

第 71 回日本栄養・食糧学会中部支部大会一般講演プログラム

〈演題①～⑤〉 座長：下村吉治（名古屋大学）

13:05

- ①オルトジヒドロキシイソフラボンの最終糖化産物 (AGEs) 生成に対する影響
○平松直人、梅田周佑、呉暁紅、岡田利孝（株式会社東洋発酵）

13:14

- ②老化促進モデルマウス SAMP1 におけるグルコラファニン高含有ケールの皮膚老化抑制作用
○内堀友貴、片山茂、田中禎子、三谷壘一、中村宗一郎（信州大学）

13:23

- ③牛乳アレルギーの経口免疫療法における血清特異抗体の変動と予後および寛容誘導との関連
○櫻井那央、大島健司、灘野大太、長門(伊藤)直香、長尾みずほ、下条直樹、岩田力、藤澤隆夫、松田幹（名古屋大学）

13:32

- ④難消化性デキストリンは 1 kcal/g か？
○近藤位旨、稲葉一穂、源田知美、日野真吾、森田達也（静岡大学）

13:41

- ⑤グリシドール脂肪酸エステル食品中含量及び生成メカニズムの解明
○伊藤郁加、稲垣僚、島村裕子、三好規之、増田修一（静岡県立大学）

〈演題⑥～⑩〉 座長：長岡 利（岐阜大学）

13:50

- ⑥マウス骨格筋の運動時のエネルギー代謝に及ぼす分岐鎖アミノ酸分解亢進の影響
○徐旻珺、寺井智勇、新土大地、北浦靖之、下村吉治（名古屋大学）

13:59

- ⑦長期的な脂質、炭水化物の摂取比率に応答する血中リン脂質
○井上瑞樹、佐藤友紀、妹尾奈波、西村友里、三好規之、合田敏尚、守田昭仁、三浦進司（静岡県立大学）

14:08

- ⑧LPS 刺激した HT-29 腸管細胞に対するエリンギ抽出物の抗炎症作用
○小林仁、川井絢矢、大内謙二、稲富聡（ホクト株式会社）

14:17

- ⑨プロポリス成分による褐色脂肪細胞化誘導と機序解明
○青山広樹、西川翔、神谷美沙、吉村一輝、熊澤茂則、津田孝範（中部大学）

14:26

⑩ブドウ球菌毒素エンテロトキシンA 遺伝子の伝播機序の解明

○折原杏奈、尾崎順哉、島村裕子、三好規之、増田修一（静岡県立大学）

14:35 休憩

〈演題⑪～⑭〉座長：堀尾文彦（名古屋大学）

14:45

⑪ビタミンB₆欠乏により惹起される肝臓脂質蓄積に対するベタインとコリンの効果

○太田勇氣、北川絵里奈、長谷川万記、中川智行、早川享志（岐阜大学）

14:54

⑫ラットにおける腸内細菌によるビタミン産生に及ぼす難消化性オリゴ糖摂取の影響

○田辺賢一、中山真菜、横地侑香、中村禎子、奥恒行（名古屋女子大学）

15:03

⑬ラクトスタチン(IIAEK)は肝特異的転写因子HNF-3 α を介して

コレステロール分解を促進する

○大林由季奈、磯貝渚、井辰かおる、島田昌也、長岡利（岐阜大学）

15:12

⑭放射性物質による内部被爆を防ぐ食品素材・成分の探索

○上原祐也、石塚加奈、島村裕子、保田倫子、下位香代子、
増田修一（静岡県立大学）

〈演題⑮～⑱〉座長：森田達也（静岡大学）

15:21

⑮脂肪肝モデル：SMXA-5マウスの脂質代謝・炎症関連遺伝子の発現特性

○金森深作、小林美里、鈴木京、村井篤嗣、堀尾文彦（名古屋大学）

15:30

⑯Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1欠損による絶食時の代償的アミノ酸代謝亢進

○佐藤友紀、吉田悠馬、守田昭仁、森展子、三浦進司（静岡県立大学）

15:39

⑰Effects of adipose-specific promotion of branched-chain amino acid (BCAA) catabolism on plasma BCAA concentrations in mice

○Jussiaea V. Bariuan、Izza Dinalhaque Pranatasari、徐旻璿、
門田吉弘、太田美樹、森下由佳子、北浦靖之、下村吉治（名古屋大学）

15:48

⑱絶食-再摂食時の肝臓における解糖系および脂肪酸合成系の遺伝子発現に及ぼす脂肪酸の影響

○高見紗依子、松本氣寧子、本間一江、望月和樹、合田敏尚（静岡県立大学）

①オルトジヒドロキシイソフラボンの 最終糖化産物(AGEs)生成に対する影響

○平松直人、梅田周佑、呉曉紅、岡田利孝
(株式会社東洋発酵)

【目的】

糖化とはアミノ酸・タンパク質と還元糖による非酵素的な反応を経て、終末糖化産物(AGEs: Advanced Glycation End-products)が生成することである。近年、生体組織へのAGEsの生成・蓄積が生体タンパク質の変性や機能低下を引き起こし、その結果糖尿病やその合併症、シワやタルミなど様々な疾患に関与していることが明らかとなっている。従って糖化を防ぐためには、糖化反応を阻害しAGEsの生成を抑制したり、蓄積したAGEsを分解したりすることが重要であると考えられている。我々は食品および化粧品に応用可能な抗糖化機能を有する素材の開発を目的として新規成分の探索を実施した結果、大豆イソフラボンを主成分とした大豆エキスを黒麹菌で発酵させた発酵物(発酵大豆イソフラボン)に強い抗糖化作用があることを見出した。今回この発酵大豆イソフラボンによるAGEs生成に対する影響について報告する。

【方法】

・蛍光性AGEsの生成阻害試験

モデルタンパク質として選択したヒト血清アルブミン(HSA)、コラーゲン(COL)、エラスチン(ELA)、ケラチン(KER)とグルコース及び発酵大豆イソフラボンまたはアミノグアニジンを加えた後、リン酸緩衝液中で反応させ、蛍光強度を測定することによって蛍光性AGEsに対する生成阻害作用を求めた。

・CML、ペントシジン、3DGの生成阻害試験

HSAとグルコース及び発酵大豆イソフラボンまたはアミノグアニジン(EGCg)をリン酸緩衝液中で反応させた。CMLはELISA法で測定し、ペントシジンは反応液を塩酸加水分解後、3DGは2, 3-diaminonaphthaleneでアミノナフタレン誘導体化後に逆相HPLCにて測定することで生成阻害作用を求めた。

・AGEs架橋切断作用(ジカルボニル結合切断作用)

AGEs架橋モデル物質1-phenyl-1, 2-propanedioneを用いて、評価サンプルの分解作用によって遊離した安息香酸量を逆相HPLCにより測定した。評価方法は架橋切断作用物質であるphenacyl-thiazolium bromide(PTB)の架橋切断活性を100とした場合の相対値として算出した。

【結果】

モデルタンパク質を用いた反応系において、発酵大豆イソフラボンは濃度依存的に蛍光性AGEs及びCML、ペントシジン、3DGに対して生成抑制作用を示し、その活性はアミノグアニジンまたはEGCgよりも高いことが示された。またこれら抗糖化作用を示す有効成分は、発酵過程において生成されるオルトジヒドロキシイソフラボン(ODI)であることが明らかとなった。AGEs架橋切断作用においても、発酵大豆イソフラボンは濃度依存的にジカルボニル化合物の切断活性が高くなり、またその活性はAGEs分解剤であるPTBよりも高いことが示された。

②老化促進モデルマウス SAMP1 における グルコラファニン高含有ケールの皮膚老化抑制作用

○内堀友貴¹、片山茂²、田中楨子³、三谷墨一⁴、中村宗一郎¹
(¹信州大院農・機能性食、²信州大農・応用生命、³ヤクルトヘルス株式会社、
⁴信州大・バイオメディカル研)

【目的】

超高齢社会を迎えた日本ではアンチエイジングへの関心が年々高まっている。なかでも皮膚老化の予防は、健康面だけでなく美容面でも注目されている。老化の進行には加齢に伴う酸化ストレスの蓄積が密接に関与することが指摘されているが、野菜や果物に含まれる抗酸化成分の摂取は酸化ストレスの軽減に有効であると考えられる。スルフォラファンはNrf2活性化剤として各種抗酸化酵素の発現誘導をもたらすが、揮発性が高く加工安定性に欠ける。そこで我々はスルフォラファンの前駆体であるグルコラファニンに着目し、グルコラファニンを高含有する品種改良ケール（以下、ハイパールと称す）を開発した。本研究は、ハイパールの機能性を探索する目的で、老化促進モデルマウス SAMP1 を用いてハイパール摂取の皮膚老化抑制作用を検討すると共に、一般的なケール品種（ハイクロップ）との比較を行った。

【方法】

AIN-93M を基本食とし、コントロール群、ケール摂取群およびハイパール摂取群（それぞれ1% (w/w) 搾汁粉末添加食）の3群に分け、SAMP1 マウス（5週齢、雄性）に39週間自由摂取させた。飼育期間中マウスを観察し、外観の老化度を評価した。解剖後、背部皮膚を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色した組織切片を顕微鏡で観察し、表皮および真皮の厚みを計測した。続いて、リアルタイムPCR法により皮膚中の遺伝子発現解析を、ウエスタンブロットティング法によりタンパク質発現解析を行った。

【結果・考察】

ハイパール摂取群の外観の老化度は、コントロール群と比較して低い値を推移することが示された。特に皮膚と毛並みに関する項目では、有意に低い値を示した。ケールにおいても同様の傾向が示されたが、ハイパールの方が顕著な低下が認められた。続いて皮膚組織切片を作製し、画像解析を行ったところ、ハイパール摂取群の表皮および真皮の厚みはコントロール群と比較して厚い傾向を示した。加齢に伴う表皮と真皮の菲薄化は、内因性の皮膚老化徴候として皮膚バリア機能の低下を招くことから、ハイパール摂取は加齢に伴う皮膚老化を抑制することが示唆された。次に皮膚の遺伝子発現解析を行ったところ、Nrf2 標的遺伝子の代表的な抗酸化酵素であるHO-1 とNQO1 の発現量は、コントロール群と比較してハイパール摂取群において増加することが認められた。タンパク質発現解析においては、特にHO-1 の有意な増加が示された。以上の結果から、ハイパールの長期摂取はSAMP1の外観上の老化進行を抑制すること、さらにその効果は抗酸化酵素群の発現誘導に関与していることが示唆された。

③牛乳アレルギーの経口免疫療法における血清特異抗体の変動と予後および寛容誘導との関連

○櫻井那央¹、大島健司¹、灘野大太¹、長門（伊藤）直香^{2,3}、長尾みずほ⁴、
下条直樹⁵、岩田力^{4,6}、藤澤隆夫⁴、松田幹¹
(¹名古屋大学・生命農、²理研・統合生命医セ、³国立病院下志津、⁴国立病院三重、
千葉大学・医⁵、東京家政大⁶)

【背景と目的】

食物アレルギーは乳幼児に多く、多くの例では適切な除去食治療などにより成長とともに自然寛解（耐性の獲得）に至るが、一部には学齢期になっても継続する例もあり、学校給食での誤食によるアナフィラキシーショックのような重篤なアレルギー症状が誘発されることもある。近年、食物アレルギーの根本的な治療法の確立を目指して、経口免疫療法（医師の管理の下でアレルゲンを摂取して寛容の誘導を目指す治療法）に関する臨床研究が行われている。しかし、治療効果に関しては個人差も大きく、耐性獲得の機構も十分には解明されていない。そこで本研究では、経口免疫療法による有効な治療方法の確立と治療による経口免疫寛容誘導機構の解明を目指して、除去食治療では寛解しない牛乳アレルギー患者を対象に経口免疫療法治療期間中の牛乳タンパク質成分に対する血清抗体価の変動を測定し、各成分に対する血清抗体価の特徴と牛乳耐性獲得や脱感作（特異抗体の減少）との関連性を明らかにすることを目的とした。

【方法、結果および考察】

牛乳経口負荷試験陽性（症状誘発）患者 32 名（5-12 歳）を対象に牛乳摂取量を到達目標まで徐々に増やす 2-3 週間程度の急速経口免疫療法を行い、その後 1 年間、自宅において到達最大摂取量での牛乳摂取治療を継続した。この間、血清中の牛乳主要タンパク質成分に特異的な IgE 抗体を ELISA で測定した。牛乳除去食治療中である登録時において多くの例で牛乳タンパク質に対する血清 IgE 抗体が検出され、乳清タンパク質よりもカゼインに対する IgE 抗体が優勢であった。多くの例では、カゼインに対する IgE 抗体の変動が大きく、急速経口免疫療法終了後には牛乳タンパク質に対する IgE 抗体価が上昇し、その後の牛乳の継続摂取 2 ヶ月後には登録時（治療前）のレベルまで低下した。治療期間を通して・s1-および・-カゼインの両方に、あるいはいずれか一方に対して IgE 抗体の増減が見られ、多くの例はこの 2 群に分類された。登録時において両カゼイン成分に IgE 抗体が明確に検出された群（5 例）では、 κ -カゼインや乳清タンパク質に対する IgE 抗体も検出される頻度が高く、急速経口免疫療法終了後にも IgE 抗体が残存し脱感作が不完全であり、その後の 1 年間の牛乳の継続摂取治療においても耐性を獲得できなかった。一方、いずれか一方のカゼイン成分に対する IgE 抗体が明確に検出された群では、急速経口免疫療法により脱感作誘導が顕著であり、約 1/3（4 例）において 1 年間の継続摂取治療により牛乳耐性が獲得された。これらの結果から、多数の抗原で感作されている例では経口免疫寛容が誘導されにくく耐性獲得の期待値が低いこと、また、経口免疫療法開始前の牛乳除去食治療中でのカゼイン成分に対する IgE 抗体価は、牛乳アレルギーの経口免疫療法を実施する上で治療の有効性を予測する一つの指標になることが示唆された。

④難消化性デキストリンは1 kcal/gか？

○近藤位旨¹、稲葉一穂²、源田知美¹、日野真吾³、森田達也³
(¹ 静大・創造科学技術大学院、² 静大院・総合科学、³ 静大・学術院)

【目的】

難消化性デキストリン(RM)は、食物繊維含量92% (AOAC 公定法)、 カロリー 1 kcal/g (本邦での基準)と推定されている。さらに、RMは糖・脂質の吸収を抑制するなどの生理機能を有するとされ、特定保健用食品素材に汎用されている。RMはその *in vitro* 食物繊維定量値から小腸でほとんど消化されないと考えられているが、生体(*in vivo*)での小腸消化性は検討されていない。また、RMの推定カロリー値は臨床・前臨床試験ともに単回投与時における評価であり、継続摂取による消化管の適応は考慮されていない。本研究の目的は、RMに加え類似の製法で調製され、類似の構造特性を有するポリデキストロース (PD)および難消化性グルカン (RG)の消化管内動態を回-直腸吻合ラット(ope-ラット)および正常ラットでの出納試験、さらに小腸刷子縁膜酵素を用いた人工消化試験から明らかにし、一連の試験結果からRM継続摂取時のカロリーを推定することである。

【方法】

ラットを用い、5%のセルロースを含む対照飼料、または対照にRM、PDまたはRGをそれぞれ5%添加した飼料を与えた。①ope-ラットでの出納試験は1期(9日間)と2期(10日間)の2回行い、2期では0.1%ネオマイシンを含む飲料水を与えた。各期最終3日間に糞便を採取し、糞に排泄された重合度3以上の多糖の定量値から各素材の小腸消化抵抗性を求めた。②ラット小腸粘膜から調製した刷子縁膜画分(マルターゼ活性; ~4000 units)ならびにブタ膵 α -アミラーゼ (50 units/mL)を16時間作用させたときの各素材の消化抵抗性を測定した。③正常ラットを用い、試験①と同様の飼料で10日間飼育した。試験最終3日間に糞便を採取し、試験①と同様に各素材の全消化管を通しての消化抵抗性を測定した。

【結果・考察】

Ope-ラットでの各化合物の小腸消化抵抗性(%)は66.4(RM)、61.3(PD)および66.5(RG)で、これらの値は人工消化法によって求めた消化抵抗性(%)と近似していた(RM、69.7; PD、67.2; RG、69.1)。一方、公定法による小腸消化抵抗性(%)は91.5(RM)、79.8(PD)および82.2(RG)であり、両者は大きく乖離することが明らかとなった。また、各素材の全消化管を通しての消化抵抗性(%)は13.3(RM)、33.1(PD)および28.6(RG)であり、一連の結果から、大腸発酵により消失する各素材の割合は、RM(53.1%)、PD(28.2%)およびRG(37.9%)と推定された。これらのデータを基に、小腸消化由来のカロリーを4 kcal/g、大腸発酵由来カロリーを2 kcal/gと仮定したとき、各素材のカロリー値(kcal/g)は、2.4(RM)、2.1(PD)および2.1(RG)となった。RMのカロリーは現行の1 kcal/gをはるかに上回る。

⑤グリシドール脂肪酸エステル類の食品中含含有量及び生成メカニズムの解明

○伊藤郁加¹、稲垣僚^{1,2}、島村裕子^{1,2}、三好規之^{1,2}、増田修一^{1,2}
(¹静岡県大食品栄養、²静岡県大院薬食生命科学)

【目的】

グリシドール脂肪酸エステル (GEs) 及び 3-クロロプロパン-1、2-ジオール (3-MCPD) 脂肪酸エステル (3-MCPDEs) は、食用油の製造工程である脱臭処理中の 230~290℃の高温条件下で生成し、生体内に摂取されると、リパーゼの作用により、発がん性物質であるグリシドール及び 3-MCPD となると考えられている。これら GEs 関連物質の食用油以外の暴露摂取源やその生成メカニズムについての報告は少なく、これら物質のリスク評価を行うには不十分である。そこで、本研究では、食用油以外の GEs 関連物質の暴露摂取源を明らかにするために、脂質含有食品である各種畜肉及び魚肉を、実際の調理条件を考慮した様々な加熱条件下で処理し、GEs 関連物質が生成するか検討した。また、GE 関連物質の前駆体であるジアシルグリセロール (DAG) やトリアシルグリセロール (TAG) に各種塩類や触媒を添加し、GE 関連物質が生成するか検討することにより、生成メカニズムの解明を目指した。

【方法】

3 種類の畜肉 (豚、牛、鶏肉) のひき肉をパティ状に形成した試料及び 4 種の魚肉 (サケ、サンマ、サバ、ブリ) の切り身試料を、調理器具を用いたガス火調理及び炭直火調理した後、油脂の抽出及び固相カラムを用いた前処理を行い、これら加熱試料中の各 GEs 及び 3-MCPDEs 量を、LC-MS/MS 等を用いて測定した。また、畜肉試料に 1.5%、3%の NaCl を添加・混合し、同様に加熱処理及び抽出・測定を行った。さらに、ヘキサデカンに溶解させた DAG 及び TAG に、Cl⁻の供給源及び触媒として、KCl、NaCl、FeCl₂、FeCl₃、ZnCl₂、CuCl₂を加え、240℃で加熱処理した後、GEs 及び 3-MCPDEs 量を測定した。

【結果・考察】

強火ガス加熱調理 (約 250℃) した豚肉及び牛肉中において、各 GEs が生成した。また、表面温度が 500℃程に達する炭火加熱で加熱された豚肉、牛肉、鶏肉においては、ガス火加熱に比べて 10 倍以上の GEs が生成した。ガス火加熱調理 (約 350℃) したサケ、サンマ、サバ及びブリにおいても、各 GEs が生成し、畜肉中ではみられなかった 3-MCPDEs も検出された。また、NaCl を添加した畜肉及び魚肉中で 3-MCPDEs が生成した。さらに、GE 関連物質の前駆体である DAG 及び TAG に FeCl₂、FeCl₃ を添加することで、GE 関連物質が生成することが明らかとなった。以上の結果より、我々は日常的に食事を通して、これら GEs 関連化学物質を摂取しており、その生成には、塩化物等の存在が影響することが示唆された。

⑥マウス骨格筋の運動時のエネルギー代謝に及ぼす 分岐鎖アミノ酸分解亢進の影響

○徐旻珺、寺井智勇、新土大地、北浦靖之、下村吉治
(名古屋大学大学院)

ロイシン、イソロイシン、バリンは、その構造的および代謝的特徴より分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) と総称される必須アミノ酸である。骨格筋は体重の約40%を占め、BCAAはタンパク質を構成するアミノ酸の約20%に相当することより、骨格筋タンパク質に多くのBCAAが含まれる。骨格筋におけるBCAA分解は、その分解系の第2ステップに存在する分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素 (branched-chain α -keto acid dehydrogenase: BCKDH) により調節される。BCKDHは、特異的キナーゼ (BCKDH kinase: BDK) により不活性化される調節を受ける。我々は、筋特異的にBDKをノックアウトするマウス (BDK-mKO マウス) を作製し、BCAA分解亢進による慢性的BCAA不足が運動トレーニングに対する適応性を低下させることを報告した。本研究では、この現象のメカニズムを解明するために、BDK-mKOマウスを用いて、このマウスに運動を負荷したときの代謝変動をメタボロミクス解析等により検討した。

【方法】

BDK-mKOマウスとコントロール (Con) マウスに2週間のトレーニング (15 m/min、x 60min、5回/週×1週間→18m/min×60min、5回/週×1週間) を負荷した。その後安静群と運動群に分け、運動群のマウスに32分間の運動 (15m/minの速度からスタートし、4分ごとに1 m/minずつ速度を上昇) を負荷し、その直後に後肢筋を採取して解析を行った。安静群のマウスは安静状態で後肢筋を採取して解析した。

【結果】

筋肉のBCAAと分岐鎖 α ケト酸がBDK-mKOマウスで低値を示し、分岐鎖短鎖アシルカルニチンがBDK-mKOマウスで著しい高値を示した。よって、BDK-mKOマウス骨格筋での著しいBCAA分解が確認された。筋グリコーゲン量はBDK-mKOマウスで低値を示し、ConマウスとBDK-mKOマウスとも運動によって減少した。解糖系では、fructose 1,6-diphosphateと2-phosphoglyceric acidがBDK-mKOマウスで有意に低下していた。Dihydroxyacetone phosphateとphosphoenolpyruvic acidがBDK-mKOマウスで低い傾向が見られた。これらの代謝物がConマウスで運動によって減少する傾向があったが、BDK-mKOマウスで運動の影響が見られなかった。Acetyl-CoAは、安静群Conマウスより安静群BDK-mKOマウスで有意に低値であり、運動によってConマウスで減少したがBDK-mKOマウスでは変化しなかった。TCA回路成分のcitrateとisocitrate濃度は、安静状態においてBDK-mKOマウスで低値を示した。

【結論】

1. BCAA不足は筋グリコーゲンが減少させた。
2. 慢性的なBCAA不足は糖代謝の一部の反応基質を減少させた。
3. BDK-mKOマウスの骨格筋ではBCAA代謝が亢進するが、Acetyl CoAやSuccinyl CoAではなく、アシルカルニチンへ代謝された。

⑦長期的な脂質、炭水化物の摂取比率に応答する血中リン脂質

○井上瑞樹¹、佐藤友紀¹、妹尾奈波¹、西村友里¹、三好規之^{1,2}、合田敏尚^{1,2}、
守田昭仁^{1,2}、三浦進司^{1,2}

(¹静岡県大学院薬食生命科学総合学府、²静岡県立大学食品栄養科学部)

【背景・目的】

炭水化物、脂質の摂取比率を適正に保つことは、健康の維持、肥満予防に重要であるが、現在、総炭水化物、総脂質摂取量を推定するための特異的なバイオマーカーは存在しない。我々は、長期間の高炭水化物(HC)食、高脂質(HF)食の摂取によって肝臓で生じる脂肪酸代謝変化が、絶食時の血漿中リン脂質に結合する脂肪酸種に反映されるのではないかと考えた。そこで本研究では、8週間にわたるHC食、HF食摂取後の血漿に含まれるリン脂質分子種を網羅的に測定し、炭水化物、脂質の摂取エネルギー比率に応じて変化するリン脂質分子種の探索を試みた。

【方法】

実験1：C57BL/6J マウスを4群に分け、それぞれの試験食を8週間与え、血漿中のリン脂質分子種をLC/MSを用いて網羅的に解析した。検討①では コントロール食 (10 energy % (en%) fat and 70 en% carb)、HC食 (5 en% fat and 80 en% carb)、HF safflower oil食 (60 en% fat and 20 en% carb)、HF soybean oil食 (60 en% fat and 20 en% carb)を、検討②では脂質エネルギー比率を段階的に変えた試験食 (10、30、50、60 en%)を与えた。

実験2：日本人中年男性78名を対象に、血清中のリン脂質分子種を測定し、BDHQから推定される炭水化物、脂質摂取エネルギー比率との相関を調べた。

【結果・考察】

マウスにおいて炭水化物、脂質の摂取比率に応じて血漿中の phosphatidylcholine (PC) に結合する脂肪酸が変化することが明らかになった。特に、脂質エネルギー比率の増加にともなって血漿中のPC(16:0/16:1)、(16:0/18:1)は減少し、PC(18:0/20:4)は増加傾向を示した。また、ヒトにおいては、PC(16:0/16:1)、PC(16:0/18:1)が炭水化物エネルギー比率と正の相関、脂質エネルギー比率と負の相関を示すことが明らかとなった。以上のことから、特定の脂肪酸を有するPC分子(特にPC(16:0/16:1)、(16:0/18:1))が炭水化物や脂質の総摂取量を把握するためのバイオマーカーとして有用であることが示唆された。また、PC(16:0/18:1)やPC(18:0/18:1)は、他臓器機能を調節するリポカインとしての働きを持つことが報告されており、今回見出した炭水化物、脂質の摂取比率に応答するリン脂質分子が、他臓器機能に影響する可能性が考えられる。

⑧ LPS 刺激した HT-29 腸管細胞に対するエリンギ抽出物の抗炎症作用

○小林仁、川井絢矢、大内謙二、稲富聡
(ホクト(株)きのこ総合研究所)

【目的】

To11 様受容体 (TLR) を介した過剰な自然免疫系の活性化は、慢性炎症性疾患の発症につながる事が明らかにされている。腸管におけるリポポリサッカライド (LPS) による過剰刺激は炎症性腸疾患の原因の一つとして知られ、その炎症に対する抑制作用は炎症性腸疾患の予防や治療に期待されている。きのこ類の免疫賦活作用は以前より報告されているが、近年では LPS 刺激による免疫細胞からの炎症性サイトカイン産生に対して抗炎症作用をもつことが報告されている¹⁾。そこで、腸での炎症反応に対して抑制効果をもつきのこのスクリーニングを目的として、LPS 刺激による腸上皮細胞からの炎症性メディエーター産生に対するきのこ類の作用を検証した結果、これまでにエリンギ (*Pleurotus eryngii*) およびヤマブシタケ (*Hericium erinaceus*) エタノール抽出物に濃度依存的なインターロイキン8 (IL-8) の遺伝子発現およびタンパク産生抑制、さらに細胞接着分子-1 (ICAM-1) の遺伝子発現抑制作用があることを見出した (第 67 回日本栄養・食糧学会大会にて発表)。そこで、本研究ではエリンギの抗炎症作用についてメカニズム解明を試みた。

【方法】

エリンギ抽出物を加えた培養液で HT-29 ヒト腸上皮細胞を前培養し、次いで LPS を加えて培養した後、細胞内タンパクを抽出してウェスタンブロット法にて細胞内シグナル伝達関連因子を解析した。また、LPS と細胞表面受容体 (TLR4) との結合に対するエリンギ抽出物の影響を検討するために、蛍光免疫染色法を用いて蛍光観察を行った。

【結果および考察】

HT-29 細胞を LPS で刺激した結果、炎症性シグナル因子である $I\kappa$ -B α 分解および ERK のリン酸化が促進されたが、エリンギ抽出物は $I\kappa$ -B α 分解および ERK リン酸化を抑制した。また、エリンギ抽出物は HT-29 細胞への LPS 結合を濃度依存的に阻害した。以上の結果より、エリンギ抽出物は HT-29 細胞への LPS の結合を阻害することで、その後続く NF- κ B および MAPK 活性化を抑制し、IL-8 や ICAM-1 等の炎症促進性因子の遺伝子発現またはタンパク産生を抑制することが示唆された。エリンギに含まれる成分は、腸管内において腸上皮細胞への LPS の結合を直接的に阻害することで LPS 刺激に起因する炎症応答を抑制する可能性が示唆された。

¹⁾ Kobori M. *et al.*, Br. J. Pharmacol., 150, 209-19, 2007

⑨プロポリス成分による褐色脂肪細胞化誘導と機構解明

○青山広樹¹、西川翔¹、神谷美沙¹、吉村一輝²、熊澤茂則²、津田孝範¹
(¹中部大・応生、²静岡県大・食品栄養)

【目的】

白色脂肪組織がエネルギー貯蔵器官であるのに対し、褐色脂肪組織は熱産生を行い、エネルギー消費を促進する。近年の研究から環境条件により、白色脂肪組織中で「誘導型」褐色脂肪細胞が増加（褐色脂肪細胞化）し、熱産生によりエネルギー消費を促進して体脂肪が減少することが明らかにされている。このような背景を踏まえて本研究では、食品由来因子としてブラジル産プロポリスに含まれる Artepillin C (ArtC) による褐色脂肪細胞化誘導とその機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】

マウス由来 C3H10T1/2 細胞株及びマウス皮下白色脂肪組織より得た stromal vascular fraction を用いた初代培養細胞系を用いた。ArtC の投与による褐色脂肪細胞化誘導と機構解明のため、熱産生タンパク質である UCP1 など褐色脂肪細胞化マーカーの発現量及び褐色脂肪細胞化に関わる転写因子 PRDM16 のタンパク質発現量を測定した。さらに、C57BL/6J マウスに 4 週間 ArtC の経口投与を行い、各脂肪組織の形態学的変化や UCP1 の発現を免疫組織染色とウエスタンブロッティングにより検討した。

【結果】

ArtC の投与により C3H10T1/2 細胞及び初代培養細胞系のいずれにおいても、UCP1 をはじめとする褐色脂肪細胞化マーカーの mRNA 発現が有意に増加した。この上昇には濃度依存性が認められ、UCP1 タンパク質の発現量も同様な上昇が認められた。次に、ArtC による褐色脂肪細胞化の誘導機構を検討した結果、ArtC は PPAR γ のアゴニストとして作用し、PRDM16 タンパク質の分解を抑制することで褐色脂肪細胞化を促すことを明らかにした。

C57BL/6J マウスに ArtC を 4 週間経口投与すると、鼠蹊部白色脂肪組織において、褐色脂肪細胞化で観察される多房化形成が認められ、UCP1 タンパク質の発現量は有意に上昇した。現在引き続き、ArtC の投与による熱産生の誘導に関する研究を進めている。

⑩ブドウ球菌毒素エンテロトキシンA 遺伝子の伝播機序の解明

○折原杏奈¹、尾崎順哉^{1,2}、島村裕子^{1,2}、三好規之^{1,2}、増田修一^{1,2}
(¹静岡県大 食品栄養、²静岡県大院 薬食生命科学)

【目的】

本研究室ではこれまでに、黄色ブドウ球菌の毒素であるエンテロトキシンA (SEA) の産生株 (No. 29 株) および SEA 非産生株 (No. 77 株) の2種のコロニーが接触した際に、SEA 産生株のコロニーが溶菌し、SEA 非産生株に SEA 遺伝子が伝播することを明らかにしている。しかし、SEA 遺伝子伝播の作用機序およびその制御機構については明らかになっていない。そこで、本研究では、SEA 遺伝子伝播の作用機序の解明を目的とした。

【方法】

No. 29 株と No. 77 株を二槽式透析培養器で透析共培養することで、菌体同士の接触無しに、SEA 遺伝子伝播が起こるか検討した。No. 77 株が溶菌誘導物質を産生していることが推察されたことから、No. 77 株の培養上清をプロテアーゼ処理または固相抽出して、その性状を調べた。さらに、SEA 産生株の溶菌メカニズムを明らかにするために、No. 29 株と No. 77 株を透析共培養した際の No. 29 株の菌体内代謝物について、LC/MS を用いて解析した。

【結果】

No. 29 株と No. 77 株を透析共培養した結果、菌体同士の接触無しに、No. 29 株の溶菌および No. 77 株への SEA 遺伝子伝播が起こったことから、No. 77 株が溶菌誘導物質を産生している可能性が示唆された。そこで、溶菌誘導物質の性状について調べたところ、プロテアーゼ処理により、No. 29 株の濁度の低下が抑制され、固相抽出および限外ろ過処理により、No. 29 株の濁度の低下が確認された。これらの結果から、No. 77 株の産生する溶菌誘導物質は、No. 29 株の非存在下においても産生される分子量 3,000 以下のタンパク性の低分子物質である可能性が示唆された。また、菌体内代謝物における主成分分析の結果より、No. 29 株を単独培養した際と No. 29 株と No. 77 株を共培養した際の No. 29 株では異なるクラスターが形成され、No. 77 株との共培養により、No. 29 株の代謝が変動していることが示唆された。さらに、No. 29 株と No. 77 株を共培養した際の No. 29 株では、細胞膜リン脂質である phosphatidylglycerol 等が増加していたことから、No. 77 株の産生する溶菌誘導物質は、No. 29 株の自己溶菌酵素を活性化していることが推察された。現在、No. 77 株の SEA フェージカセットの挿入位置推定解析を検討中である。

⑪ ビタミン B₆ 欠乏により惹起される肝臓脂質蓄積に対する ベタインとコリンの効果

○太田勇氣¹、北川絵里奈²、長谷川万記³、中川智行^{1,2,3}、早川享志^{1,2,3}
(¹岐阜大院・応生研、²岐阜大院・連合農学、³岐阜大・応生)

【目的】

ビタミン B₆ (B₆) は必須アミノ酸であるメチオニン (Met) 代謝に補酵素として関与している。ラットに Met を高負荷した B₆ 欠乏飼料を与えると、Met の代謝中間体であるホモシステイン (Hcy) が肝臓や血中で増加すると同時に、肝臓に脂質が蓄積することを見出した。先行研究でベタインまたはコリンを添加した B₆ 欠乏飼料を与えると、Hcy が低下し、肝臓脂質蓄積が改善することを明らかにした。ベタインはコリンの酸化により合成され、Hcy から Met を再合成する過程でメチル基供与体として機能する。そのため、ベタインやコリンの供給は Hcy を低下させ、それが肝臓脂質の減少にも寄与すると考えられる。本研究では B₆ 欠乏飼料に同物質量のベタイン、コリンを単独添加、あるいは同時に添加した場合に、Met 代謝系および脂質代謝系に及ぼす効果を比較することを目的とした。

【方法】

4 週齢の Wistar/ST 系雄ラットを 5 群 ($n=7$) に分け、各群にそれぞれ AIN-76 標準飼料の 3 倍量の Met (0.9%) を含む Control 飼料 (C 群)、飼料から B₆ を除いた B₆ 欠乏飼料 (D 群)、B₆ 欠乏飼料にベタインを添加した飼料 (BD 群)、コリンを添加した飼料 (ChD 群)、およびベタインとコリンを同時添加した飼料 (BChD 群) を与えた。BD 群には 17.1 μmol (0.2%) の無水ベタインを、ChD 群には 17.0 μmol (0.43%) の重酒石酸コリンを飼料中に添加し、BChD 群には両者を添加した。D 群に対するペアフィーディングを行い 35 日間飼育したのち解剖し、肝臓および血漿の脂質、Met 代謝物などを測定した。

【結果・考察】

D 群では血漿および肝臓 Hcy が有意に上昇し、同時に肝臓総脂質、トリグリセリドが有意に蓄積した。また D 群では肝臓ホスファチジルコリン (PC) および血漿 LDL+VLDL コレステロールの低下も観察された。これらの異常は BD 群、ChD 群、BChD 群でいずれも C 群と同程度まで改善した。以上より、B₆ 欠乏は Met 代謝異常を伴う肝臓脂質蓄積を惹起したが、ベタイン、コリン添加により Met 代謝が正常化し、肝臓脂質蓄積が改善することを明らかにした。当研究室では B₆ 欠乏時に生じる肝臓脂質蓄積が、Met 代謝が間接的に関与する PC 生合成の低下に伴う VLDL の分泌低下を原因として生じるものであると考えている。本実験より、ベタインは Met 代謝異常を改善することで副次的に肝臓脂質蓄積を改善し、コリンはベタインへと変換されると同時に自身が PC の供給源となることで肝臓脂質蓄積を改善する可能性が示唆された。本実験のベタイン、コリン添加量では十分な効果が認められ、相乗効果の確認はできなかった。今後は両物質の寄与の程度、相乗効果を調べるために両物質の添加量を半減して検証予定である。

⑫ラットにおける腸内細菌によるビタミン産生に及ぼす 難消化性オリゴ糖摂取の影響

○田辺賢一¹、中山真菜¹、横地侑香¹、中村禎子²、奥恒行^{2,3}
(¹名古屋女子大学・家政学部・食物栄養学科、
²十文字学園女子大学 食・栄養・健康研究所、³保健栄養・糖質科学ラボ)

【目的】

近年、腸内フローラが宿主の健康の保持・増進や疾病の予防と深く関わっていることが知られている。本研究では、難消化性オリゴ糖含有飼料摂取がラットの腸内細菌由来のビタミン産生、特にホモシステイン代謝に関連している葉酸、ビタミン B₆ならびに B₁₂に焦点をあて、それらの産生量ならびに小腸、盲腸、結腸における葉酸およびビタミン B₁₂のトランスポーターの遺伝子発現量に及ぼす影響について比較・検討した。

【方法】

難消化性オリゴ糖としてフラクトオリゴ糖 (FOS) を使用し、AIN-93M 組成飼料のショ糖 5%分を FOS で置換した。Wistar 系雄性ラット(8 週齢、約 250 g)を 1 群 6 匹として、2 群 (CONT 群と FOS 群) に割り付け、高浸透圧性の下痢誘発ならびに成長に影響をきたさない程度の軽い制限給餌で 2 週間飼育後に屠殺した。飼育 2 週間目に出納実験を行い 3 日間の糞便ならびに尿を採取した。盲腸内容物ならびに糞便中のビタミンは凍結乾燥後、水酸化ナトリウム溶液を用いて葉酸、ビタミン B₆ならびにビタミン B₁₂を抽出して分析試料とした。尿はろ過して分析試料とした。試料中の葉酸、ビタミン B₆およびビタミン B₁₂量は HPLC を用いて測定した。また、小腸、盲腸ならびに結腸の葉酸およびビタミン B₁₂のトランスポーターの遺伝子発現量を RT-PCR 法を用いて比較・検討した。

【結果】

葉酸の盲腸内容物中ならびに糞便への排泄量は CONT 群と比較して FOS 群で有意に高値を示した ($p < 0.05$)。しかし、ビタミン B₆ならびにビタミン B₁₂の盲腸内容物中および糞便への排泄量は FOS 摂取によって有意な増加を示さなかった。葉酸、ビタミン B₆およびビタミン B₁₂の尿への排泄量は、CONT 群と比較して FOS 群で有意な差異は観察されなかった。葉酸のトランスポーターは空腸における遺伝子発現量が CONT 群と比較して有意に高値を示し ($p < 0.05$)、盲腸のトランスポーターの遺伝子発現量は高くなる傾向を示した。しかし、結腸の葉酸トランスポーターの遺伝子発現量に有意な差異は観察されなかった。ビタミン B₁₂のトランスポーターは、盲腸において遺伝子発現量が高くなる傾向を示したが、回腸および結腸の遺伝子発現量は、CONT 群と比較してほとんど差異は観察されなかった。以上の結果、難消化性オリゴ糖である FOS 摂取によってラットの腸内細菌による葉酸、ビタミン B₆、B₁₂などのビタミン産生が増加すると共に、消化管腔内からの吸収量も増加する可能性が示された。

⑬ラクトスタチン (IIAEK) は肝特異的転写因子 HNF-3 α を介して コレステロール分解を促進する

○大林由季奈、磯貝渚、井辰かおる、島田昌也、長岡利
(岐阜大学応用生物科学部)

【目的】

コレステロール 7 α -水酸化酵素 (CYP7A1) は肝臓のコレステロール分解系律速酵素であり、CYP7A1 遺伝子の活性化により動脈硬化症が抑制されることが知られている。当研究室の研究より、牛乳乳清 β -ラクトグロブリン由来ペプチドであるラクトスタチン (IIAEK) は、ヒト培養肝細胞 HepG2 において、ラクトスタチン (1mM) の添加により、CYP7A1 の mRNA、タンパク質、遺伝子転写活性化が有意に増加した (1)。また、DNA マイクロアレイにおいて、CYP7A1 転写活性化因子の一つである HNF-3 α の mRNA の有意な上昇を観察した。そこで本研究では、CYP7A1 遺伝子プロモーター上の HNF-3 α 結合領域に注目し IIAEK の CYP7A1 遺伝子転写活性化機構を解明すると共に、CYP7A1 遺伝子活性化を媒介するシグナル経路を特定することを目的とする。

【方法・結果】

ルシフェラーゼ分析により、CYP7A1 遺伝子転写活性化は、CYP7A1 遺伝子プロモーターの HNF-3 α 領域の欠損により消失することを明らかにした。さらに、siRNA を用いて HNF-3 α をノックダウンした HepG2 細胞にラクトスタチンを添加し、リアルタイム RT-PCR により CYP7A1 mRNA レベル及び、ウエスタンブロット法により CYP7A1 タンパク質レベルを測定した。その結果、HNF-3 α のノックダウンにおいて、ラクトスタチンによる CYP7A1 mRNA レベルの誘導及び、CYP7A1 タンパク質レベルの有意な減少が観察された。また、HepG2 細胞にラクトスタチンを 6 時間添加し、回収した RNA を用いて DNA マイクロアレイを行い、ラクトスタチンが影響を与える遺伝子を網羅的に解析した。得られたデータを過去に実施した DNA マイクロアレイ (ラクトスタチンを 24 時間添加した実験) データと共に GeneSpring 並びに IPA (Ingenuity Pathway Analysis) により解析した。その結果、ラクトスタチン 6 時間添加において最も有意な変化を示したパスウェイは Arylhydrocarbon receptor (AhR) signaling pathway であり (p value : 6.78E-05)、ラクトスタチン 24 時間添加において最も有意な変化を示したパスウェイは NRF2 pathway であった (p value : 5.77E-07)。

(1) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 352、 697-702 (2007)

⑭放射性物質による内部被曝を防ぐ食品素材・成分の探索

○上原祐也¹、石塚加奈²、島村裕子^{1,2}、保田倫子^{1,2}、下位香代子^{1,2}、増田修一^{1,2}
(¹静岡県大院 薬食生命科学、²静岡県大 食品栄養)

【目的】

福島第一原発の事故により、多くの放射性物質が環境中に放出され、放射線の被曝によるヒトへの生体影響が危惧されている。特に、放射性物質の中でも¹³⁷Csと⁹⁰Srは半減期が長いため、これら放射性物質に汚染された食品の摂取により、長期的な内部被曝が起こることが考えられる。したがって、¹³⁷Csや⁹⁰Srの体内への吸収を抑制することや、体内に吸収された場合、迅速に排泄することが重要である。本研究では、CsまたはSrの吸収を抑制及び排泄を促進する食品素材や成分を探索することを目的として実験を行った。

【方法】

本実験には安定同位体であるCsClやSrCl₂を用いた。(1) in vitro試験において、食物繊維等成分(アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カルシウム、ラミナラン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アップルペクチン)やそれらを含む食品(昆布、モロヘイヤ、シイタケ、ナメコ)を水に溶解または懸濁し、CsClまたはSrCl₂水溶液を加えて30分間放置した。遠心式限外ろ過(MW:3000、15000×g、20min、37°C)を行い、ろ液中のCs及びSr濃度をICP-MSを用いて測定し、各試料のCs及びSrとの吸着性を求めた。(2) Srの吸収抑制試験として、in vitro試験において吸着性が確認できた試料及びSrCl₂水溶液を、ICRマウス(5週齢、雄)に単回経口投与し、投与24時間後に糞便及び大腿骨を採取した。これら生体試料を、硝酸を用いて酸分解した後、ICP-MSでSr量を測定した。(3) Csの排泄促進試験として、ICRマウス(5週齢、雄)にCsCl水溶液を経口投与した後、利尿作用を示す試料(カフェイン、テオブロミン、テオフィリン)を3日間経口投与した。その間、CsCl溶液投与後24時間間隔で採尿を行った。採取した尿は、硝酸を用いて酸分解した後、ICP-MSでCs量を測定した。

【考察】

(1) in vitro試験において、アルギン酸ナトリウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アップルペクチンが、Csとの吸着性を示した。Srについては、アルギン酸ナトリウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アップルペクチン、アルギン酸カルシウム、ラミナラン、昆布、モロヘイヤが吸着性を示した。(2) Srの吸収抑制試験においては、アルギン酸カルシウム、ラミナランが大腿骨中のSr量を減少させ、さらに、ラミナランにおいては糞便中のSr量が増加した。(3) Csの排泄促進試験においては、テオフィリンを投与することにより、尿中のCs濃度が有意に上昇した。以上の結果より、これらの食品素材・成分が、放射性物質の内部被曝を防ぐ上で有効であることが明らかになった。

⑮脂肪肝モデル：SMXA-5 マウスの脂質代謝・炎症関連遺伝子の発現特性

○金森深作、小林美里、鈴木京、村井篤嗣、堀尾文彦
(名古屋大院・生命農・応用生命)

【背景・目的】

脂肪肝とは肝臓に脂肪が蓄積する病態であり、生活習慣病と密接に関わっていると同時に、肝硬変や肝がんに発展する危険性を秘めている。当研究室では脂肪肝抵抗性マウスである SM/J と A/J マウスから作出されたリコンビナント・インブレッドの 1 系統である SMXA5 マウスが高脂肪食誘導性の 2 型糖尿病と脂肪肝に感受性であることを見出した。今までに、この SMXA5 マウスの遺伝解析により脂肪肝感受性遺伝子座を報告しており、責任遺伝子の同定を目指している。本研究では脂肪肝感受性責任遺伝子の同定を進めるために SMXA5 マウスの糖、脂質代謝に関する表現型解析を行い、脂肪肝発症のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

【材料・方法】

雄性の A/J、SM/J、SMXA5 マウスを 6 週齢から高脂肪食で 11 週間飼育した。体重、血糖値、血中トリグリセリド (TG) 濃度を経時的に測定し飼育後、解剖し組織を採取した。採取した肝臓、精巣上体脂肪での遺伝子発現量を測定した。

【結果・考察】

SMXA5 マウスの体重増加は A/J、SM/J マウスに比べて大きく、解剖時の血糖値、血中 TG 値は高値を示した。SMXA5 マウスの肝臓重量は A/J、SM/J マウスと比較して高値を示し、精巣上体脂肪重量は低値を示した。SMXA5 の肝臓トリグリセリド含量、肝臓総脂質含量は有意な高値を示し脂肪肝を呈した。

肝臓では *Ppar γ* の mRNA レベルが有意に高く、その標的遺伝子である脂肪酸取り込みや TG 合成系の遺伝子の mRNA レベルが上昇した。一方、精巣上体脂肪での *Ppar γ* の mRNA レベルは SMXA5 マウスで有意に低値を示し、TG 合成系遺伝子の発現量の低下が確認された。また、SMXA5 マウスの精巣上体脂肪では炎症マーカー (*F4/80*、*Mcp1 α*、*Cd11c*) と線維化マーカーの mRNA レベルが高値を示したことから脂肪細胞での炎症誘導が肝臓への異所性脂肪蓄積を引き起こした可能性が考えられた。

以上のことから、SMXA5 の脂肪肝形成には肝臓の *Ppar γ* の発現上昇による TG 合成の増加と、脂肪組織での *Ppar γ* 発現低下、及び炎症誘導が寄与していると考えられた。

⑩ Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 欠損による絶食時の代償的アミノ酸代謝亢進

○佐藤友紀¹、吉田悠馬¹、守田昭仁¹、森展子²、三浦進司¹
(¹静岡県立大学大学院薬食生命科学総合学府、²大阪市立大学理学系研究科)

【背景・目的】

グルコースは人体の多くの臓器で利用される重要なエネルギー源の一つである。摂食時、グルコースは食事由来の炭水化物から得ることが可能である。一方、絶食時のように外部からのエネルギー供給が遮断されている状態では、肝臓に蓄えられているグリコーゲン由来、および糖原性前駆体から糖新生により生成した糖を利用する必要がある。Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (GPD1)はサイトゾルにおいて解糖系の中間代謝産物であるジヒドロキシアセトンリン酸 (DHAP) からグリセロール-3-リン酸 (Gro3P) への還元、Gro3P から DHAP への酸化を触媒する両方向性の酵素である。糖新生においてGPD1はGro3Pの代謝に必須であるため、GPD1はグリセロールを利用した糖新生において重要な役割を担っていると考えられる。そこで我々は、絶食時の糖新生における GPD1 の役割を検討した。

【方法】

GPD1 自然欠損モデルである BALB/cHeA マウス (HeA マウス) のグリセロール投与後および絶食時の血糖値を経時的に測定した。同時に肝臓で糖新生に関与する酵素の mRNA 発現量を測定した。また、糖原性アミノ酸の利用について調べるために、筋肉でのタンパク質代謝、血中のアラニン濃度、さらにアラニン投与後の血糖値変化を測定することで肝臓でのアラニンの利用率を検討した。コントロール群には BALB/cBy マウス (By マウス) を用いた。

【結果・考察】

グリセロール投与後の血糖値はBy マウスに比してHeA マウスにおいて有意に低値を推移した。この結果より、GPD1 の欠損によってグリセロールを利用した糖新生が低下することが示唆された。一方で、絶食時の血糖値を経時的に測定したところ、HeA マウスでは GPD1 が欠損しているにもかかわらず、絶食 2~4 時間後での血糖値が有意に高値を示すことが明らかになった。さらに、HeA マウスにおいて絶食時の筋タンパク質合成が有意に低下、また、血中アラニン濃度および肝臓におけるアラニンを利用した糖新生は有意に増加した。これらの結果から、長期的な GPD1 の欠損は糖原性アミノ酸を利用した糖新生を促進するような代償的反応を引き起こすことが示唆された。

⑰ Effect of adipose-specific promotion of branched-chain amino acid (BCAA) catabolism on plasma BCAA concentrations in mice

○Jussiaea Valente Bariuan, Izza Dinalhaque Pranatasari, Minjun Xu, Yoshihiro Kadota, Miki Ota, Yukako Morishita, Yasuyuki Kitaura and Yoshiharu Shimomura (Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University)

Branched-chain amino acids (BCAAs: valine, leucine, isoleucine) are essential amino acids that significantly contribute to body weight regulation, muscle protein synthesis and glucose homeostasis. BCAA catabolism is regulated by branched-chain α -ketoacid dehydrogenase (BCKDH) complex (BCKDC), which in turn is inactivated through phosphorylation of the BCKDH kinase (BDK).

Adipose tissue-specific BDK knockout (adKO) mice, produced using the Cre-loxP system, were used in this study to elucidate the physiological significance of adipose tissue in the BCAA catabolism

The adKO mice had neither obvious physical defects nor neurological abnormalities and showed similar growth rate and relative tissue weights as those of control mice. Plasma BCAA concentrations were significantly lower in adKO mice. Adipose tissue BCAA concentrations and plasma adiponectin concentrations were slightly lower in adKO mice than in control mice, although there were no significant differences. Interestingly, insulin levels were significantly higher in adKO mice though fasting glucose, serum triglyceride, serum free fatty acid and serum total cholesterol levels showed no significant difference compared to control mice.

These results suggest that adipose tissues play a significant role in the regulation of circulating BCAAs and in the development of BCAA-induced insulin resistance.

⑩絶食-再摂食時の肝臓における解糖系および脂肪酸合成系の 遺伝子発現に及ぼす脂肪酸の影響

○高見紗依子¹、松本氣寧子¹、本間一江¹、望月和樹²、合田敏尚¹
(¹静岡県大院・薬食生命科学、²山梨大・生命環境)

【目的】

中鎖脂肪酸は長鎖脂肪酸と異なり、胆汁酸によるミセル化を受けずに小腸吸収細胞に吸収され、トリアシルグリセロール (TG) に再合成されることなく門脈を經由して肝臓に入り、効率よくエネルギーとして利用されることが知られている。これらの特徴から、中鎖脂肪酸油 (MCT) は、消化機能が低下した術後の患者への栄養補給など、医療の現場でも利用されている。本研究では、絶食-再摂食時の中鎖脂肪酸の摂取が肝臓における解糖系および脂肪酸合成系の遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】

C57BL/6J 系成熟マウスを 3 日間絶食 (絶食群) させた後、脂質エネルギー比 37%のうち 27%をトリオレインに置換した飼料 (長鎖脂肪食群)、21%をトリオレイン、6%をトリカプリリンに置換した飼料 (6%中鎖脂肪食群)、または 9%をトリオレイン、18%をトリカプリリンに置換した飼料 (18%中鎖脂肪食群) を、流動食として 4 時間おきに 3 回 (12 kcal/100 gBW/12 h) 経口投与した。非絶食群には、標準固形飼料 (AIN-93G) を自由に摂取させた。流動食のエネルギー比は、糖質 40%、脂質 37%、タンパク質 22%になるように調製した。再摂食開始の 12 時間後に屠殺し、肝臓中の TG 量および血清 TG 濃度を測定し、リアルタイム RT-PCR により肝臓における糖代謝および脂質代謝関連遺伝子の発現量を測定した。

【結果と考察】

肝臓中の TG 量は、非絶食群と比較して 6%中鎖脂肪食群以外の全ての群で有意に高値を示した。血清 TG 濃度は、非絶食群に対し全ての群で低く、中鎖脂肪食群において有意に低値であった。肝臓における糖質応答性転写因子 ChREBP の mRNA 量は、絶食により有意に低値を示し、長鎖脂肪食の再摂食により非絶食群と同じレベルまで増大したが、6%および 18%中鎖脂肪食群では、長鎖脂肪食群と比べて有意に発現が抑制されていた。肝臓のグルコキナーゼならびに脂肪酸合成酵素 FAS の mRNA 量は、絶食によりいずれも有意に低値を示し、再摂食により絶食群と比較して有意に高値を示した。しかしながら、中鎖脂肪食群では、長鎖脂肪群と比べてこれらの mRNA 量の増大が抑制されていた。それゆえ、絶食後に同じ量の糖質を含む飼料を再摂食させた場合であっても、脂質の素材として中鎖脂肪を用いた場合には、ChREBP の発現誘導が抑えられ、その結果、解糖系および脂肪酸合成関連酵素の誘導も緩やかとなり、糖質からの急激な脂肪酸合成が抑制されると推察された。