胞はいくつものサイトカインを分泌する重要な内分泌臓器であることが知られており、肥満では脂肪細胞は肥大化するとともに、TNF などの悪玉アディポサイトカインの分泌上昇と、アディポネクチンなどの善玉アディポサイトカインの分泌低下が生じる。

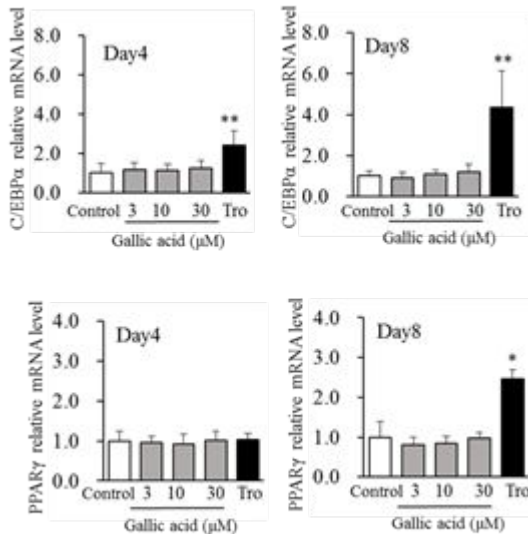
以上より、GA は多因子遺伝性の肥満モデルである TSOD マウスに対して、脂肪組織に特異的に作用を示し、皮下脂肪層において脂肪細胞の形質改善を促進することが示唆された。

(2) GA の脂肪細胞への作用メカニズムについて、マウス由来前駆脂肪細胞 (3T3-L1) を使用した in vitro 系の実験により、脂肪細胞への分化過程における GA の作用メカニズムについて解析を行なった。3T3-L1 細胞を脂肪細胞に分化させる際に GA を処置すると、脂肪細胞に分化する細胞が増加し、培養上清中に分泌される善玉サイトカイン、アディポネクチンの濃度が上昇することが明らかとなった。この作用は対照薬であるトログリタゾンと同様であり、GA は前駆脂肪細胞の分化を有意に促進することが明らかになった。



さらに、GA が脂肪細胞の分化を促進するメカニズムについて検討を行なった。脂肪細胞は分化の過程において、転写因子である peroxidase proliferator-activated receptor (PPAR) や、CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) が重要な役割を果たす。特に PPAR は分化のマスターレギュレーターとされており、これまで報告されている脂肪細胞の分化を促進する成分では、その作用メカニズムとして PPAR のリガンドとして作用するものや、その上流に働くことによって PPAR の発現を促進するものがほとんどである。しかしながら、本研究において、GA は対照薬のトログリタゾンとは異なり、C/EBP および PPAR の発現に変動が認められず、さらには PPAR に対するリガンド作用も有しないことが明らかとなった。





以上より、GA は肥満に対し、皮膚組織における脂肪細胞の肥大化を抑制する作用があることが示された。肥満によって皮膚では皮下脂肪からの影響を強くうけることが報告されており、GA は皮下脂肪の形質改善を介した新たなケア方法のシードとして有用であると示唆された。またそのメカニズムとして、マスターレギュレーターである PPAR を介さないメカニズムによって脂肪細胞の分化を促進することが示唆され、学術的にも意義のある発見に至った。

#### 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 1 件)

Makihara H, Koike Y, Ohta M, Horiguchi-Babamoto E, Tsubata M, Kinoshita K, Akase T, Goshima Y, Aburada M, Shimada T, Gallic Acid, the Active Ingredient of Terminalia bellirica, Enhances Adipocyte Differentiation and Adiponectin Secretion. 査読有 39 巻, 2016, 1137-1143, DOI ; 10.1248/bpb.b16-00064.

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 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 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

榎原 弘子 (MAKIHARA, Hiroko)  
 横浜市立大学・医学研究科・嘱託員  
 研究者番号：00708696

##### (2) 研究分担者

##### (3) 連携研究者

##### (4) 研究協力者

赤瀬 智子 (AKASE, Tomoko)