

第 73 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①～③〉 座長：下村吉治（名古屋大学）

- 13:05 ①脂肪肝候補遺伝子 *Iah1* の肝臓特異的欠損マウスにおける機能解析
○金森深作¹，小林美里¹，鈴木京¹，舩屋智美¹，大野民生²，
村井篤嗣¹，堀尾文彦¹
(1 名古屋大院・生命農，2 名古屋大院・医学系)
- 13:18 ②フラクトオリゴ糖摂取初期の盲腸 IgA 濃度の上昇には腸管透過性の
上昇に起因する粘膜炎症が関与する
○源田知美¹，日野真吾²，森田達也²
(1 静岡大・創造科学技術大学院，2 静岡大・学術院)
- 13:31 ③米糠タンパク質はコレステロール代謝改善作用を発揮する
○王吉力特，長岡利
(岐阜大・応用生物科学部)

〈演題④～⑥〉 座長：堀尾文彦（名古屋大学）

- 13:44 ④酪酸摂取による FGF21 を介した肝臓脂質代謝関連遺伝子の発現変動
○高見紗依子，本間一江，合田敏尚
(静岡県大院・薬食生命科学)
- 13:57 ⑤酪酸摂取による小腸二糖類水解酵素遺伝子周辺のヒストンアセチル
化の変動
○鈴木美佑，鈴木彩花，高見紗依子，本間一江，合田敏尚
(静岡県立大・食品栄養科学部)
- 14:10 ⑥Ussing chamber 法による食品成分の生理作用（機能性）解析
○唐木晋一郎
(静岡県立大・食品栄養科学部)
- 14:22 休憩

〈演題⑦～⑨〉 座長：森田達也(静岡大学)

- 14:40 ⑦ペクチンは腸管抗体産生を調節し、食物アレルギーの発症予防に寄与する
○山下昇悟¹、岩城佳那²、矢部富雄^{1,2,3}、北口公司^{1,2,3}
(1 岐阜大院・自然科学、2 岐阜大院・応生、3 岐阜大・応生)
- 14:53 ⑧ザクロ種子抽出物のアレルギー抑制効果に関する研究
○高木里織¹、光川瑞葵²、宮越正哉³、向井信人³、向井孝³、繁森英幸⁴、西本壮吾⁵
(1 石川県立大院・生物資源環境学研究所、2 筑波大・生命環境学群生物資源学類、3(株)サニープレイス、4 筑波大・生命環境系、5 石川県立大・生物資源環境学科)
- 15:06 ⑨高生体内吸収性クルクミンによる褐色脂肪細胞化の誘導と作用機構解明
○西川翔¹、神谷美沙¹、青山広樹¹、野村真美¹、兵頭拓真¹、尾関葵¹、高橋司²、今泉厚²、津田孝範¹
(1 中部大・応生、2 (株)セラバリューズ)

〈演題⑩～⑪〉 座長：長岡利(岐阜大学)

- 15:19 ⑩インスリン抵抗性に対する分岐鎖アミノ酸代謝の関与
○加賀清美、門田吉弘、太田美樹、Jussiaea. V. Bariuan、千田壮志、北浦靖之、下村吉治
(名古屋大学大学院・生命農学研究科)
- 15:32 ⑪酵素合成グリコーゲン摂取が老化促進モデルマウスの認知機能及び糞中細菌叢に及ぼす影響
○嶋七海¹、市川紗貴¹、加藤和子²、古屋敷隆²、三谷墨一^{1,3}、中村宗一郎¹、片山茂^{1,3,4}
(1 信州大・農、2 江崎グリコ(株)・健康研、3 信州大・バイオ研、4 信州大・CFMD)

①脂肪肝候補遺伝子 *Iah1* の肝臓特異的欠損マウスにおける機能解析

○金森深作¹、小林美里¹、鈴木京¹、舩屋智美¹、大野民生²、村井篤嗣¹、堀尾文彦¹
(1 名古屋大院・生命農・応用分子生命、2 名古屋大院・医学系)

【背景・目的】

脂肪肝は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。我々は SMXA 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、その責任遺伝子の探索を進めてきた。今までに QTL 解析により、第 12 番染色体に脂肪肝感受性遺伝子座 (*F11sa*) を検出し、遺伝子発現量解析から *Iah1* を脂肪肝感受性の候補遺伝子として選抜している。*Iah1* タンパク質はマウスの腎臓、肝臓、小腸、肺、脂肪組織等の広範囲に発現しているが、その機能は明らかではない。そこで、本研究では肝臓特異的な *Iah1* ノックアウトマウスを作出して、肝臓脂質代謝における *Iah1* の作用を解析した。

【方法】

Iah1 遺伝子内に loxP 配列を持つ C57BL/6N マウスと、アルブミンプロモーター下で Cre を発現するマウスとの交配により肝臓特異的に *Iah1* を欠損させたマウス (LK0) を作製し、*Iah1* の mRNA およびタンパク質が肝臓でのみ欠損していることを確認した。6 週齢雄性の野生型マウス (WT) と LK0 マウスを高脂肪食で 9、12 週間飼育し、4 時間の絶食後に採血および解剖を行った。血中脂質濃度、肝臓脂質含量の測定と、肝臓での脂質代謝関連遺伝子の発現レベルの測定を行った。

【結果・考察】

高脂肪食摂取の 9、12 週間の実験期間を通して、WT と LK0 との間で体重、摂餌量に差は見られなかった。12 週間後の解剖時の肝臓重量は LK0 マウスで高値を示したが、肝臓総脂質含量、肝臓トリグリセリド含量に両群で有意な差は見られなかった。一方で肝臓コレステロール含量は WT に比べて LK0 で有意に高値を示した。また、血中コレステロール濃度も WT に比べて LK0 で有意に高値を示し、肝臓における *Iah1* 遺伝子はコレステロール代謝に関与していると考えられた。一方で、全身性の *Iah1* 欠損マウスにおいては肝臓総脂質含量および肝臓トリグリセリド含量の増加が観察されていることから、肝臓以外の組織における *Iah1* の作用が肝臓トリグリセリド蓄積に関与している可能性が考えられた。今後は全身、肝臓特異的 *Iah1* 欠損マウスの表現型を比較することで、肝臓および肝臓以外の組織における *Iah1* の機能を明らかにしていく予定である。

②フラクトオリゴ糖摂取初期の盲腸 IgA 濃度の上昇には腸管透過性の上昇に起因する粘膜炎症が関与する

○源田知美¹、日野真吾²、森田達也²

(1 静大・創造科学技術大学院、2 静大・学術院)

【目的】フラクトオリゴ糖 (FOS) 摂取初期 (~1wk) に認められるラット盲腸 IgA 濃度の上昇には、盲腸粘膜での IgA 形質細胞数の増加や pIgR 発現量の上昇に加え、腸管透過性 (尿中 Cr-EDTA 排泄、腸間膜リンパ節への細菌透過) の亢進や盲腸粘膜ミエロペルオキシダーゼ活性の上昇を伴う。一方、FOS 摂取 8 週目では、これら一連の変動は全て消失する。つまり、FOS 摂取初期の IgA 分泌促進作用は軽度な粘膜炎症に対する生理的応答であると考えられた。本試験は、FOS 摂取初期に観察される粘膜炎症の機序解析を目的とした。

【方法】ラットに对照飼料または 6%FOS 添加飼料を与えた。**試験 1:** 3 および 7 日間飼育後、盲腸内容物の pH、IgA および有機酸濃度、盲腸粘膜の炎症性サイトカイン発現量、IgA 形質細胞および pIgR タンパク質を測定した。**試験 2:** 7~10 日間飼育後 1) 盲腸粘膜の密着結合 (TJ) 関連遺伝子発現量およびタンパク質量を測定した。盲腸内容物では、等倍量の生理食塩水を加え遠心分離した上清 (自由水画分) を単培養した Caco-2 細胞に添加し、膜透過性の変動 (TEER) を観察した。また同画分の pH、胆汁酸および有機酸を測定した。2) 盲腸内容物を含む盲腸組織切片 (凍結後カルノア固定) を調製し、アルシアンブルー (AB) 染色および FISH-Muc2 抗体染色により、上皮組織と内容物を隔てるムチン層の状態観察を行った。3) Cr-EDTA 投与 (po) 時の糞中 Cr 排泄率から盲腸内容物移動速度を推定した。

【結果・考察】**試験 1:** FOS 摂取初期 (3, 7 日間) の盲腸 IgA 濃度は、对照に比べ 10~20 倍上昇したが、盲腸粘膜の IgA 形質細胞数と pIgR タンパク質の増加が認められたのは 7 日目で、3 日目では pIgR タンパク質の増加のみ有意であった。サイトカイン発現量は、3 日目で *IFN- γ* 、*TNF- α* 、*TGF- β* が、7 日目ではこれらに加え *IL-10*、*12*、*17* の有意な上昇を示した。**試験 2:** 1) FOS の摂取は、*ZO-1*、*Claudin-3* 発現量および *ZO-1* タンパク質量を有意に増加させた。FOS 群の盲腸内容物自由水画分は、乳酸およびコハク酸濃度が高く pH は 5.9 を示したが、総胆汁酸濃度は对照の 1/6 程度であった。同画分を添加した Caco-2 細胞の TEER は对照と FOS 群で差がなかった。2) 盲腸組織切片 (カルノア固定) の AB 染色および FISH-Muc2 抗体染色において、对照群では上皮細胞を覆う層状のムチン層が確認出来たのに対し、FOS 群ではこのムチン層を確認することが出来なかった。3) 对照群の糞中 50% Cr 排泄時間 (31 時間) に比べ、FOS 摂取はこれを 62 時間にまで有意に遅延させた。FOS 摂取初期の粘膜炎症を、盲腸粘膜の TJ 関連タンパク質の変動や、盲腸内容物自由水画分が Caco-2 細胞のバリア機能に及ぼす影響の違いから説明することは出来なかった。一方、FOS 摂取 7 日目では、盲腸上皮細胞と盲腸内容物とを隔てる明確なムチン層が消失していることが明らかになった。このムチン層の崩壊や盲腸内容物の滞留時間の延長が上皮組織と細菌の接触頻度を高め、粘膜炎症を惹起していると推測された。

③米糠タンパク質はコレステロール代謝改善作用を発揮する

○王 吉力特、長岡 利

(岐阜大学・応用生物科学部・食品分子機能学研究室)

【目的】

米の製粉プロセスに伴う主要な副産物である米糠に 10-16%タンパク質が含まれている。米糠タンパク質 (RBP) の低アレルギー性と抗がん作用が報告されたが、コレステロール (CHOL) 代謝に対する影響について報告は少ない。本研究では、*in vivo* 及び *in vitro* 実験により、RBP の CHOL 代謝改善作用機構を解明するとともに、活性成分を特定することを目的とした。

【方法・結果】

〈実験 1〉 Wistar 系雄ラットに RBP を添加した高 CHOL 食を与え、血清・肝臓脂質、糞中ステロイドを定量した。また、RBP の *in vitro* の CHOL ミセル溶解性及び胆汁酸結合能に対する影響を評価した。〈実験 2〉 RBP を胆汁酸結合カラムにより、アフィニティークロマトグラフィーを行い、胆汁酸結合タンパク質を同定した。〈実験 3〉 RBP を HiLoad 26/60 Superdex 200 pg カラムでゲルろ過クロマトグラフィーによる分画分取を行い、分画物の CHOL ミセル溶解性に対する影響を評価した。また、分画物 RBP3 を SOURCE 5RPC ST 4.6/150 カラムによる逆相クロマトグラフィーを行い、三つに分画分取し、分画物の CHOL ミセル溶解性に対する影響を評価した。

その結果、〈実験 1〉 RBP は血清 CHOL を有意に低下させ、糞中ステロイドを有意に増加させ、CHOL ミセル溶解性を有意に低下させるとともに、胆汁酸とも結合能を持つことを初めて明らかにした。〈実験 2〉 RBP 由来の胆汁酸結合タンパク質を単離し、Hypothetical protein OsJ_13801 (NCBI accession no. EAZ29742、54.5kDa) と同定した。〈実験 3〉 CHOL ミセル溶解性を有意に低下させる RBP の活性タンパク質は RBP3 に濃縮され、さらに、RBP3 の分画物である RBP3C は CHOL ミセル溶解性を有意に低下させ、Non-specific lipid-transfer protein 1 (LTP1) (NCBI accession No. A2ZHF1、11.3kDa) と Lectin (NCBI accession No. Q01MB6、22.7kDa) を含むことを発見した。

本研究により、RBP 由来の新規胆汁酸結合タンパク質 Hypothetical protein OsJ_13801、CHOL ミセル溶解性を低下させる新規活性タンパク質 LTP や Lectin を同定し、RBP の CHOL 代謝改善作用との関連性を明らかにした。

④酪酸摂取による FGF21 を介した肝臓脂質代謝関連遺伝子の発現変動

○高見紗依子、本間一江、合田敏尚
(静岡県大院・薬食生命科学)

【目的】酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸は、腸内細菌叢による難消化性多糖類資化によって生成することが知られているが、食事から摂取されるものもある。また、酪酸はヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害作用を有し、食事性肥満、高脂血症や様々な病因の肝障害を予防することなどが報告されている。そこで、本研究では絶食-再摂食に伴うラットの肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現変動に及ぼす酪酸の影響を検討した。

【方法】6週齢のSD系雄ラットを標準飼料で馴化後、3日間絶食させ、高スクロース食（対照群）または、酪酸ナトリウム5%添加・高スクロース食を再摂食させ、再摂食12時間または24時間後に屠殺した。肝臓を採取し、脂質代謝関連遺伝子の mRNA 量をリアルタイム RT-PCR 法により測定した。

【結果と考察】肝臓における脂肪酸合成関連遺伝子の mRNA 量は、再摂食により著しく増大したが、酪酸ナトリウム添加食群では再摂食24時間後における FAS および ACC β の mRNA 量は、対照群と比べて有意に低値であった。酪酸ナトリウム添加食を再摂食させたラットでは、肝臓における PPAR α およびその標的遺伝子である Aco1 および CPT1 α の mRNA 量が対照群よりも高い傾向を示した。また、PPAR α が発現調節に関与することで知られる FGF21 の mRNA 量は、再摂食12h後に対照群と比較して酪酸ナトリウム添加食群で有意に高い値を示した。それゆえ、絶食後に酪酸ナトリウムを含む食餌を再摂食した場合には、肝臓における PPAR α および FGF21 の発現が誘導され、その結果、脂肪酸酸化関連遺伝子の発現が高まる可能性が示唆された。さらに、再摂食による脂肪合成関連遺伝子の発現誘導も、酪酸ナトリウムを含む食餌の再摂食で抑制され、絶食後の酪酸ナトリウムを含む食餌の再摂食は、脂肪酸酸化亢進および脂肪合成抑制により肝臓の脂肪蓄積を抑制すると推察された。

⑤酪酸摂取による小腸二糖類水解酵素遺伝子周辺のヒストンアセチル化の変動

○鈴木美佑、鈴木彩花、高見紗依子、本間一江、合田敏尚
(静岡県立大学・食品栄養科学部)

【目的】

絶食や長期間の中心静脈栄養の施行により腸管が利用されないと、小腸では絨毛の欠落などによる消化吸収面積の低下と消化管粘膜重量の低下が起こる。ラットを用いた先行研究から、絶食によって消化吸収関連遺伝子の発現が低下し、消化吸収能が落ちることが明らかにされている。また、再摂食に伴う遺伝子の発現誘導にはその遺伝子周辺のヒストンアセチル化が関与していることが明らかにされてきた。

短鎖脂肪酸である酪酸は、ヒストン脱アセチル化酵素阻害作用を有することが報告されている。それゆえ、酪酸の摂取は、小腸消化吸収関連遺伝子のヒストンアセチル化を促進し、遺伝子の発現を高める可能性が考えられた。本研究では、絶食-再摂食に伴う小腸の二糖類水解酵素の発現誘導における、酪酸摂取の影響を検討した。

【方法】

6週齢のSD系雄ラットを標準食で馴化させた後、3日間絶食させ、高スクロース食（対照食群）または、酪酸ナトリウムを5%添加した高スクロース食（酪酸添加食群）を再摂食させ、12時間または24時間後に解剖して空腸を採取した。糖質消化吸収関連遺伝子のmRNA発現量をリアルタイムRT-PCR法により測定し、ラクターゼ・フロリジン水解酵素（LPH）遺伝子およびスクラーゼ・イソマルターゼ複合体（SI）遺伝子周辺のヒストンアセチル化レベルを、クロマチン免疫沈降法により測定した。

【結果と考察】

3日間の絶食により、*Lph* 遺伝子および *Si* 遺伝子周辺のヒストンH4のアセチル化レベルが有意に減少した。一方、再摂食12時間後には、*Lph* 遺伝子および *Si* 遺伝子周辺のヒストンH3のアセチル化レベルは、対照食群よりも酪酸添加食群で有意に高く、対照食群では再摂食12時間後から24時間後にかけて増大したのに対して、酪酸添加食群では、再摂食12時間後から増大する傾向があった。

以上の結果から、再摂食時の酪酸の摂取はLPHおよびSIの発現誘導において、その遺伝子周辺のヒストンH3のアセチル化を高めることで、転写伸長反応を促進することが示唆された。

⑥Ussing chamber 法による食品成分の生理作用（機能性）解析

○唐木晋一郎

（静岡県立大学・食品栄養科学部環境生命科学科）

【背景】 Ussing chamber 法は、デンマークの動物学者である Hans H. Ussing が、1951 年に発表したカエルの表皮における起電性ナトリウム輸送の電気生理学的実験法である（Ussing HH, Zerahn K. *Acta Physiol Scand* 1951; 23: 110-27）。上皮膜の起電性のイオン輸送によって上皮膜を介した液間の浸透圧差が作られ、この浸透圧差によって上皮膜を介した水の分泌・吸収が惹起される。したがってこの実験法は、消化管や気管の分泌腺や吸収上皮、尿細管上皮、汗腺など、摘出組織標本や培養細胞を用いた上皮膜モデル標本における水の分泌・吸収を、高感度・リアルタイムに測定することが可能である（唐木、桑原. 「日薬理誌」2004; 123: 211-218）。このため、この実験法は消化管粘膜上皮など様々な生体の上皮組織の電解質輸送測定に応用され、多くの研究成果が報告されている。本演題では、食品成分および食品に由来する物質の機能性解析に対する Ussing chamber 法の応用について紹介する。

【ポリフェノール類によるアニオン分泌（水分分泌）応答】 Ussing chamber に装着したヒト結腸粘膜-粘膜下組織標本、ラット盲腸粘膜-粘膜下組織標本、Caco-2 単層培養標本の粘膜側（管腔側）灌流液中に、様々なポリフェノール類を投与したところ、quercetin のようなフラボノールや、resveratrol やその二量体、viniferin が、低濃度では経上皮コンダクタンス (Gt, TEER の逆数) の減少、高濃度では上昇を惹起し、加えて PGE₂ 産生に依存した短絡電流 (I_{sc}, 起電性イオン輸送の指標) 上昇が測定された。これらの作用は、これらを漿膜側（血管側）灌流液に投与した場合は惹起されなかったことから、ポリフェノール類は上皮細胞の頂端膜に存在する何らかの受容機構によって感受されているものと考えられる。

【短鎖脂肪酸による腸上皮組織からの GLP-1 放出測定】 Ussing chamber 法では、上皮組織の電気生理学的機能だけでなく、chamber 灌流液を回収することで、物質そのものの輸送や、消化管ホルモン放出の解析を行うことも可能である。Ussing chamber に装着したラット結腸および回腸の管腔側 chamber にプロピオン酸を投与 (Final 5mM) したところ、一過性の短絡電流上昇（アニオン分泌）とともに、投与前と投与後 10 分に血管側 chamber から灌流液を回収して GLP-1 濃度を測定したところ、GLP-1 濃度の上昇が測定された。

【まとめ】 上記ポリフェノール類や短鎖脂肪酸による反応は、いずれも腸管の管腔側に作用させた際の反応である。すなわち、摂取、あるいは腸内細菌が産生することによって腸管に到達／産生された様々な物質は、たとえ腸管内から生体内に吸収されなくても、消化管粘膜に存在する何らかの管腔内化学物質受容機構を介して、消化管の局所的な作用から全身性の影響まで惹起する可能性がある。このような食品成分等の管腔側からの機能性を解析する上で、Ussing chamber 法は強力なツールになるものと考えられる。

⑦ペクチンは腸管抗体産生を調節し、食物アレルギーの発症予防に寄与する

○山下昇悟¹、岩城佳那²、矢部富雄^{1,2,3}、北口公司^{1,2,3}

(1 岐阜大院・自然科学、2 岐阜大院・応生、3 岐阜大・応生)

【背景】

食物アレルギーは、本来は無害な食物抗原に対して過剰な免疫応答が惹起される疾患であり、2型ヘルパーT細胞(Th2)を介した食物抗原特異的なIgE産生の亢進がその病態の形成に重要な役割を果たしている。近年、食物繊維がプレバイオティクス作用を介して抗アレルギー効果を示すことが報告されているが、その詳細な作用機序には不明な点が多い。とりわけ水溶性食物繊維の一種であるペクチンが、パイエル板の抗原提示細胞に直接認識される可能性が示唆されていることから、新規な食物アレルギー調節作用をペクチンが有している可能性が考えられた。そこで本研究では、ペクチン摂取が食物アレルギー病態に与える影響とその作用機序を解明することを目的とした。

【方法】

5~20%シトラスペクチン(CP)含有飼料を給餌したBalb/cマウスを卵白オボアルブミン(OVA)で免疫した後、OVAを複数回経口投与することでアレルギー性の下痢を誘導した。OVA経口投与10日目のマウスから脾臓、腸間膜リンパ節(MLN)、小腸上部、ならびに血液を採取した。各組織からmRNAを抽出し、RT-qPCR法により、Th2細胞のマスター転写因子Gata-3、IgEとIgG₁のクラススイッチに關与するサイトカインIL-4、マスト細胞の分化マーカーMCP-1などのmRNA発現量を測定した。さらに、血清中のOVA特異的なIgG₁、IgE抗体価をELISA法により測定した。

【結果と考察】

CP摂取群において下痢症状がControl群に比して緩和し、OVA特異的IgG₁、IgEの血中抗体価の上昇が有意に抑制された。さらに、CP摂取群の小腸上部におけるMCP-1のmRNA発現量も有意に低下していた。CP摂取群の脾臓におけるGata-3とIL-4のmRNA発現量はControl群と同程度であったが、MLNにおけるGata-3とIL-4遺伝子発現量は有意に低下していた。以上の結果より、CPは腸管における抗体産生を制御することで食物アレルギーの発症を予防する可能性が示唆された。

⑧ ザクロ種子抽出物のアレルギー抑制効果に関する研究

○高木里織¹、光川瑞葵²、宮越正哉³、向井信人³、向井孝³、繁森英幸⁴、西本壮吾⁵
(1 石川県立大院・生物資源環境学研究科、2 筑波大・生命環境学群生物資源学類、
3 (株) サニープレイス、4 筑波大・生命環境系、5 石川県立大・生物資源環境学科)

【背景】

近年、アレルギー疾患の有病率は増加傾向にあり、なかでも花粉症や気管支喘息を代表とする I 型アレルギー患者数の増加は著しい。これらの治療に際して対症療法として使用される薬剤の副作用が懸念されている中、食品素材による長期的な体質改善による予防、症状の緩和に注目が集まっている。

ザクロはミソハギ科ザクロ属の果実である。ザクロは果実全体に対して種子がかなりの割合を占め、搾汁後に残る種子の多くは廃棄されている。ザクロ種子には抗炎症作用や酸化作用などの報告はあるが、免疫調節に関する報告はされていない。

本研究では、廃棄されるザクロ種子の有効活用及び付加価値化をめざして、アレルギー抑制効果に焦点を当て新規機能性評価を行った。

【方法】

粉碎したザクロ種子を 100%エタノールで 24 時間振とう抽出した後、ロータリーエバポレーターで濃縮し、ザクロ種子 100%エタノール抽出物 (*Punica granatum* Seed Extract : PSE) を得た。さらに、極性の異なる溶媒を用いて調製された 6 つの画分を実験に使用した。

ヒト多発性骨髄腫 U266 細胞を、各画分サンプルを添加した無血清培地にて培養した。培養終了後、ELISA 法によって U266 細胞が産生したヒト IgE 抗体量を測定した。また、WST-8 法によって細胞生存率を測定した。さらに、IgE 抗体遺伝子発現を RT-PCR 法によって測定した。

【結果及び考察】

U266 細胞に各 PSE 画分を添加したところ、コントロールと比較し、PSE 酢酸エチル-ヘキサン画分 (PSE-EA-H) を添加した U266 細胞から産生されたヒト IgE 抗体量の減少が認められた。このとき細胞生存率に著しい変化は見られなかったことから、PSE-EA-H は細胞毒性に起因せず、U266 細胞の IgE 抗体産生を抑制することが示された。本研究の結果から、PSE-EA-H に含まれる成分が IgE 産生阻害活性を示し、生体においてもアレルギー抑制効果を示す可能性が示唆された。

⑨高生体内吸収性クルクミンによる褐色脂肪細胞化の誘導と作用機構解明

○西川 翔¹、神谷 美沙¹、青山 広樹¹、野村 真美¹、兵頭 拓真¹、尾関 葵¹、
高橋 司²、今泉 厚²、津田 孝範¹

(1 中部大・応生、2(株)セラバリュース)

【目的】 褐色脂肪組織は、寒冷刺激など種々の環境条件に応じ、熱産生が増加してエネルギー消費が促進する。近年の研究から、環境条件により白色脂肪組織において「誘導型」褐色脂肪細胞が増加（褐色脂肪細胞化）し、熱産生によるエネルギー消費が増加し体脂肪が減少することが明らかになった。このような背景から演者らは、褐色脂肪細胞化を誘導する食品由来因子としてブラジル産プロポリスの主成分である ArtepillinC を明らかにしその作用機構を報告している¹⁾。本研究では、香辛料ターメリックに含まれる黄色色素クルクミンによる褐色脂肪細胞化の誘導とその機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】 C57BL/6J マウスに高生体内吸収性クルクミン製剤（HC, (株)セラバリュース）を4週間経口投与（4.5 mg クルクミン/kg）し、鼠蹊部白色脂肪組織、精巣上体白色脂肪組織、肩甲骨間褐色脂肪組織を採取した。これらの組織について褐色脂肪細胞化に伴う形態変化を HE 染色で観察した。さらに褐色脂肪細胞化マーカーである UCP1 タンパク質発現をウェスタンブロットティング及び免疫染色により評価した。比較のため通常のクルクミン（NC）を用いて同様の実験を行い比較検討した。

【結果】 HC を経口投与したマウスにおいては、鼠蹊部白色脂肪組織に褐色脂肪細胞化で観察される多房化形成や UCP1 陽性の細胞が認められ、UCP1 タンパク質の発現量は有意に上昇した。精巣上体白色脂肪組織では HC による褐色脂肪細胞化誘導は認められず、肩甲骨間褐色脂肪組織では群間の差は認められなかった。NC の投与は白色脂肪組織での褐色脂肪細胞化を誘導しなかった。次に HC による褐色脂肪細胞化誘導の作用機構の解明を試みた。その結果、HC による褐色脂肪細胞化誘導は、鼠蹊部白色脂肪組織での M2 マクロファージの集積とこれに伴う局所的なノルエピネフリン産生によることを明らかにした²⁾。

¹⁾ *PLoS ONE* (2016) 11: e0162512.

²⁾ *Mol. Nutr. Food Res.* (2017) submitted.

⑩インスリン抵抗性に対する分岐鎖アミノ酸代謝の関与

○加賀清美、門田吉弘、太田美樹、Jussiaea. V. Bariuan、千田壮志、北浦靖之、
下村吉治

(名古屋大学大学院・生命農学研究科)

【背景・目的】ヒトおよび実験動物（ラット、マウス）の肥満・2型糖尿病におけるインスリン抵抗性の進展に伴い、血中 BCAA 濃度の上昇が、古くから認められている。この血漿 BCAA 濃度の上昇と関連して、脂肪組織をはじめ様々な臓器で BCAA 代謝が低下すること、ラットに高脂肪食に加えて BCAA を与えるとインスリン抵抗性が悪化することが報告されている。一方、肝硬変などでは BCAA 代謝の亢進に伴い血中 BCAA 濃度が低下し、耐糖能異常が引き起こされ、BCAA の摂取によりインスリン抵抗性が改善する報告もされている。そのため、BCAA がインスリン抵抗性を悪化させるのか、それとも改善するのかについては意見が分かれており、また、どの組織に対して BCAA が影響を及ぼすのかについては不明な点が多い。そこで本研究では、全身または骨格筋、脂肪組織で特異的に BCAA 代謝を亢進させ、それぞれの組織で BCAA を低下することによるインスリン抵抗性への影響について検討を行った。

【方法】BCAA 代謝の律速酵素である分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素（BCKDH）複合体は特異的キナーゼである BCKDH キナーゼ（BDK）により不活性化される。この BDK を全身で欠損させたマウス（BDK-KO マウス）、骨格筋で欠損させたマウス（BDK-mKO マウス）、脂肪組織で欠損させたマウス（BDK-adKO マウス）を用いて、それぞれの組織で BCAA 代謝を亢進させて低 BCAA 濃度にしたマウスに糖負荷試験を行うとともに、空腹時血糖、インスリン濃度を測定した。また、高脂肪食を摂取させたときの空腹時血糖、インスリン濃度を測定した。

【結果】BDK-KO、mKO、adKO マウスの血中 BCAA 濃度は、それぞれ Control マウスに比べ約 50%、30%、20%低下した。BDK-mKO、adKO マウスは Control マウスと同様の耐糖能を示したが、BDK-KO マウスでは、Control マウスに比べ糖負荷後の血糖値が有意に高値を示した。また、すべてのマウスで空腹時血糖、インスリン濃度に有意な差は認められなかった。以上の結果から、BCAA 代謝が亢進し、BCAA 濃度が低下すると、インスリン抵抗性が悪化し、骨格筋、脂肪組織だけではなく、全身での BCAA 濃度の維持がインスリン感受性を維持するのに重要であることが示唆された。

⑪ 酵素合成グリコーゲン摂取が老化促進モデルマウスの認知機能及び糞中細菌叢に及ぼす影響

○嶋七海¹, 市川紗貴¹, 加藤和子², 古屋敷隆², 三谷壘一^{1,3}, 中村宗一郎¹, 片山茂^{1,3,4}
(1 信州大・農・応用生命, 2 江崎グリコ(株)健康研, 3 信州大バイオ研, 4 信州大 CFMD)

【目的】 酵素合成グリコーゲン (Enzymatically Synthesized Glycogen ; ESG) は免疫賦活効果をはじめとする優れた生理機能を有し、腸内では食物繊維様に作用することが報告されている。また、ESG の長期摂取はマウスの新規物体認識試験において一定の効果を示したとの報告もある。本研究では、雌雄の老化促進モデルマウス SAMP8 を用いて、ESG 摂取が認知機能と腸内細菌叢に及ぼす性差を中心に検討したので報告する。

【方法】 AIN-93M を基本組成とし、ESG 含有量を 6.0% となるように試験食を調製した。SAMP8 (雄性および雌性、15 週齢) を 2 群に分け、コントロール群には AIN-93M 食を、試験群には ESG を含む試験食をそれぞれ自由摂取させ、25 週間飼育した。飼育期間中は毎週、体重と摂餌量を測定した。認知機能は、試験開始から 24 週間後に、バーンズ迷路試験と受動的回避試験により評価した。バーンズ迷路試験では、4 日間の訓練後、5 日目に回避箱を外し、回避箱までの最短の到達時間、および回避箱のあった分画に滞在した時間を測定した。受動的回避試験では、初日の獲得試行で、暗室に進入した際に電気刺激を与えることにより、ショック体験を記憶させた後、翌日の再生試行で、反応潜時 (暗室に移動するまでの時間) を測定した。解剖前日の糞を採取し、T-RFLP 法により糞中細菌叢解析を行った。

【結果】 飼育期間中、コントロール群と ESG 群において、体重および摂餌量で顕著な差は認められなかった。バーンズ迷路試験では、雌雄ともに ESG 摂取群においてコントロール群と比較して、回避箱への到達時間の短縮が認められた。特に、雄性の ESG 群では、回避箱のあった分画に滞在した時間を増加しており、顕著な認知機能向上効果が示された。一方、受動的回避試験においては、雄性 ESG 群はコントロール群と比べて変化が認められなかったのに対して、雌性 ESG 群では、再生試行の反応潜時がコントロール群よりも延長することが示された。糞中細菌叢解析の結果においては、雌性 ESG 群で *Bacteroidales* 目や *Clostridiales* 目の細菌群がコントロール群よりも増加した。これに対し、雄性 ESG 群では顕著な変化は認められなかった。本研究により、ESG 長期摂取効果の性差としては、①認知機能向上効果に大きな違いは無いが、②腸内細菌叢の優占種には顕著な違いをもたらすことが明らかにされた。