

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24年 6月 10日現在

機関番号：12611

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21500774

研究課題名（和文）

メタボリックシンドローム予防と油脂の摂取に関する研究

研究課題名（英文）

Studies on the prevention of metabolic syndrome and fat intake

研究代表者

藤原 葉子 (FUJIWARA YOKO)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授

研究者番号：50293105

研究成果の概要（和文）：

メタボリックシンドロームの予防を目的とした、適正な脂質摂取を検討する基礎研究として、脂肪細胞および骨格筋細胞における、脂肪酸の影響とその種類による違いを調べた。エイコサペンタエン酸はマクロファージと相互作用することで脂肪細胞の炎症を悪化させないこと、さらに骨格筋細胞における脂肪酸の主要な役割は、炎症作用よりも主に細胞内カルシウムを中心としたシグナル伝達に影響を与えることであることがわかった。

研究成果の概要（英文）：

Effects of different kinds of fatty acid on adipocytes and skeletal myocytes were investigated to provide the basic information for fatty acid intake and prevention of metabolic syndrome. Eicosapentaenoic acid also induced inflammation in adipocytes but prevented from inflammation by interaction with macrophages. DNA microarray analysis of C2C12 myotubes suggested that the major role of the fatty acids was signal transduction *via* intracellular calcium.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：健康と食生活

1. 研究開始当初の背景

肥満によって引き起こされる高血圧、脂質異常症、耐糖能異常症を合併したメタボリックシンドロームは、放置すると動脈硬化性の虚血性心疾患や脳梗塞を引き起こすリスクが高くなるため、近年特定保健健診や特定保健指導が義務化されたことから、社会的な問題となっている。メタボリックシンドロームは肥満を基盤として発症するため、予防と治療にはまず肥満を防ぐことが必要となる。生

活習慣の改善の中でも、食生活は今後ますます重要な課題となってくる。

食事の中でも脂質は高カロリーであるために、肥満予防には嫌われがちであるが、脂質は単にエネルギー源であるだけでなく、特に種々の多価不飽和脂肪酸にはそれぞれに特有な生理作用がある。また n-6 系のリノール酸や n-3 系のリノレン酸を出発物質とする多価不飽和脂肪酸は、生体内で合成することができないため、食物から必ず摂取しなくて

はならない必須脂肪酸である。脂質の摂取はその量だけでなく、飽和脂肪酸とモノエン酸、多価不飽和脂肪酸の比率や、多価不飽和脂肪酸の n-6/n-3 摂取比率も問題になってきた。多価不飽和脂肪酸は、血中コレステロールや中性脂肪を低下することが知られており、そのメカニズムについても、PUFA が転写因子である sterol regulatory element binding protein (SREBP) を介して、コレステロールや脂肪合成酵素の発現を抑制するメカニズムが知られている。申請者もこれまでにヒト肝由来 HepG2 細胞を使った DNA マイクロアレイによる網羅的解析を行い、同様な結果を得ている。

一方で、脂肪細胞は従来のエネルギーを蓄積する貯蔵細胞という概念から、種々の生理活性物質を分泌する分泌細胞として認識されるようになった。脂肪細胞が分泌するサイトカインにはインスリン感受性を悪化させる TNF- α やレジスチン、血圧上昇に関わる PAI-1 や抗動脈硬化およびインスリン感受性に関わるアディポネクチンなどがあり、これらサイトカインの関与が肥満によるメタボリックシンドロームの発症に影響すると考えられている。

高血糖状態においては、血糖の 80% を処理する骨格筋における代謝異常が重要であるが、飽和脂肪酸が骨格筋の炎症作用を起したり、ある種の脂肪酸がインスリンのような血糖を低下させる作用があることなどが報告されている。また、肥満を呈しながらも脂肪酸の質の違いによって、インスリン抵抗性を示さないノックアウトマウスが示されたことから、メタボリックシンドロームの発症には、体内の脂肪の量だけでなく脂肪の質的变化が重要であり、摂取する脂肪の質、すなわちそれを決める脂肪酸の種類がさらに増している。

2. 研究の目的

本研究は、食事から摂取した脂肪酸の種類による糖・脂質代謝への影響を、細胞レベルで検討し、メタボリックシンドロームを予防するための摂取脂肪の質改善を目的とし、主に以下の 2 点について検討する。

(1) 脂肪細胞における多価不飽和脂肪酸による炎症性サイトカイン mRNA 上昇の意義の解明

申請者の科学研究費基盤研究(平成 18~19 年度)の結果、アラキドン酸だけでなく一般に抗炎症作用をもつと考えられるエイコサペンタエン酸 (EPA) にも脂肪細胞においては炎症惹起作用が認められた。脂肪組織の多い肥満においては、このような多価不飽和脂肪酸による炎症性サイトカインが上昇は悪影響を与える可能性も考えられ、これがどのような生理的意義があるのかを検討する。

上昇したサイトカインの中に、マクロファージの遊走・接着を促進する MCP1 が認められたため、脂肪細胞とマクロファージとの相互作用、およびそこに種々の脂肪酸がどのように関わるのかを調べる。また、これまでに我々は脂肪細胞と多価不飽和脂肪酸しか検討してこなかったが、脂肪細胞に炎症を誘導することが多く報告されている、飽和脂肪酸のバルミチン酸との比較検討も検討した。

(2) 耐糖能異常 (インスリン抵抗性) に対する種々の食事性脂肪酸の影響とその評価

ヒトの血糖値や血中グルコースの利用は、肝臓、脂肪および筋肉での糖の取り込みや消費と組織への蓄積のバランスによって決まる。したがって、身体全体の耐糖能異常やインスリン抵抗性を評価するためには、各組織における代謝や影響を個々に検討する必要がある。

これまでに申請者は肝臓および脂肪組織のモデル細胞を用いて、多価不飽和脂肪酸の直接的な作用を DNA マイクロアレイによる網羅的解析手法を用いて行い、多価不飽和脂肪酸は肝臓ではコレステロールと脂肪合成を抑制するが、脂肪細胞においては脂肪蓄積や分解には影響を与えず、炎症作用を持つことがわかった。そこで、インスリンの影響を受けてグルコースを消費する最も重要な組織である骨格筋のモデルとして、C2C12 細胞を用いて、多価不飽和脂肪酸の DNA マイクロアレイによる網羅的解析を行うことで、組織間での脂肪酸の影響の違いや、生体全体に及ぼす影響を推察することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 培養細胞および培養方法

ヒト前駆脂肪細胞 SGBS 細胞は Ulm 大学の M Wabitsch 博士より供与されたものを用いた。基本培地で培養後、イソブチルキサンチン、デキサメタゾンなどを含む分化誘導培地で脂肪細胞に分化させ、さらに 14 日間培養したものを実験に使用した。ヒト単球由来 THP-1 細胞およびマウス由来 C2C12 筋管細胞 ATCC より購入した。

脂肪細胞とマクロファージの相互作用に関する実験は図 1 に示す 3 種類の方法で評価した。

① dish に蒔いた脂肪細胞の培地に蛍光ラベルした単球 THP-1 を加えて 45 分培養し、培地とともに脂肪細胞に接着しなかった単球を除いた後、細胞を溶解して蛍光強度を測定し、接着した単球測定した。

② THP-1 細胞を PMA 処理によりマクロファージに分化させた。培地を換え、さらに 72 に時間培養した培地 (conditioned medium, CM) を脂肪細胞に加えて培養し、脂肪細胞における炎症性サイトカインの mRNA 発現量を定量 RT-PCR 法で測定した。

③脂肪細胞の培養ディッシュの上部に、THP-1 マクロファージを蒔いたトランスウェルを設置し、培地が共存する状態で培養した。培養後に脂肪細胞、THP-1 マクロファージ両方の炎症性サイトカインの mRNA 発現量を測定した。

これらの培養時に、BSA に溶解したアラキドン酸、エイコサペンタエン酸を終濃度 100 μ M になるように添加し、無添加のコントロールと比較した。

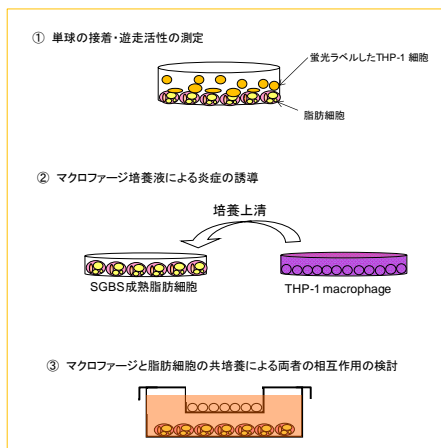


図 1 実験方法

(2) DNA マイクロアレイ解析

C2C12 筋芽細胞を、10% FBS を含む DMEM 培地でコンフルエントに達するまで培養した後、培地を 2% horse serum を含む DMEM 培地に変え、筋管細胞に分化誘導した。筋管細胞に 100 μ M のパルミチン酸 (PA)、パルミトオレイン酸 (POA)、オレイン酸 (OA)、リノール酸 (LA)、EPA を添加し、Total RNA を抽出した後、Agilent 社製の DNA microarray による遺伝子発現解析を行った。データの解析には Gene Spring GX11.0 (Agilent)などのソフトを用いた。

(3) その他の分析

Akt と AMPK のリン酸化はそれぞれ抗体を用いて Western Blot により検討した。また骨格筋細胞における糖の取り込みは、2-[³H] deoxyglucose を用いて調べた。細胞内カルシウム濃度は Calcium Kit-Fluo3 (Dojindo)を用いて測定した。

4. 研究成果

(1) 脂肪細胞とマクロファージの相互作用に及ぼすアラキドン酸 (AA) と EPA の影響

前回の科学研究費による DNA マイクロアレイの結果から、脂肪細胞においては、AA だけではなく EPA も、糖・脂質代謝関連酵素への影響はなく、IL-6 などの炎症性サイトカインの発現を上昇させることがわかった。しかし脂肪細胞における炎症性サイトカイン

の発現レベルはあまり大きくはないため、肥満が進行した場合の脂肪の量的変化に応じた炎症の増加、あるいは、マクロファージなどの他の細胞と脂肪細胞の相互作用について検討した。

図 2 に示したように、培地のみコントロール(a)RPMI と比較して、マクロファージからの放出された種々のサイトカインを含む conditioned medium (CM)を添加した時には、単球の脂肪細胞への接着が増加した。CM の代わりに AA を添加した(c)においても単球の接着は増加したのに対し、同量の EPA を添加した(d)では単球の接着が抑制されていることがわかった。グラフは接着した単球の蛍光強度を示している。これは脂肪細胞において AA 添加では MCP-1 の発現が上昇していた前研究の結果と一致する。MCP-1 の発現の高い AA 添加時には、単球は脂肪細胞に接着した後、マクロファージ化し、そこで炎症作用に関与するものと考えられるが、EPA では初期の接着を抑えることで、脂肪細胞とマクロファージ間の相互作用による炎症の悪化を抑制することが示唆された。

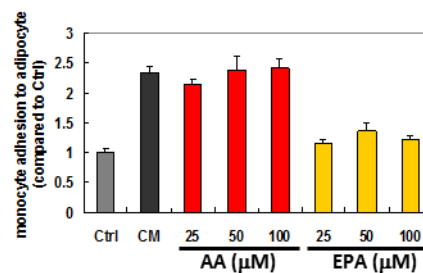
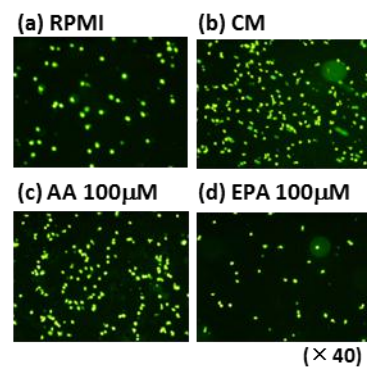


図 2 単球の脂肪細胞に対する接着に及ぼす脂肪酸の影響

次に脂肪細胞とマクロファージを共培養した後、それぞれの細胞を採取して、脂肪細胞における IL-6 および MCP-1、マクロファージにおける TNF- α の mRNA 発現量を調べた (図 3)。両細胞とも、脂肪細胞単独あるいはマクロファージ単独の場合 (Control) に比べて、両者を共培養することで著しく炎症性サイトカインの mRNA 発現が上昇した。

その時に OA 添加では、脂肪酸無添加のコントロールである BSA 添加と差が見られなかったが、AA では増加したのに対し、EPA では減少した。

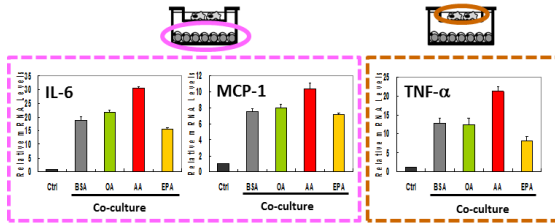


図3 ヒト脂肪細胞と THP-1 マクロファージの共培養時の各細胞の炎症性サイトカインへ及ぼす脂肪酸の影響

前回の科学研究費による DNA マイクロアレイ解析では、ヒト脂肪細胞単独において、脂肪が大系的に炎症性サイトカインを誘導することが示されたが、脂肪酸の種類による差は顕著ではなかった。今回の結果から、細胞間の相互作用は、添加される脂肪酸による影響よりもはるかに大きく、さらにその相互作用において、摂取した脂肪酸の種類による差も顕著になることがわかった。人は通常の食事において油脂から様々な種類の脂肪酸を摂取するが、脂肪を多く蓄積している肥満においては、脂肪酸自身が直接及ぼす影響はそれほど大きくなくても、マクロファージなど生体内における他の細胞との相互作用では、脂肪酸種による影響も考慮する必要が示唆される。

(2) C2C12 骨格筋細胞における種々の脂肪酸の作用と DNA マイクロアレイ解析

申請者はこれまでに多価不飽和脂肪酸の組織細胞への直接的な影響について DNA マイクロアレイを用いて検討してきた。メタボリックシンドロームに関連する組織の一つとして、本研究では骨格筋細胞における脂肪酸の包括的な影響を検討した。

C2C12 筋管細胞を各種脂肪酸で 24 時間処理した後、DNA マイクロアレイ解析を行った。

	Number of genes				
	X ≤ 0.33	0.33 < X ≤ 0.5	0.5 < X ≤ 2	2 < X ≤ 3	3 < X
PA/Ctrl	1125		35652	1164	
	506	619		645	519
POA/Ctrl	1394		35147	1400	
	590	804		683	717
OA/Ctrl	1446		32976	3519	
	541	905		2223	1296
LA/Ctrl	1369		35541	1031	
	554	815		644	387
EPA/Ctrl	969		34539	2433	
	444	525		1448	985

表1 脂肪酸添加により発現の変化のあった遺伝子の数

表1に PA、POA、OA、LA および EPA を添加した時に発現変化が見られた数を示した。OA 添加がもっとも遺伝子の変化が大きかった。

得られたデータをパスウェイ解析したところ (表2)、POA と OA でカルシウムシグナルパスウェイに関連が見られた。また他のすべての脂肪酸も含め、neuroactive ligand-receptor interaction に高い関連が見られたが、メタボリックシンドロームやインスリン抵抗性に関与する筋管細胞における炎症作用や糖・脂質代謝にはほとんど影響が見られなかった (表3-5)。飽和脂肪酸の PA は C2C12 細胞で炎症作用を引き起こすことや、POA はインスリン様リポカインとして、GLUT4 の細胞膜への移行を促進して糖の取り込みを促進することなどが報告されているが、今回の DNA マイクロアレイの結果からはそのような影響は認められなかった。

Pathway	fatty acid	p-value	Gene changes
Calcium signaling pathway	PA	-	
	POA	0.078875	Htr7, Gnas, Ptkg1
	OA	6.66E-04	P2rx2, Ppp3ca, Sphk1
	LA	-	
	EPA	-	
Olfactory transduction	PA	-	
	POA	-	
	OA	2.61E-11	Olfir43, Olfir812, Olfir1255
	LA	0.012433	Olfir1441, Olfir1402, Olfir503
	EPA	1.20E-09	Olfir1387, Olfir577, Olfir319
Neuroactive ligand-receptor interaction	PA	0.028099	Grpr, Cckbr, Fshr
	POA	0.003439	Kiss1r, Npy1r, Drd2
	OA	3.71E-06	Bdkrb1, Grpr, Prlhr
	LA	0.030473	Htr5a, Npy1r, Fshr
	EPA	7.05E-05	Ghsr, Oprl1, Npy1r

表2 パスウェイ解析の結果

Gene	fold change (relative to control)				
	PA	POA	OA	LA	EPA
nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2, p49/p100 (Nfkb2)	1.002994	0.958326	0.853553	1.016784	0.794076
interleukin 1 beta (Il1b)	1.274853	1.297572	0.715873	1.02701	1.497688
interleukin 1 receptor, type 1 (Il1r1)	0.821564	0.960752	1.104367	0.904025	0.757651
interleukin 2 receptor, beta chain (Il2rb)	0.837851	0.992389	0.800958	0.945162	0.831952
interleukin 17D (Il17d)	0.912572	0.995041	0.619573	0.937667	0.725318
interleukin 17 receptor C (Il17rc)	0.938697	0.891894	0.818042	1.019572	0.868123
interleukin 18 (Il18)	1.002618	0.97811	0.790223	0.972806	0.877766
prostaglandin E synthase 2 (Ptges2)	1.07601	1.036234	0.820968	1.145432	0.873789
prostaglandin E synthase 3 (cytosolic) (Ptges3)	0.91416	0.868942	0.912967	0.908294	0.782361
prostaglandin-endoperoxide synthase 1 (Ptgs1)	1.052659	1.068533	1.162505	1.110442	1.106536
prostaglandin E receptor 2 (subtype EP2) (Ptger2)	0.906369	0.916961	0.75283	0.888415	0.7656
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1a (Tnfrsf1a)	0.885705	0.947625	1.099002	0.97483	0.828459
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 25 (Tnfrsf25)	1.061598	0.982093	0.521005	0.72456	0.531762
tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2 (Tnfaip2)	0.91022	0.999008	0.85752	0.988314	0.919443
tumor necrosis factor, alpha-induced protein 8 (Tnfaip8)	0.91029	0.991082	0.859177	0.929137	0.780296
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12a (Tnfrsf12a)	0.858562	0.899965	0.648573	0.905683	0.756883
tumor necrosis factor receptor superfamily, member 21 (Tnfrsf21)	1.045595	0.996086	0.9136	0.920477	0.836766
interferon gamma receptor 2 (Ifngr2)	0.946198	0.932741	0.724554	0.942457	0.771482
interferon gamma receptor 1 (Ifngr1)	0.788999	0.857925	0.701619	0.90409	0.805994

表3 炎症作用に関する遺伝子の変化

Gene	fold change (relative to control)				
	PA	POA	OA	LA	EPA
acyl-CoA synthetase long-chain family member 6 (Acsf6)	0.982087	1.116821	0.622832	1.080871	0.800098
acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (Acsf4)	0.922803	0.890249	1.05391	0.879002	0.871172
acyl-CoA synthetase family member 3 (Acsf3)	0.942651	1.018449	0.90999	1.051121	0.870553
acyl-CoA synthetase long-chain family member 1 (Acsf1)	1.08934	1.066699	0.999711	1.10921	0.954906
acyl-CoA synthetase short-chain family member 2 (Acsf2)	0.88567	0.860577	0.46353	0.762772	0.769739
acyl-CoA synthetase long-chain family member 5 (Acsf5)	0.970711	0.956874	0.813233	0.906904	0.81202
acyl-CoA synthetase family member 2 (Acsf2)	0.905046	0.895927	1.02944	1.05771	1.428543
acyl-CoA synthetase bubblegum family member 1 (Acsbg1)	1.021595	0.661383	0.658233	0.86713	1.050397
aldehyde oxidase 1 (Aox1)	0.919494	0.902784	0.650928	0.862052	1.002373
caritine palmitoyltransferase 1b, muscle (Cpt1b)	0.870545	1.205712	1.53258	1.144669	1.076077
lipoprotein lipase (Lpl)	0.976607	0.974324	1.038682	0.984977	1.078777
very low density lipoprotein receptor (Vldlr)	0.739521	0.901392	0.808334	0.912358	0.612827
low density lipoprotein receptor adaptor protein 1 (Ldlrap1)	0.938149	0.92474	0.655041	0.964151	0.811412
low density lipoprotein receptor class A domain containing 3 (Ldlrad3)	0.863763	0.904506	0.841395	0.945242	0.738227
low density lipoprotein receptor (Ldlr)	0.698959	0.839757	0.441911	0.799853	0.56307
acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2 (Acat2)	0.791526	0.955031	1.729283	0.951397	0.938877
acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 1 (Acat1)	0.847747	0.845121	0.725421	0.838548	0.641228
acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 3 (Acat3)	0.698709	0.928817	1.417122	0.815633	0.837907
3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 1 (Hmgcs1)	0.907529	0.950884	0.633823	0.83196	0.770739
3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase (Hmgcr)	0.966659	0.981607	0.82313	0.90947	0.802908
3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A lyase (Hmgcl)	0.992016	0.968782	0.716469	1.043158	0.762012
fatty acid synthase (Fasn)	0.77124	0.932903	0.591946	0.869972	0.69593

表4 脂質代謝関連遺伝子の変化

Gene	fold change (relative to control)				
	PA	POA	OA	LA	EPA
glycogen synthase 1, muscle (Gys1)	0.982219	0.936774	0.529464	0.921163	0.901673
glucan (1,4-alpha)-, branching enzyme 1 (Gbe1)	0.767468	0.859606	0.876463	0.823025	0.790401
UDP-glucose pyrophosphorylase 2 (Ugp2)	0.997971	0.984789	1.023367	1.032223	0.814971
UDP-glucose pyrophosphorylase 2 (Ugp2)	0.857702	0.875824	0.639992	0.883906	0.699076
glycogen synthase kinase 3 beta (Gsk3b)	1.05078	0.967157	0.50691	0.907821	0.781215
glycogen synthase kinase 3 alpha (Gsk3a)	1.055231	0.977985	0.847631	1.049118	0.971069
muscle glycogen phosphorylase (Pgm)	1.082827	1.158973	0.563456	1.245057	0.960474
phosphoglucomutase 2 (Pgm2)	0.810712	0.885373	0.785608	0.870655	0.688509
phosphoglucomutase 3 (Pgm3)	1.095504	0.928602	0.997855	0.956335	0.875893
phosphoglucomutase 1 (Pgm1)	0.847035	0.928105	0.853331	0.890403	0.729125
hexokinase 1 (Hk1)	0.931775	0.896339	0.750957	0.922974	0.738998
hexokinase 2 (Hk2)	0.981046	1.03434	0.959611	1.006112	0.994336
ADP-dependent glucokinase (Adgk)	0.748762	0.869242	0.88613	0.849895	0.847719
glucokinase regulatory protein (Gckr)	1.037283	1.195991	0.692901	1.437953	0.889137
glucose phosphate isomerase 1 (Gpi1)	0.880492	0.835532	0.736705	0.907876	0.742246
phosphofruktokinase, muscle (PfkM)	0.923252	0.995208	0.662944	0.990143	0.805438
aldolase A, fructose-bisphosphate (Aldoa)	0.933787	0.919802	0.874341	1.007855	0.838094
phosphoglycerate kinase 1 (Ppk1)	0.907355	0.799015	0.789745	0.871744	0.69629
phosphoglycerate kinase 2 (Ppk2)	0.624484	0.685105	0.608916	0.537999	0.883602
phosphoglycerate mutase 2 (Pgam2)	1.102748	1.239364	0.688813	1.36378	0.964715
phosphoglycerate mutase 1 (Pgam1)	0.871975	0.839164	0.92088	0.887365	0.69589
pyruvate kinase, muscle (Pkm2)	0.905547	0.764686	0.727901	0.842814	0.812304

表5 糖代謝関連遺伝子の変化

以上のことから、骨格筋においては、肝細胞や脂肪細胞とは異なり、脂肪酸は細胞に取り込まれて遺伝子発現に影響を与えるというより、より短時間におきる細胞膜表面からのシグナル伝達による作用が主ではないかと考えた。

そこでこれまでに報告されている脂肪酸における骨格筋細胞に対する影響がこれらのカルシウムシグナル伝達に関与しているのかどうかを調べることにした。筋管細胞は図4示すように、膜の脱分極あるいは細胞外からの刺激により筋小胞体内のカルシウムが細胞質に遊離することで、細胞内カルシウムが上昇する。カルシウム依存性のプロテインキナーゼ等の活性化により AMPK が活性化されると、GLUT4 の細胞膜への移行が促進されて糖取り込みが改善する可能性がある。また AMPK のリン酸化により、PPARδ を活性化することで、そのターゲット遺伝子である CPT1b の発現が上がれば、β酸化を亢進する可能性もある。これまでに報告されている種々の脂肪酸による耐糖能改善効果とカルシウムシグナルとの関連を検討することとした。

まず脂肪酸添加後 120 分までの細胞内カルシウム量を経時的に測定した。脂肪酸を添加

すると細胞内カルシウムは 5 分後には上昇を始め、10 分でピークとなり以後は減少した。中でも EPA はカルシウム濃度の上昇率が最も大きかった。一方、POA はピーク時のカルシウム濃度はインスリンやほかの脂肪酸と同程度であったが、他とは異なり 30 分以上たっても高いカルシウムレベルを保っていた。

マイクロアレイ解析で脂肪酸による変動の認められた、カルシウムシグナル関連タンパク質である Ryanodin receptor 1 (RYR1) の mRNA 発現量を定量 RT-PCR を用いて再検討した。図4に示すように、RYR1 は筋小胞体からカルシウムの遊離に関わる。RYR1 は POA、LA および EPA で無添加の場合に比べて 1.5~2.5 倍の発現上昇が認められたが、PA および OA では変わらなかった。また、POA では PPARδ の mRNA が上昇したが、そのターゲット遺伝子である CPT1b で若干の上昇が見られたものの、その差は顕著ではなかった。

各種脂肪酸添加時の骨格筋細胞へのグルコース取り込みが増加するのかどうかを、トリチウムラベルした doxyglucose の取り込み量で調べたところ、EPA 添加でインスリン刺激と同程度までグルコースの取り込みが上昇した。糖取り込みを増加させると報告されている POA も EPA ほどではないものの、糖取り込み促進効果が見られたが、骨格筋細胞におけるインスリンシグナルを調べるために akt のリン酸化を検討したところ、POA で活性化傾向が見られたが、インスリン刺激で 4.5 倍に対して POA では 2 倍程度であった。一方、AMPK のリン酸化は POA がもっとも大きく、EPA も POA と同程度に活性化された。

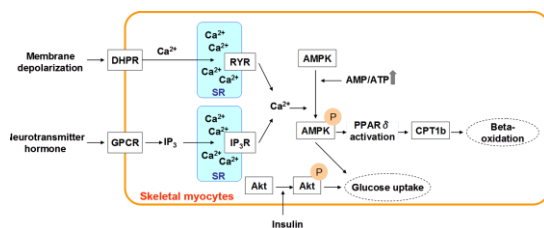


図4 筋管細胞におけるカルシウムシグナルの活性化

筋管細胞に添加した種々の脂肪酸がどのようにして細胞内カルシウムシグナル伝達にかかわるのかは、本研究では明らかにできなかったが、脂肪酸やその代謝物が GPCR のリガンドになることが報告されていることから、この経路を介して細胞内カルシウム濃度の上昇に関わる可能性や、より長時間の時間単位での処理では筋小胞体の RYR1 の発現を上昇させる可能性も示された。EPA はインスリンと同様に、処理後数分単位でのカルシ

ウム上昇を介して、糖取り込みを促進するのに対し、POA はそれと同様な作用に加え、AMPK 活性化剤である AICAR のような長時間のカルシウム濃度維持効果を伴っていることから、POA は EPA と作用メカニズムが少し異なっているのかもしれない。また、インスリンシグナルである akt のリン酸化は、EPA では認められなかったことなど、骨格筋における脂肪酸の細胞内カルシウム濃度を介したシグナル伝達作用について、再度詳細に検討する必要があると思われる。また脂肪細胞とマクロファージの共培養で、顕著に炎症作用が増加したことから、単一の細胞レベルだけではなく、組織や細胞間の相互作用が加わった時の、摂取脂肪の質、すなわち摂取脂肪酸の違いによる影響についての研究を進めていくことが重要である。

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)

1. 藤原葉子 脂肪酸の新規機能と栄養管理-メタボリックシンドロームにおける脂肪酸の質的变化の重要性-、査読有、日本病態栄養学会誌 (2011) 14 (2), 158-161

[学会発表] (計 3 件)

1. Saiko K, Kurihara C, Nagahata T, Sone Y, Nishikawa K and Fujiwara Y. The effect of fatty acid in C2C12 myotubes. 2011

International Conference on Food Factor P1-393, Nov. 20-23, 2011, Taipei, Taiwan

2. 齋藤可那子、栗原千明、長幡友実、西川可穂子、曾根保子、藤原葉子 脂肪酸がマウス由来 C2C12 細胞に与える影響-DNA マイクロアレイによる網羅的解析-、第 65 回日本栄養食糧学会大会 2011 年 5 月 15 日 第 65 回日本栄養・食糧学会大会、東京

3. Fujiwara Y, Iwamura M, Ozaki N, Ito T, Ikemoto S and Wabitsch M., Different effects of arachidonic and eicosapentaenoic acids on the inflammation in human adipocytes. 19th International Congress of Nutrition, 4-9th Oct, 2009, Bangkok, Thailand.

6. 研究組織

(1) 研究代表者 藤原葉子

藤原 葉子 (FUJIWARA YOKO)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授

研究者番号：50293105

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し