

平成 22 年 6 月 23 日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2008 ～ 2009  
 課題番号：20780094  
 研究課題名 (和文) 機能性ポリフェノールによる炎症性サイトカイン誘導性脂肪細胞機能障害の抑制作用機構  
 研究課題名 (英文) Suppressive mechanisms of action of polyphenols in cytokine-induced adipocyte dysfunction  
 研究代表者 上野 有紀 (UENO YUKI)  
 愛知学院大学・心身科学部・講師  
 研究者番号：20388060

## 研究成果の概要 (和文)：

本研究では、炎症性サイトカインによる脂肪細胞機能障害の抑制作用をもつ食品由来の機能性ポリフェノールに着目し、その抑制作用機構の検討を行うことを目的とした。マウス由来脂肪細胞株である 3T3-L1 を分化誘導剤により分化させた後、食品由来のポリフェノール類を細胞に投与した。その後インスリン抵抗性作用を持つ炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  を添加し、数時間培養した細胞の培養上清中の IL-6 を測定したところ、クルクミノイド類に IL-6 分泌抑制作用が見られた。また、クルクミノイド類に炎症関連物質の生成抑制作用が認められた。現在、DNA マイクロアレイを行い、クルクミノイド類などのポリフェノール類に炎症関連遺伝子発現の抑制作用機構の違いについて、詳細な解析を進めている。

## 研究成果の概要 (英文)：

In this study, we investigated molecular functions of polyphenols on cytokine-induced dysfunction of adipocytes. 3T3-L1 adipocytes were fully differentiated and treated with TNF- $\alpha$  or LPS after treatment of several polyphenols, and IL-6 concentration in the media was measured. TNF- $\alpha$  increased IL-6 secretion in adipocytes, and curcuminoids suppressed IL-6 concentration. Curcuminoids suppressed LPS-induced nitric oxide levels. These results suggest that curcuminoids may have suppressive effects on cytokine-mediated dysfunction of adipocytes. Now, we try to perform microarray experiments, and examine the gene expression profiles.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学・食品機能

キーワード：ポリフェノール、サイトカイン、脂肪細胞

## 1. 研究開始当初の背景

世界の糖尿病患者数は増加の一途をたどっており、日本における患者数は 690 万人とも言われている。肥満・糖尿病の発症原因の一つとして、生活習慣が知られている。生活習慣の中でも、食生活の果たす重要な役割については最近特に注目を集めているが、その発症メカニズムは不明の点が多く、炎症性サイトカインに着目した脂肪細胞機能障害と食品成分による抑制作用の詳細についても、まだ不明な部分が多い。これまでに、種々のポリフェノールが抗酸化性、抗炎症性、抗腫瘍活性などの生理作用を持つことが報告されているが、脂肪細胞機能に対する作用に関する報告はごくわずかである。本研究において、炎症性サイトカインによる脂肪細胞機能低下に対して、抑制作用を有するポリフェノールがどのような機構で作用しうるかを、細胞レベルで検討することとした。

## 2. 研究の目的

本研究では、脂肪細胞を用いて、炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  によって誘導される脂肪細胞機能障害を炎症性サイトカインの発現および分泌抑制を指標とし、これを改善する作用を有するクルクミノイド類などの代謝産物およびその類縁体の検討を行う。次に、その抑制作用機構を細胞レベルで明らかにする。すなわち、*in vitro* において炎症性サイトカインによる遺伝子発現変動に着目して解析をすすめることとした。

## 3. 研究の方法

### (1) マウス由来脂肪細胞株 3T3-L1 の培養と分化

マウス由来前駆脂肪細胞株 3T3-L1 は、10% FBS 含有 DMEM にて 24 ウェルプレートにて培養した。細胞が 100%コンフルエントに達したところで、0.25  $\mu$ M dexamethasone, 10  $\mu$ g/ml insulin、0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine による分化誘導を行った。分化誘導3日目に insulin 含有培地に交換した。その後 2 日ごとに 10  $\mu$ g/ml insulin 含有培地に交換した。分化誘導後 7~10 日目の十分に油滴の形成が見られた状態のものを実験に使用した。

### (2) ポリフェノール類の細胞への投与

ポリフェノール類は DMSO に溶解し、各濃度となるよう添加した。

### (3) 培養上清中の IL-6 の定量

培養上清中の IL-6 は、ELISA 法により測定した。

### (4) 培養上清中の NO<sub>2</sub> の定量

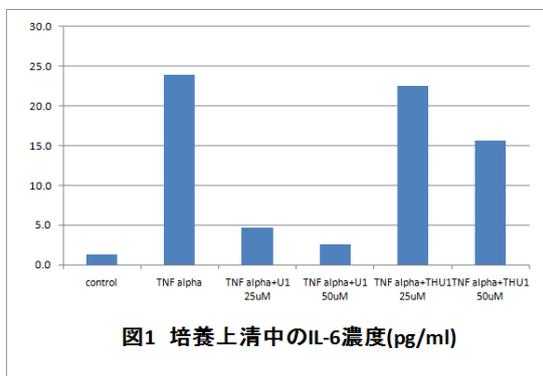
培養上清中の NO<sub>2</sub> は、NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> Assay Kit-C II (Colorimetric) (同仁化学研究所) を使用して測定した。

## 4. 研究成果

### (1) ポリフェノール類による炎症性サイトカイン発現抑制作用について

マウス由来脂肪細胞株 3T3-L1 に種々のポリフェノールで前処理をし、その後マウス

TNF- $\alpha$ (10 ng/ml)を投与し、培養上清を回収した。培養上清中の炎症性サイトカインとして、IL-6の分泌量を定量した。



結果は図1のようになり、TNF- $\alpha$ の単独投与により、IL-6の分泌量は増加した。クルクミン(U1)およびクルクミンの生体内代謝産物の一つであるテトラヒドロクルクミン(THU1)を前処理することにより、脂肪細胞の培養上清へのIL-6の分泌が抑制された。IL-6の分泌抑制作用はTHU1よりもU1の方が作用が強いことが分かった。

(2) ポリフェノール類による炎症関連物質の生成抑制作用について

炎症関連物質として、一酸化窒素(NO)に着目し、培養上清中のNO $_2^-$ を測定した。NOを指標として、ポリフェノール類による炎症関連物質の生成抑制作用を検討した。

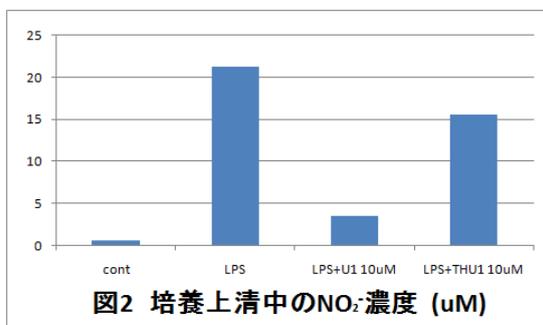


図2の通り、LPSの単独投与によりNO $_2^-$ が増加し、U1およびTHU1を前処理することにより、培養上清中のNO $_2^-$ 濃度は低かった。その作用は、THU1よりもU1の方が作用が強いことが分かった。

## 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)

上野有紀、大澤俊彦 「クルクミノイドによる糖尿病性白内障予防効果」 *Functional Food* (査読無) 第7号、Vol.3, No.1, 2009、p.53-57

[学会発表] (計6件)

上野有紀ほか、「脂肪細胞における炎症応答に対するトコトリエノールの効果」第63回日本栄養・食糧学会大会、2009年5月21日、長崎

上野有紀ほか、「トコトリエノールによる脂肪細胞における炎症反応抑制作用機構」日本農芸化学会2009年度大会、2009年3月28日、福岡、

上野有紀ほか、「トコトリエノールによる脂肪細胞における炎症反応防御機構」第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会合同大会BMB2008、2008年12月12日、神戸

上野有紀ほか、「脂肪細胞における炎症反応に対するトコトリエノールの効果」第5回日本トコトリエノール研究会、2008年11月18日、東京

Toshihiko Osawa and Yuki Ueno, “Protective Role of Rice Antioxidative Compounds on Obesity-related Disorders” Second International Symposium on Rice and Disease Prevention, 2008.10.27, Wakayama, Japan

Yuki Ueno et al. Anti-inflammatory Effect and Mechanisms of Action of Tocotrienols in Adipocytes. Second International Symposium on Rice and Disease Prevention, 2008.10.26-27, Wakayama, Japan

〔図書〕（計1件）

上野有紀（共著：大澤俊彦）、株式会社東京化学同人、「スタンダード 栄養・食物シリーズ5 食品学—食品成分と機能性—第2版」久保田紀久枝・森光康次郎編、2008年、総ページ数：296ページ、分担：p.26～51

〔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

上野 有紀 (UENO YUKI)

愛知学院大学・心身科学部・講師

研究者番号：20388060

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：