

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25750035

研究課題名(和文) 自発運動と食環境が脂質代謝異常および動脈硬化病変に与える影響に関する研究

研究課題名(英文) Effects on alleviation of lipid metabolism abnormality and arteriosclerotic lesion by voluntary exercise and dietary environment

研究代表者

井上 奈穂 (INOUE, NAO)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：90510529

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)：細胞培養実験により「食品成分A」が脂質低下作用・炎症抑制作用を発揮することを示したが、長時間培養により著しいアポトーシスを誘導したため、その成分の処理方法や添加濃度に課題を残した。動物実験では「食品成分A」がエネルギー代謝・糖代謝・脂質代謝に与える影響を評価した。まず、単回投与では、炭水化物・脂肪いずれの消費にも差はなく、投与後の脂質パラメータにも差はなかった。食餌添加では、短期・長期摂取いずれも炭水化物消費の亢進、血糖値の低下が認められ、糖代謝改善作用を有する可能性が示された。さらに、肝臓の脂質パラメータおよび筋肉・脂肪組織の炎症マーカーを低下させた。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the effect of "dietary component A" on prevention of lipid accumulation and inflammation by hepatocyte, myocyte and lipocyte derived from mouse. However, "dietary component A" induced apoptosis in long-term cell culture. Additionally, we evaluated the effects of "dietary component A" on lipid metabolism, carbohydrate metabolism and energy metabolism in mice. First, we evaluated by single oral administration. In the result, carbohydrate consumption, fat consumption and lipid parameters were the same between the groups. Second, we evaluated as the diets including "dietary component A" in short-term feeding or long-term feeding. As the result of respiratory gas analysis, carbohydrate consumption was higher by the feeding of "dietary component A". Furthermore, Serum glucose level, the hepatic TAG level and the inflammation marker levels in muscle and WAT were significantly lower by the feeding of "dietary component A".

研究分野：総合領域

キーワード：脂質代謝 糖代謝 エネルギー代謝 食品

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、自動化された日常生活や車社会による運動不足などにより生活習慣病が急増している。生活習慣病はその名の通り、好ましくない生活習慣によって惹起される疾病であり、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、この状態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。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、本研究では自発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、マウスを用いた自発運動評価系としてホイールケージ

運動による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検討する。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、培養細胞を用いた食品成分のスクリーニング系の構築を目指し、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った。ポジティブコントロールとして「食品成分A」を用いた。「食品成分A」は研究代表者がこれまでの研究により、脂質低下作用・糖代謝異常改善作用を有することを明らかにした食品成分である。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」を用いた。これらを用い、各種細胞の応答性について、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い、スクリーニング系の確立を試みた。その結果、共役リノール酸はin vivoでの現象をin vitroで発揮することが非常に困難であり、コントロールとして不適切であることがわかった。一方、酵素処理により水溶性を与えた「食品成分A」はいずれの株細胞でも脂質低下作用・炎症抑制作用を発揮した。しかしながら、長時間培養の場合、著しいアポトーシスを誘導したことから、「食品成分A」の処理方法、添加濃度など、さらなる検討が必須であると考えられた。そこで、この成分について培養細胞系での評価を行うと同時に、「食品成分A」が実験動物のエネルギー代謝・糖代謝・脂質代謝に与える影響を評価した。まず、単回投与の影響について検討したが、炭水化物消費、脂肪消費いずれにも差は認められず、投与後の脂質パラメータ、血糖値にも対照群と実験群に有意差は認められなかった。このことから、「食品成分A」は一時的な摂取で効果を発揮するものではなく、ある程度の摂取期間を要することが明らかとなった。続いて、食餌に添加して、短期摂取・長期摂取で検討したところ、いずれの摂取期間においても、「食品成分A」は炭水化物消費の亢進および血糖値の低下が認められ、糖代謝改善作用を有する可能性が示唆された。しかしながら、経口グルコース負荷試験による耐糖能評価では群間に差は無かった。従来、耐糖能評価試験として用いられる経口グルコース負荷試験は経時的な尾採血を必要とし、この尾採血が実験動物にストレスを与え、正確な評価を妨げている可能性

が考えられる。そこで、安定同位体 ^{13}C -グルコース経口投与条件下でのエネルギー代謝測定を行うこととした。この方法は、呼気中に排出される $^{13}\text{C}\text{O}_2$ を検出するため、尾採血を必要とせず、実験動物にストレスを与えないだけでなく、摂取したグルコースの消費を迅速かつ明確に測定することを可能とする。その結果、実験群は対照群と比較して $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比のピークが早く現れ、グルコース処理能力の亢進が示唆された。また、「食品成分 A」は血中、肝臓の脂質パラメータを低下させ、筋肉、脂肪組織の炎症マーカーを低下させた。今後、さらなる飼育試験を行い、動脈硬化病変の観察を含め、より詳細なデータを蓄積していく予定である。

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) K. Yoshinaga, K. Sasaki, H. Watanabe, K. Nagao, N. Inoue, B. Shirouchi, T. Yanagita, T. Nagai, H. Mizobe, K. Kojima, F. Beppu, N. Gotoh, Differential effects of triacylglycerol positional isomers containing n-3 series highly unsaturated fatty acids on lipid metabolism in C57BL/6J mice, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(1), 57-63, 2015
2. (査読有り) Y. Kasahara, K. Sato, Y. Takayanagi, H. Mizukami, K. Ozawa, S. Hidema, KH. So, T. Kawada, N. Inoue, I. Ikeda, SG. Roh, K. Itoi, K. Nishimori, Oxytocin receptor in the hypothalamus is sufficient to rescue normal thermoregulatory function in male oxytocin receptor knockout mice, *Endocrinology*, 154(11), 4305-4315, 2013
3. (査読有り) Kobayashi M, Nishizawa M, Inoue N, Hosoya T, Yoshida M, Ukawa Y, Sagesaka YM, Doi T, Nakayama T, Kumazawa S, Ikeda I, Epigallocatechin gallate decreases the micellar solubility of cholesterol via specific interaction with phosphatidylcholine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(13), 2881-2890, 2014
4. (査読有り) 井上奈穂、藤原由佳、船山明日和、加藤正樹、池田郁男、 β -コングリシニンのエネルギーおよび脂質代謝に与える影響に関する研究、大豆たん白質研究、15巻、68-71、2013

[学会発表](計21件)

1. 伊藤知美、井上奈穂、池田郁男「緑茶カテキンが脂肪酸の代謝に与える影響」第48回日本栄養・食糧学会東北支部大会、2014年11月1日、宮城県仙台市
2. 池田郁男、石田良衛、滋田芽衣子、伊藤知美、井上奈穂「高脂肪低炭水化物食と低脂肪高炭水化物食のエネルギー代謝へ

の影響 -SDラットとC57BL/6Jマウス-」第35回日本肥満学会、2014年10月24日、宮崎県宮崎市

3. (招待講演) 井上奈穂「脂肪の質と含量が異なる等カロリー食がエネルギーおよび脂質代謝に与える影響」日本油化学会53回年会、2014年9月11日、北海道札幌市
4. 滋田芽衣子、井上奈穂、池田郁男「Sucrose、Fructose及びGlucoseの摂取がラットのエネルギー及び脂質代謝に与える影響」第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日、北海道江別市
5. 伊藤知美、井上奈穂、池田郁男「緑茶カテキンがエネルギーおよび脂肪酸代謝に与える影響」第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日、北海道江別市
6. 小林誠、井上奈穂、卯川裕一、堤坂裕子、池田郁男「緑茶カテキンとホスファチジルコリンおよびコレステロールとの分子間相互作用解析」第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日、北海道江別市
7. 池田郁男、一井洋和、井上奈穂「低脂肪高炭水化物食と等カロリーの高脂肪低炭水化物食がエネルギーおよび脂質代謝に与える影響 -高週齢C57BL/6Jマウス-」第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日、北海道江別市
8. 井上奈穂、船山明日和、橘伸彦、河野光登、池田郁男「大豆 β -コングリシニン摂取時の糖消費能力の評価 - ^{13}C -グルコース投与による呼気ガス測定試験-」第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日、北海道江別市
9. 井上奈穂「 ^{13}C -グルコースを用いたエネルギー代謝測定による大豆 β -コングリシニン摂取が糖代謝に与える影響に関する研究」不大豆たん白質研究振興財団第17回(平成25年度採択課題)研究報告会、2014年5月26日、東京都品川区
10. N. Inoue, A. Funayama, M. Kato, N. Tachibana, M. Kohno, T. Tsuduki, I. Ikeda, Short-term soybean β -conglycinin feeding improves lipid and carbohydrate metabolism in GK rats, 105th American oil chemist's society annual meeting & expo, 2015.5.5, San Antonio, Texas, USA
11. 村田みのり、荒井達也、船山明日和、井上奈穂、池田郁男「胆汁を介さない小腸からのコレステロール排泄に影響する因子」日本農芸化学会2014年度大会、2014年3月30日、神奈川県川崎市
12. 井上奈穂、小川望美、池田郁男「低脂肪高炭水化物食と等カロリーの高脂肪低炭水化物食がエネルギーおよび脂質代謝に与える影響 -SDラット 7% vs 21%ラード食-」日本農芸化学会2014年度大会、2014年3月29日、神奈川県川崎市
13. 滋田芽衣子、井上奈穂、池田郁男「炭水

- 化物の種類の違いがエネルギー及び脂質代謝に与える影響」第 34 回日本肥満学会、2013 年 10 月 11 日、東京都千代田区
14. 伊藤知美、井上奈穂、池田郁男「緑茶カテキンがエネルギーおよび脂質代謝と内臓脂肪蓄積に与える影響」第 34 回日本肥満学会、2013 年 10 月 11 日、東京都千代田区
 15. 石田良衛、井上奈穂、池田郁男「摂食回数を変化させた高脂肪食給餌ラットの臓脂肪蓄積およびエネルギー代謝への影響」第 34 回日本肥満学会、2013 年 10 月 11 日、東京都千代田区
 16. 村田みのり、荒井達也、船山明日和、井上奈穂、池田郁男「胆汁を介さないコレステロール排泄機構の解明」第 47 回日本栄養・食糧学会東北支部大会、2013 年 10 月 5 日、秋田県秋田市
 17. 荒井達也、船山明日和、村田みのり、井上奈穂、池田郁男「胆汁酸の違いが小腸でのコレステロール及びシトステロール吸収に与える影響」日本油化学会第 52 回年会、2013 年 9 月 5 日、宮城県仙台市
 18. 池田郁男、小川望美、井上奈穂「低脂肪高炭水化物食と等カロリーの高脂肪低炭水化物食がエネルギーおよび脂質代謝に与える影響 -SD ラット-」第 67 回日本栄養・食糧学会大会、2013 年 5 月 25 日、愛知県名古屋市
 19. 一井洋和、小川望美、井上奈穂、池田郁男「低脂肪高炭水化物食と等カロリーの高脂肪低炭水化物食がエネルギーおよび脂質代謝に与える影響 -C57BL/6J マウス-」第 67 回日本栄養・食糧学会大会、2013 年 5 月 25 日、愛知県名古屋市
 20. 船山明日和、井上奈穂、橘伸彦、河野光登、池田郁男「大豆 β - コングリシニンの糖代謝異常改善効果のメカニズム」第 67 回日本栄養・食糧学会大会、2013 年 5 月 25 日、愛知県名古屋市
 21. N. Inoue, A. Funayama, M. Kato, N. Tachibana, M. Kohno, T. Tsuduki, I. Ikeda, Soybean β -conglycinin improves carbohydrate metabolism in type 2 diabetes mellitus models, GK rats, 104th American oil chemist' society annual meeting & expo, 2013.4.29, Montréal, Canada

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 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

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：