

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：11301  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23700899  
 研究課題名（和文）脂質代謝異常および動脈硬化病変に対する自発運動と食環境に関する研究

研究課題名（英文）Study on alleviation of lipid metabolism abnormality and arteriosclerosis by voluntary exercise and dietary environment

研究代表者  
 井上 奈穂（INOUE NAO）  
 東北大学・大学院農学研究科・助教  
 研究者番号：90510529

研究成果の概要（和文）：マウス由来肝細胞、筋細胞、脂肪細胞を用いた食品由来機能性成分のスクリーニング系のポジティブ／ネガティブコントロールとして共役リノール酸は不適切である可能性が示唆された。マウスを用いた自発運動実験の結果、強制運動を行わずとも十分な効果を得られることが示された。また、回転数（運動量）と血清中のインスリンおよびレプチン濃度は高い負の相関を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Conjugated linoleic acid was inappropriate as positive/negative control on the screening of dietary functional components by hepatocyte, myocyte and lipocyte derived from mouse. Voluntary exercise by mice was effective on alleviation of body fat mass reduction. In addition, the negative correlations between serum insulin and leptin levels and the rotation number of mice were found.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：食環境、脂質代謝異常、自発運動

### 1. 研究開始当初の背景

近年、我が国ではライフスタイルの欧米化が広く浸透し、高脂肪食の日常的な摂取による過栄養状態、オートマチック化された日常生活や車社会による運動不足などによって生活習慣病が急増しており、国民医療費抑制の観点からもその対策が急務とされている。生活習慣病はその名の示すとおり、好ましくない生活習慣によって惹起される疾病であるため、まずは生活習慣の改善によって、そ

の予防・改善をはかるべきである。

過栄養や運動不足の状態になると、生体にとって過剰なエネルギーは脂肪として体内に蓄積され、これが一定レベルを超えたときに肥満あるいは肥満症として病的意義をもつようになる。さらに、肥満は高脂血症や糖尿病、高血圧といった他の生活習慣病を誘発し、メタボリックシンドロームへと進行していく。メタボリックシンドロームは内臓脂肪の過剰蓄積の判定を必須項目として、それに

加えて脂質代謝異常、高血糖、高血圧のうち2つ以上を有することで診断される病態で、内臓脂肪型肥満の延長線上にある疾病概念である。メタボリックシンドロームは脳血管疾患や心血管疾患といった動脈硬化症の易発症状態につながることから、その基盤となる肥満の予防・改善が全ての病態の発症予防につながると考えられる。

近年、肥満を基盤とするメタボリックシンドロームの予防と改善に食品由来の機能性成分を活用する試みが広く行われている。確かに、過栄養状態と考えられる日常の食生活に機能性成分を取り入れることは有効な手段のひとつであるが、内臓脂肪蓄積をもたらす主要な原因には運動不足もあげられるため、食生活の改善だけでは限界がある。食生活の改善すなわち食事療法と運動不足の改善すなわち運動療法をストレスなく、バランス良く行うことがメタボリックシンドロームの予防と改善の第一歩につながると考えられる。

## 2. 研究の目的

肥満は脂質異常症や糖尿病、高血圧といった他の生活習慣病を誘発し、メタボリックシンドロームへと進行していく。このメタボリックシンドロームの予防と改善には、食生活の改善すなわち食事療法と運動不足の改善すなわち運動療法をストレスなく、バランス良く行うことが重要であると考えられる。そこで、本研究では実験動物にストレスが少ないホイールケージを用いた自発的運動による運動療法と食品由来の機能性成分を利用した食事療法の相加・相乗作用によるメタボリックシンドロームの効率的な予防・改善について評価を行う。

## 3. 研究の方法

本研究では、マウスの各器官由来の細胞を用いて、ポジティブ/ネガティブコントロールに対する各器官の応答性の違いを比較検討し、脂質代謝異常、炎症および酸化ストレスマーカーを改善する食品由来機能性成分のスクリーニングを行う。また、マウスを用いて、自発運動評価系としてホイールケージを利用した、メタボリックシンドローム、特に肥満、脂質代謝異常に対する運動療法についての検討を行う。同時に、エネルギー代謝測定装置を用いて、運動方法の違いによる基礎代謝量の変動について評価を行う。

スクリーニングによって同定された食品由来機能性成分の摂取による自発運動評価系での評価を行い、食事療法と運動療法の相互作用について検討する。

## 4. 研究成果

まず、マウス由来の肝細胞、筋細胞、脂肪

細胞を用いて、ポジティブ/ネガティブコントロールに対する各器官の応答性の違いを比較検討し、脂質代謝異常、炎症および酸化ストレスマーカーを改善する食品由来機能性成分のスクリーニングを行うこととした。ポジティブ/ネガティブコントロールとして、マウスにおいて著しい脂肪肝を発症するが、劇的な体脂肪減少作用を発揮することが知られており、また運動持久力を向上させることも報告されている共役リノール酸 (CLA) を選択した。まず、今回のスクリーニングの基礎となる CLA に対する各種細胞の応答性について、WST-8 assay および細胞タンパク量測定による細胞毒性および濃度依存性、細胞の Oil Red O 染色、細胞および培地中の各種脂質測定、細胞の遺伝子発現量解析、培地中の炎症マーカー測定の項目について評価を行った。その結果、予想に反して、肝細胞では脂肪滴の蓄積は観察されず、筋細胞では活発な細胞分裂を誘導せず、脂肪細胞では脂肪滴の蓄積は抑制されたものの、アポトーシスを誘導する、という結果になった。以上の結果より、CLA はポジティブ/ネガティブコントロールとして適切でないことが明らかとなり、新たなスクリーニング系の確立が必要であると考えられた。

次に、マウスを用いて、自発運動評価系としてホイールケージを利用した、メタボリックシンドローム、特に肥満、脂質代謝異常に対する運動療法についての検討を行った。6週齢雄 ICR マウスを体重が等しくなるように、ホイールケージへのアクセスを遮断した状態で飼育する非運動群 (Non-Aerobic 群; N 群) と、ホイールケージでの自発運動を自由に行うことのできる運動群 (Aerobic 群; A 群) の 2 群に群分けし、脂肪含量 45kcal% の高脂肪食を自由摂食で与えて 12 週間飼育した。飼育 6 週目までは各個体の 1 日あたりの回転数は 1000 回から 13000 回とばらつきがあったが、自発運動環境への順応が進むにつれ回転数の漸増および安定が認められ、飼育終了時には  $10754 \pm 1399$  回/日となった。飼育 3 週目までの摂食量は N 群が A 群と比較して有意に多かったが、自発運動環境への順応および運動量の漸増に伴って A 群の摂食量も増加し、飼育終了後の摂食量に差は見られなかった。一方、終体重、飼料効率、肝臓重量、内臓脂肪組織重量は A 群で有意に低い値を示した。脂質合成系や糖代謝系に関わる血清インスリン濃度は N 群と比較して A 群で低い傾向 ( $p=0.057$ ) を示し、また各個体の回転数と高い負の相関を示した ( $r=-0.954$ )。内臓脂肪重量と高い正の相関を持つことで知られる血清レプチン濃度には群間で差は認められなかったが、回転数との高い負の相関が認められた ( $r=-0.978$ )。インスリン濃度と負の相関を示すことが知られる血清アディポネクチン

ン濃度は N 群と比較して A 群で高い傾向 (p=0.051) を示したものの、回転数との相関はなかった。血清脂質濃度については A 群で低下傾向が認められたが、差はなかった。本研究結果を踏まえて、脂質低下作用が報告されているある種の食品成分を添加した食餌を用いて、相加・相乗作用について研究を行う予定である。

#### 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 4 件)

1. (査読有り) M. Kato, Y. Ito, Y. Tanaka, M. Sato, K. Imaizumi, N. Inoue, I. Ikeda, SHRSP/Izm and WKY/NCr1Crlj rats having a missense mutation in Abcg5 deposited plant sterols in the body, but did not changed their biliary secretion and lymphatic absorption-comparison with Jcl:Wistar and WKY/Izm rats, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 76(4), 660-664, 2012 (doi: 10.1271/bbb.110667)
  2. (査読有り) T. Hamada, M. Kudo, M. Sato, N. Inoue, K. Nagao, K. Imaizumi, I. Ikeda, Effect of a liver X receptor agonist on deposition and lymphatic absorption of plant sterols in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats that have a mutation in ATP-binding cassette transporter G5, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 75(12), 2359-2363, 2011 (doi: 10.1271/bbb.110554)
  3. (査読有り) N. Inoue, K. Nagao, S. Nomura, B. Shirouchi, M. Inafuku, H. Sakaida, T. Kai, S. Nishizono, T. Tanaka, T. Yanagita, Effect of *Vaccinium ashei* reade leaf extracts on lipid metabolism in obese OLETF rats, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 75(12), 2304-2308, 2011, (doi: 10.1271/bbb.110451)
  4. (査読有り) N. Inoue, K. Nagao, K. Sakata, N. Yamano, P. ER. Gunawardena, SY. Han, T. Matsui, T. Nakamori, H. Furuta, K. Takamatsu, T. Yanagita, Screening of soy protein-derived hypotriglyceridemic di-peptides *in vitro* and *in vivo*, *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 1-10, 2011, (doi: 10.1186/1476-511X-10-85.)
1. 一井洋和、小川望美、井上奈穂、池田郁男「等カロリーの低脂肪高炭水化物食と高脂肪低炭水化物食がマウスのエネルギーおよび脂質代謝に与える影響」第 46 回日本栄養・食糧学会東北支部大会、2012 年 11 月 17 日、山形県鶴岡市
  2. 小川望美、井上奈穂、池田郁男「脂肪の質および量を変化させた等カロリー食給餌ラットの脂質およびエネルギー代謝」第 33 回日本肥満学会、2012 年 10 月 11 日、京都府京都市
  3. 池田郁男、石川文子、都築毅、井上奈穂、田中美順、山田宗夫「アロエ由来の特殊な植物ステロールのラットにおける吸収と蓄積」第 24 回夏期油脂・コレステロール研究会、2012 年 7 月 21 日、和歌山県西牟婁郡白浜町
  4. 村田みのり、加藤正樹、合原生恵、井上奈穂、池田郁男「ABCG5 に変異のある WKY/NCr1Crlj ラットにおける植物ステロールの蓄積と排泄」第 24 回夏期油脂・コレステロール研究会、2012 年 7 月 21 日、和歌山県西牟婁郡白浜町
  5. 小川望美、井上奈穂、都築毅、池田郁男「等カロリーの低脂肪高炭水化物食と高脂肪低炭水化物食給餌ラットの脂質およびエネルギー代謝—大豆油と DHA-rich 魚油の影響—」第 66 回日本栄養・食糧学会大会、2012 年 5 月 19 日、宮城県仙台市
  6. 小林誠、加藤正樹、玉國恭平、井上奈穂、都築毅、池田郁男「ガレート型カテキンのコレステロール吸収抑制機構」第 66 回日本栄養・食糧学会大会、2012 年 5 月 19 日、宮城県仙台市
  7. 井上奈穂、玉國恭平、佐久間友美、都築毅、池田郁男、岸本由香「難消化性デキストリンの脂肪吸収抑制機構に関する研究」第 66 回日本栄養・食糧学会大会、2012 年 5 月 19 日、宮城県仙台市
  8. 船山明日和、井上奈穂、加藤正樹、周涌衛、橘伸彦、河野光登、都築毅、池田郁男「大豆  $\beta$ -コングリシニン摂取が 2 型糖尿病ラットの糖代謝および脂質代謝に及ぼす影響」第 66 回日本栄養・食糧学会大会、2012 年 5 月 20 日、宮城県仙台市
  9. N. Inoue, Y. Fujiwara, M. Kato, A. Funayama, N. Tachibana, M. Kohno, T. Tsuduki, I. Ikeda “Soybean  $\beta$ -conglycinin improves lipid metabolism in Wistar rats” 103rd American oil chemist’ society annual meeting & expo, 30/04/2012, Long Beach, California, USA
  10. 加藤正樹、村田みのり、井上奈穂、都築毅、池田郁男「ABCG5 に変異のある WKY/NCr1Crlj ラットの植物ステロール蓄

[学会発表] (計 18 件)

積への T0901317 摂取の影響」日本農芸化学会 2012 年度大会、2012 年 3 月 24 日、京都府京都市

11. 周涌衛、井上奈穂、都築毅、池田郁男、前川敏宏、出雲貴幸、井田正幸、中村淳一、北川義徳、柴田浩志「S-PT84 株によるラットの脂質代謝改善効果」日本農芸化学会 2012 年度大会、2012 年 3 月 25 日、京都府京都市
12. 小川望美、井上奈穂、都築毅、池田郁男「ラットのエネルギーおよび脂質代謝に及ぼす低脂肪高炭水化物食と高脂肪低炭水化物食の影響」第 45 回日本栄養・食糧学会東北支部大会、2011 年 10 月 29 日、岩手県盛岡市
13. 加藤正樹、合原生恵、井上奈穂、都築毅、池田郁男「植物ステロール高蓄積時の WKY/NCr1Cr1j ラットの体外への植物ステロール排泄」日本農芸化学会東北支部第 46 回大会、2011 年 11 月 8 日、山形県鶴岡市
14. 加藤正樹、小林和也、井上奈穂、都築毅、池田郁男、白川仁、櫛木智裕、小野佳子、木曾良信「セサミンはラット肝臓 ABCG5/G8 mRNA 発現および胆汁へのコレステロール排泄を亢進するが、糞への中性ステロイド排泄に影響を与えない」第 23 回夏期油脂・コレステロール研究会、2011 年 7 月 23 日、北海道帯広市
15. 池田郁男、石川文子、井上奈穂、都築毅、田中美順、山田宗夫「ラット胸管リンパへのアロエ由来植物ステロール吸収」第 65 回日本栄養・食糧学会大会、2011 年 5 月 14 日、東京都文京区
16. 小川望美、井上奈穂、都築毅、池田郁男「ラットに等カロリー条件で AIN93G 基準食と高脂肪低炭水化物食を与えたときのエネルギーおよび脂質代謝への影響」第 65 回日本栄養・食糧学会大会、2011 年 5 月 14 日、東京都文京区
17. 井上奈穂、藤原由佳、加藤正樹、橘伸彦、河野光登、都築毅、池田郁男「大豆  $\beta$ -コングリシニンがラットのエネルギーおよび脂質代謝に及ぼす影響」第 65 回日本栄養・食糧学会大会、2011 年 5 月 14 日、東京都文京区
18. 小林誠、井上奈穂、都築毅、池田郁男「ガレート型カテキンの胆汁酸ミセルからのコレステロール除去機構」第 65 回日本栄養・食糧学会大会、2011 年 5 月 14 日、東京都文京区

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井上 奈穂 (INOUE NAO)

東北大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：90510529

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：