

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K19672

研究課題名（和文）茶カテキンの腸内環境改善作用を介した抗肥満作用とその機序の解析

研究課題名（英文）Research on anti-obesity effect of tea catechins by improving the intestinal environment and its mechanism

研究代表者

後田 ちひろ（Ushiroda, Chihiro）

藤田医科大学・医学部・助教

研究者番号：30869764

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：茶カテキン（(-)-epigallocatechin-3-gallate; EGCG）の抗肥満作用は腸内環境改善に起因するかどうかを確認するために、腸内細菌叢移植実験を実施した。その結果、EGCGを摂取して変化した腸内細菌叢は抗肥満作用に直接影響しないことが示された。さらに、肝臓と大腸のマイクロアレイ解析を実施した。EGCGの抗肥満作用の機序は、既報と同様に脂質代謝改善作用ということが明らかになった。それに加えて、腸内細菌叢の変化を介した作用も間接的に影響している可能性が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

緑茶に含まれるカテキン（(-)-epigallocatechin-3-gallate; EGCG）は様々な生理機能を有し、EGCGの抗肥満作用に関しては、脂質代謝の改善に基づく作用機序が報告されているが、EGCG摂取後の腸管からの吸収は非常に少なく、吸収されなかったEGCGは大腸へ到達し、腸内細菌によって資化・分解される。EGCGが消化管を介して全身へ及ぼす作用に着目し、研究した結果、EGCGの抗肥満作用は脂質代謝改善作用と消化管を介した作用も一部関与している可能性が示唆された。EGCGの抗肥満作用の作用機序の一端を明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：To clarify whether the anti-obesity effect of tea catechin ((-)-epigallocatechin-3-gallate; EGCG) is due to its function of improving the intestinal environment, we conducted an experiment on the transplantation of gut microbiota. The results showed that the gut microbiota altered by EGCG intake did not directly affect the anti-obesity effect. Furthermore, microarray analysis of the liver and colon revealed that the mechanism of the anti-obesity effect of EGCG is the improvement of lipid metabolism, as previously reported. Furthermore, the possibility of an indirect effect via changes in the gut microbiota was also revealed.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：EGCG 肥満 腸内細菌叢

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高脂肪食摂取から生じる腸内細菌叢の崩壊 (dysbiosis) は、肥満や糖尿病など、多くの疾病発症に深く関与している。近年、肥満者に特有な腸内細菌叢が明らかになり、食品因子、腸内細菌叢、その代謝物などによる腸内環境の改善を介した抗肥満作用が期待されている。代表的な整腸作用のある食品因子として食物繊維があり、最大無作用量は腸内環境による個体差が非常に大きい点が問題として挙げられる。許容量を超えて摂取した場合、腹部膨満感、放屁、高浸透圧性下痢など不快感を伴うことも、実用化に際して問題となることが多い。

解決策として、食経験が豊富で安全なフィトケミカル類による着目した。フィトケミカル類による抗肥満作用は広く研究されており、近年新たな機序として、フィトケミカル類の腸内環境改善作用を介した抗肥満作用が相次いで報告された。しかしながら、フィトケミカル類摂取後の腸管からの吸収率は非常に低いため、大腸における作用機序を解明する必要がある。

### 2. 研究の目的

茶葉に含まれるカテキン (-)-epigallocatechin-3gallate; EGCG) は様々な生理機能を有し、EGCG の抗肥満作用に関しては、コレステロール排泄促進作用、肝臓における脂質代謝亢進作用をはじめとする、脂質代謝の改善に基づく作用機序が報告されているが、EGCG 摂取後の腸管からの吸収は非常に少なく、吸収されなかった EGCG は大腸へ到達し、腸内細菌によって資化・分解される可能性が考えられる。茶葉は食経験豊富なため安全で、毎日の食習慣に無理なく、おいしく取り入れることができ、多彩な生理機能を併せ持つ、EGCG に着目した。

EGCG の消化管を介して全身へ及ぼす作用に着目し、経口摂取された EGCG が消化管でどのように作用しているか、腸内環境に焦点を当て、EGCG 摂取下の腸内細菌叢の変化について研究した。本研究終了時の目標は、EGCG の抗肥満作用が腸内細菌叢の変化によるものか、脂質代謝改善作用か、その両方か、機序を明確にすることである。

### 3. 研究の方法

#### (1) 腸内細菌叢移植実験

EGCG の抗肥満作用は腸内細菌叢改善作用に起因するものか確認するため、EGCG を摂取させたマウスの腸内細菌叢を移植し、普通食にて体重の変化を観察した。

#### EGCG を摂取させたドナーマウスの作成

C57BL/6J 雄性マウスへ高脂肪食 (HFD) あるいは 0.32%EGCG 添加高脂肪食 (HFD + EGCG) をそれぞれ 8 週間摂取させる。解剖時には盲腸内容物を採取し、試料とした。

#### 腸内細菌叢を除菌したレシピエントマウスの作成

1 週間抗生物質カクテル (アンピシリン、バンコマイシン、ネオマイシン、メトロニダゾール) を自由飲水下で投与し、消化管内を除菌した。

#### 腸内細菌叢移植実験

除菌したレシピエントマウスへドナーの腸内細菌叢を経口投与し、移植完了とする。各群のレシピエントマウスは引き続き EGCG 無添加の普通食で飼育し、腸内細菌叢の違いによる影響を観察した。

普通食腸内細菌叢移植群：正常腸内細菌叢モデル

高脂肪食腸内細菌叢移植群：dysbiosis モデル

EGCG 添加高脂肪食腸内細菌叢移植群：dysbiosis 改善モデル

ドナーマウスと比較検討するため同様に安楽死処置後に解剖し、採血、臓器重量測定を実施した。

#### (2) 肝臓、大腸組織の網羅的遺伝子発現解析

C57BL/6 雄性マウスへ普通食 (Control)、高脂肪食 (HFD) あるいは 0.32%EGCG 添加高脂肪食 (HFD + EGCG) をそれぞれ 8 週間摂取させた。解剖時には肝臓組織、大腸組織を採取し、遺伝子産物である RNA を抽出した。網羅的に遺伝子発現を解析するために、マイクロアレイ解析を実施した。

#### (3) ヒト結腸癌由来腸管上皮株化細胞を用いた膜透過性試験

細胞を用いた *in vitro* 試験を実施した。ヒト結腸癌由来腸管上皮株化細胞 (Caco-2) を Transwell インサート内で 14 日間単層培養した。管腔側にコントロールあるいは EGCG を添加し、経常皮電気抵抗 (TER) 測定装置にて、TER 値を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) 腸内細菌叢移植実験

EGCG の抗肥満作用は腸内細菌叢改善作用に起因するものか確認する動物実験を実施した結果、普通食腸内細菌叢移植群：正常腸内細菌叢モデル、高脂肪食腸内細菌叢移植群：dysbiosis モデル、EGCG 添加高脂肪食腸内細菌叢移植群：dysbiosis 改善モデルの3群を比較して、腸内細菌叢の違いによる影響を観察したが、体重増加量、ならびに解剖時臓器重量に有意な変化は観察されなかった。そのため、EGCG の抗肥満作用は腸内細菌叢の変化による影響だけでない事が明らかになった。

### (2) 肝臓、大腸組織の網羅的遺伝子発現解析

EGCG の脂肪肝抑制作用の機序を明らかにするため、肝臓における代謝の変化や、肝臓で産生される胆汁酸をはじめとする産生物の変化について、肝臓組織の網羅的遺伝子解析を実施した。

具体的には、C57BL/6 雄性マウスへ普通食 (Control) 高脂肪食 (HFD) あるいは 0.32%EGCG 添加高脂肪食 (HFD +EGCG) をそれぞれ 8 週間摂取させた。解剖時には肝臓組織を採取し、遺伝子産物である RNA を抽出した。網羅的に遺伝子発現を解析するために、マイクロアレイ解析を実施した。EGCG 摂取と肝臓代謝の変化について解析した結果、Control 群、HFD 群、HFD +EGCG 群でそれぞれ変化が観察された。HFD 摂取により脂質合成、脂質輸送、糖新生に関係する遺伝子発現が増加し、この結果は既報の報告と一致していた。HFD +EGCG 群では HFD 群と比較して一部異なる遺伝子発現が観察された。

さらに、EGCG 摂取による抗肥満作用について腸内細菌叢やその代謝産物の影響を明らかにするため、大腸組織の網羅的遺伝子解析を実施した。具体的には、C57BL/6 雄性マウスへ普通食 (Control) 高脂肪食 (HFD) あるいは 0.32%EGCG 添加高脂肪食 (HFD +EGCG) をそれぞれ 8 週間摂取させた。解剖時は大腸を摘出し、遺伝子産物である RNA を抽出した。網羅的に遺伝子発現を解析するために、大腸マイクロアレイ解析を実施した。その結果、HFD 群では消化酵素関連遺伝子、胆汁酸輸送体遺伝子、脂質代謝関連遺伝子やコレステロール代謝関連遺伝子発現が変動していたが、HFD +EGCG 群では変化を抑制している結果だった。そのため、EGCG は直接消化吸収代謝に関与し、抗肥満作用を有する可能性が示唆された。一方で、HFD 群と HFD +EGCG 群を比較して、腸管バリア機能に関連する免疫応答関連遺伝子、腸管上皮細胞関連遺伝子発現にも変化が観察された。そのため、腸内環境改善作用を介した抗肥満作用の間接的な関与も示唆された。大腸組織の粘液層を確認するために、大腸組織をアルシアンブルー染色した結果、Control 群と比較して HFD 群では粘液層が薄くなるが、EGCG を摂取すると粘液層の減少が抑制されることを確認した。

### (3) ヒト結腸癌由来腸管上皮株化細胞を用いた膜透過性試験

細胞を用いた *in vitro* 試験を実施し、EGCG が腸管へ直接的に作用するのか明らかにするために、ヒト結腸癌由来細胞を用いて EGCG 添加実験を実施した。具体的には、ヒト結腸癌由来腸管上皮株化細胞用い、EGCG の透過性へ及ぼす影響について評価した。ヒト結腸癌由来細胞を EGCG とともに培養することで、結腸へ及ぼす影響を検討した結果、EGCG 添加群はコントロール群と比較して変化があることが観察された。

以上の結果より、EGCG の抗肥満作用は、脂質代謝改善作用により体重増加が抑制され、腸内細菌叢が変化したことが示唆された。EGCG の抗肥満作用の機序は腸内細菌叢の変化を介した作用も一部影響している可能性が明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Iizuka Katsumi, Kobae Kazuko, Yanagi Kotone, Yamada Yoshiko, Deguchi Kanako, Ushiroda Chihiro, Seino Yusuke, Suzuki Atsushi, Saitoh Eiichi, Naruse Hiroyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Differing Effects of Body Size on Circulating Lipid Concentrations and Hemoglobin A1c Levels in Young and Middle-Aged Japanese Women	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Healthcare	6. 最初と最後の頁 465 ~ 465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/healthcare12040465	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iizuka Katsumi, Sato Hiroko, Kobae Kazuko, Yanagi Kotone, Yamada Yoshiko, Ushiroda Chihiro, Hirano Konomi, Ichimaru Satomi, Seino Yusuke, Ito Akemi, Suzuki Atsushi, Saitoh Eiichi, Naruse Hiroyuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Young Japanese Underweight Women with “Cinderella Weight” Are Prone to Malnutrition, including Vitamin Deficiencies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2216 ~ 2216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu15092216	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Harusato Akihito, Chassaing Benoit, Dauriat Charlene J. G., Ushiroda Chihiro, Seo Wooseok, Itoh Yoshito	4. 巻 14
2. 論文標題 Dietary Emulsifiers Exacerbate Food Allergy and Colonic Type 2 Immune Response through Microbiota Modulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 4983 ~ 4983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14234983	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Miyamoto Junki, Shimizu Hidenori, Hisa Keiko, Matsuzaki Chiaki, Inuki Shinsuke, Ando Yuna, Nishida Akari, Izumi Ayano, Yamano Mayu, Ushiroda Chihiro, Irie Junichiro, Katayama Takane, Ohno Hiroaki, Itoh Hiroshi, Yamamoto Kenji, Kimura Ikuo	4. 巻 15
2. 論文標題 Host metabolic benefits of prebiotic exopolysaccharides produced by <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Gut Microbes	6. 最初と最後の頁 2161271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19490976.2022.2161271	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ushiroda Chihiro, Takagi Tomohisa, Fuke Nobuo, Mizushima Katsura, Hirai Yasuko, Higashimura Yasuki, Harusato Akihito, Kamada Kazuhiro, Uchiyama Kazuhiko, Ishikawa Takeshi, Aizawa Koichi, Suganuma Hiroyuki, Itoh Yoshito, Naito Yuji	4. 巻 33
2. 論文標題 Lycopene intake induces colonic regulatory T cells in mice and suppresses food allergy symptoms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Allergy and Immunology	6. 最初と最後の頁 e13691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pai.13691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 奥田明日香, 金高有里, 後田ちひろ, 山崎優子, 倉若美咲樹, 田辺賢一, 渡辺章夫, 下内章人, 奥 恒行, 中村禎子	4. 巻 Vol.13, No.1
2. 論文標題 母獣ラットの難消化性糖質継続摂取による腸内細菌由来水素ガスの体内分布と胎仔への移行	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 安定同位体と生体ガス	6. 最初と最後の頁 13-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Naito Yuji, Ushiroda Chihiro, Mizushima Katsura, Inoue Ryo, Yasukawa Zenta, Abe Aya, Takagi Tomohisa	4. 巻 67
2. 論文標題 Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) attenuates non-alcoholic fatty liver disease via modulating the interaction between gut microbiota and bile acids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 2~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcbrn.20-39	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakano Takahiro, Uchiyama Kazuhiko, Ushiroda Chihiro, Kashiwagi Saori, Toyokawa Yuki, Mizushima Katsura, Inoue Ken, Dohi Osamu, Okayama Tetsuya, Yoshida Naohisa, Katada Kazuhiro, Kamada Kazuhiro, Handa Osamu, Ishikawa Takeshi, Takagi Tomohisa, Konishi Hideyuki, Naito Yuji, Itoh Yoshito	4. 巻 35
2. 論文標題 Promotion of wound healing by acetate in murine colonic epithelial cell via c Jun N terminal kinase activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 1171~1179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.14987	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mukai Rieko, Handa Osamu, Naito Yuji, Takayama Shun, Suyama Yosuke, Ushiroda Chihiro, Majima Atsushi, Hirai Yasuko, Mizushima Katsura, Okayama Tetsuya, Katada Kazuhiro, Kamada Kazuhiro, Uchiyama Kazuhiko, Ishikawa Takeshi, Takagi Tomohisa, Itoh Yoshito	4. 巻 65
2. 論文標題 High-Fat Diet Causes Constipation in Mice via Decreasing Colonic Mucus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 2246 ~ 2253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-019-05954-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Chihiro Ushiroda, Yuka Kamei, Kyosuke Kondo, Hiromi Tsuchida, Yusuke Seino, Shizuko Nagao, Daisuke Yabe, Atsushi Suzuki, Katsumi Iizuka
2. 発表標題 ChREBP expression is reduced in insulin-resistant states
3. 学会等名 the IDF-WPR Congress 2023 and 15th Scientific Meeting of AASD (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 後田ちひろ、亀井優香、今度匡祐、土田宏美、清野祐介、長尾静子、矢部大介、鈴木敦詞、飯塚勝美
2. 発表標題 インスリン抵抗性状態ではChREBP活性は減弱する
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chihiro Ushiroda, Takuma Ishihara, Mayuka Watanabe, Akemi Ito, Atsushi Suzuki, Eiichi Saitoh, Hitomi Sasaki, Katsumi Iizuka
2. 発表標題 Evaluation of the test meals and hospital meals by using two mobile food records
3. 学会等名 the 22nd International Congress of Nutrition (ICN) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後田ちひろ、皿井正義、宮原良二、佐々木ひと美、飯塚勝美
2. 発表標題 加齢が食事の日差変動に及ぼす影響に関する検討
3. 学会等名 第26回日本病態栄養学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 後田ちひろ、大森瑞紀、倉若美咲樹、奥田明日香、金高有里、田辺賢一、山崎優子、奥恒行、中村禎子
2. 発表標題 難消化低発酵性食物繊維の小腸からの脂肪吸収に対する抑制効果
3. 学会等名 日本食物繊維学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後田ちひろ、高木智久、福家暢夫、水島かつら、平井泰子、東村泰希、春里暁人、内山和彦、伊藤義人、内藤裕二
2. 発表標題 消化管アレルギーモデルマウスにおけるリコピンの肥満細胞抑制作用
3. 学会等名 日本機能性食品医用学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------