

平成21年4月17日現在

研究種目：若手研究B
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19780096
 研究課題名（和文）肥満関連炎症性疾患に関わるケモカインの日本型食品由来成分による制御
 研究課題名（英文）Regulation of chemokine involved in the inflammatory diseases in obesity by Japanese-style foods

研究代表者
 平井 静 (HIRAI SHIZUKA)
 京都大学・農学研究科・産学官連携研究員
 研究者番号：90432343

研究成果の概要：

糖尿病などの肥満に伴う炎症性疾患の発症メカニズムの解明と日本型食品由来成分によるその制御を目的に、野菜を中心とした日本型食品中より機能性成分を探索した。その結果、カレーの香辛料であるフェヌグリーク中のジオスゲニン、トマトの果皮に含まれるナリングニンカルコン、松樹脂に含まれるデヒドロアピエチン酸が脂肪組織の炎症反応を抑制する活性を持つことをそのメカニズムとともに明らかにした。さらにナスからは脂肪酸関連の新規候補物質を見出した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,500,000	0	2,500,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	270,000	3,670,000

研究分野：分子栄養学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：日本型食品、肥満、炎症、MCP-1、TNF- α 、脂肪細胞、マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

肥満は糖尿病や動脈硬化症などの生活習慣病を引き起こす社会問題となっており、肥満の脂肪組織に浸潤したマクロファージによる炎症反応がその一因であると考えられている。

日本型の食生活は欧米に比べて生活習慣病を引き起こしにくいいため、日本型食品には脂肪組織における炎症反応に有効な成分が

含まれている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

- (1) 糖尿病や動脈硬化症などの病態の改善・予防を目的に、肥満に伴う炎症反応とその原因と考えられているケモカイン(MCP-1)の関わりをマウスを用いた動物実験にて検討する。
- (2) MCP-1 や炎症性サイトカインである TNF- α の発現・分泌を制御する日本型食品

の *in vitro* スクリーニング系を構築し、それを用いて有効性を有する日本型食品由来成分を探索する。また *in vivo* における有効性評価も行う。

3. 研究の方法

- (1)肥満による炎症反応と MCP-1 の関わりの *in vivo* における検討：MCP-1 欠損マウスに高脂肪食高スクロース食を給与し、脂質代謝や炎症性疾患に及ぼされる影響について検討する。
- (2)MCP-1 および TNF- α 発現を制御する日本型食品由来成分の *in vitro* スクリーニング系の構築：MCP-1 および TNF- α の転写調節領域をルシフェラーゼレポーターベクターに組み込んだプラスミドを作成し、これをヒト由来マクロファージ様細胞にトランスフェクトし、恒常的にルシフェラーゼ遺伝子を発現するステイブルセルラインを獲得する。
- (3)MCP-1 および TNF- α 発現を制御する日本型食品由来成分の *in vitro* における探索：(2)で構築したアッセイ系を用いて、肥満関連炎症性疾患の改善・予防に有効な日本型食品由来成分を探索する。また炎症を起こした脂肪組織の *in vitro* モデル系を用いた機能性評価も行う。
- (4)MCP-1 発現を制御する日本型食品由来成分の *in vivo* における有効性の検証：(3)で見出された成分に対して、マウスを用いた機能性評価を行う。

4. 研究成果

- (1)肥満による炎症反応と MCP-1 の関わりの *in vivo* における検討：MCP-1 欠損マウスを用いた検討により、MCP-1 は体脂肪の蓄積ではなく、脂肪組織の質的变化に関与することが判明した。
- (2)MCP-1 および TNF- α 発現を制御する日本型食品由来成分の *in vitro* スクリーニング系の構築：MCP-1 および TNF- α の転写調節領域を持つルシフェラーゼレポーターベクターを作成し、それをトランスフェクトしたマクロファージのステイブルセルラインを得た。また MCP-1 や TNF- α の発現制御に関わる PPAR γ リガンドによる系の有効性の確認も行った。
- (3)MCP-1 および TNF- α 発現を制御する日本型食品由来成分の *in vitro* における探索：(2)で構築した *in vitro* スクリーニング系や、肥満時の炎症を起こした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を用いて、肥満関連炎症性疾患の改善・予防に有効な日本型食品由来成分を探索したところ、柑橘類やトマトの果皮に多

く含まれるナリンゲニン類 (図 1)、松樹脂に含まれるデヒドロアビエチン酸、カレーの香辛料であるフェヌグreekに含まれるジオスゲニンに MCP-1 や TNF- α の分泌を低下させる効果があることが明らかとなった。さらにナスからこのような有効成分の単離・同定を試みたところ、脂肪酸関連の候補成分が見出された。これらの成分は、マクロファージの浸潤した脂肪組織においてその炎症性因子の分泌を抑制し、肥満関連炎症性疾患の改善・予防に有効である可能性が考えられた。

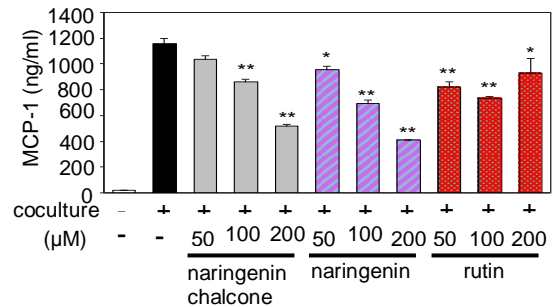


図 1 ナリンゲニンカルコンによる MCP-1 分泌の抑制

またナリンゲニン類については、脂肪細胞へのマクロファージの浸潤を抑制する作用があることも判明し、肥満初期の炎症抑制にも有効である可能性が考えられた (図 2)。さらにこれらの因子のいくつかについて、その炎症抑制メカニズムについて検討したところ、これらの因子の多くは、マクロファージにおける炎症シグナルである NF κ B および JNK に作用することが明らかとなった。

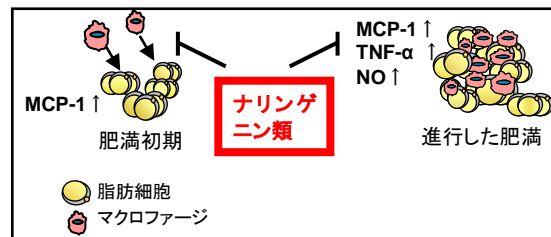


図2. 肥満に伴う脂肪組織の炎症反応のナリンゲニン類による制御

- (4)MCP-1 発現を制御する日本型食品由来成分の *in vivo* における有効性の検証：(3)で見出されたナリンゲニンカルコン、デヒドロアビエチン酸に関して、肥満糖尿病モデルマウスである KKA γ マウスを用いた機能性評価を行った。このマウスにこれらの成分を含んだ高脂肪食を摂取させたところ、ナリンゲニンカルコン摂取では顕著な有効性は認められず、この理由として尿中

への排泄速度の速さなどが考えられたが、デヒドロアビエチン酸摂取では体重増加の抑制、血糖値の低下(図 3)、血中 MCP-1、TNF- α 濃度の低下、および脂肪組織へのマクロファージの浸潤の低下が認められた。この結果より、デヒドロアビエチン酸は肥満に伴う慢性炎症反応を抑制し、糖尿病を改善する作用を有する可能性が示唆された。

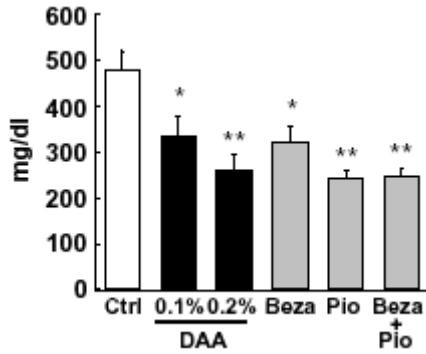


図 3. デヒドロアビエチン酸(DAA)摂取による KKAY マウスの血糖値低下

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 4 件)

- ① Takahashi N, Kang MS, Kuroyanagi K, Goto T, Hirai S, Ohyama K, Lee JY, Yu R, Yano M, Sasaki T, Murakami S, Kawada T. Auraptene, a citrus fruit compound, regulates gene expression as a PPAR α agonist in HepG2 hepatocytes. *BioFactors* 33, 25-32.2008.査読あり
- ② Kawada T, Goto T, Hirai S, Kang MS, emura T, Yu R, Takahashi N. Dietary regulation of nuclear receptors in obesity related metabolic syndrome. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17, 126-130. 2008.査読あり
- ③ Kang MS, Hirai S, Goto T, Kuroyanagi K, Lee JY, Uemura T, Ezaki Y, Takahashi N, Kawada T. Dehydroabietic acid, a phyto-chemical, acts as ligand for PPARs in macrophages and adipocytes to regulate inflammation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 369, 333-338.2008.査読あり
- ④ Hirai S, Kim YI, Goto T, Kang MS, Yoshimura M, Obata A, Yu R, Kawada T. Inhibitory effect of naringenin chalcone

on inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Life Sciences*, 81,1272-1279.2007.査読あり

[学会発表] (計 3 件)

- ① 溝口典子、平井 静、植村 卓、中野雄喜、正野仁慈、星野彰平、柘植信昭、鳴神寿彦、高橋信之、河田照雄 肥満関連炎症性サイトカインに対するステロイドサポニン、ジオスゲニンの分泌抑制作用。
第 29 回日本肥満学会
2008 年 10 月 17, 18 日
大分県大分市
 - ② Hirai S, Kim YI, Goto T, Kang MS, Yoshimura M, Obata A, Kawada T. Inhibitory effect of naringenin chalcone on the inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. 3rd International Conference on Polyphenols and Health. 2007.11.25-28. Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan.
 - ③ Hirai S, Kim YI, Goto T, Kang MS, Kawada T, Inhibitory effect of naringenin chalcone on the inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. 10th Asian Congress of Nutrition. 2007.09.09-13. Taipei International Convention Center, Taipei, Taiwan.
- [図書] (計 4 件)
- ① Nobuyuki Takahashi, Tsuyoshi Goto, Shizuka Hirai, Taku Uemura, Teruo Kawada. Karger, 「Food Factors for Health Promotion」 “Genomics: 3.Genome science of lipid metabolism and obesity” p.25-38. 2009 年
 - ② Teruo Kawada, Tsuyoshi Goto, Shizuka Hirai, Rina Yu, Nobuyuki Takahashi. Blackwell Publishing, 「Nutrigenomics and Proteomics in Health and Diseases: Food Factors and Gene Interactions.」 “4 Obesity and Nuclear Receptors: Effective Genomic Strategies in Functional Foods” p.47-58. “20 Isoprenols” p.301-310. 2008 年
 - ③ 平井 静、後藤 剛、柳 梨娜、高橋信之、河田照雄、建帛社、肥満と脂肪エネルギー代謝ーメタボリックシンドロームへの戦略

ー「第 11 章 肥満・メタボリックシンドロームと食品機能」 p.217-238. 2008 年

④平井 静、柳 梨娜、河田照雄、フジメディカル出版、Functional Food 2： 9 肥満と食品機能成分－脂肪細胞の特性とその形成制御機構、 p.166-172. 2008 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平井 静 (HIRAI SHIZUKA)

京都大学農学研究科・産学官連携研究員

研究者番号：90432343