

## 第 76 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①～④ 座長：堀尾 文彦（名古屋大学）

- 13:05 ①オルトジヒドロキシソフラボンの脳機能に及ぼす影響  
○平松直人，梅田周佑，呉暁紅，岡田利孝  
（東洋発酵）
- 13:20 ②脳波解析を用いた炭酸水飲用による感性変動の取得  
○小杉亘<sup>1</sup>，水野征一<sup>1</sup>，太田英作<sup>2</sup>，満倉靖恵<sup>3</sup>  
（<sup>1</sup>アサヒ飲料，<sup>2</sup>電通サイエンスジャム，<sup>3</sup>慶大）
- 13:35 ③腸管の管腔内ケミカルセンシングと非神経性コリン作動性シグナル伝達  
○唐木晋一郎  
（静岡県大・食品栄養科学）
- 13:50 ④*Akkermansia muciniphila* を標的とした新規プレバイオティクスの探索  
○水嶋貴康<sup>1</sup>，宮田高明<sup>1</sup>，日野真吾<sup>2</sup>，西村直道<sup>2</sup>，森田達也<sup>2</sup>  
（<sup>1</sup>静大院・総合科学技術，<sup>2</sup>静大・学術院）

### 演題⑤～⑧ 座長：長岡 利（岐阜大学）

- 14:05 ⑤ムチン構成糖は短鎖脂肪酸の産生および腸管免疫系の発達に寄与する  
○金子功典<sup>1</sup>，日野真吾<sup>2</sup>，山田恭央<sup>3</sup>，長谷耕二<sup>3</sup>，西村直道<sup>2</sup>，森田達也<sup>2</sup>  
（<sup>1</sup>静大院・総合科学技術，<sup>2</sup>静大・学術院，<sup>3</sup>慶大院・薬）
- 14:20 ⑥グルコラファニン高含有ケールの皮膚老化抑制機構の解明  
○市川紗貴<sup>1</sup>，内堀友貴<sup>1</sup>，Supattra Chawalitpong<sup>1</sup>，Patipark Kueanjinda<sup>2</sup>，  
中村宗一郎<sup>1</sup>，片山茂<sup>1,2</sup>  
（<sup>1</sup>信州大院・農，<sup>2</sup>信州大・バイオメディカル研）
- 14:35 ⑦無菌 ODS ラットにおけるアスコルビン酸欠乏による炎症様変化の解析  
○川出野絵，村井篤嗣，鈴木若奈，竹内健三郎，小林美里，堀尾文彦  
（名大院・生命農）
- 14:50 ⑧不動化による骨格筋中の筋代謝関連遺伝子の発現変動とサイトカイン発現との関連性  
○石山詩織，本間一江，合田敏尚  
（静岡県大院・薬食生命科学）

**演題⑨～⑪ 座長：森田 達也（静岡大学）**

- 15:05 ⑨運動が動脈硬化性疾患を抑制する新規メカニズム～BAIBAの関与～  
○片山桂吾<sup>1</sup>，榛葉有希<sup>1</sup>，妹尾奈波<sup>1</sup>，池田雅彦<sup>2</sup>，守田昭仁<sup>1</sup>，三浦進司<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 静岡県大，<sup>2</sup> 常葉大)
- 15:20 ⑩食品由来因子と運動の併用による褐色脂肪細胞化の誘導と機序解明  
○小島拓也，加藤大樹，西川翔，津田孝範  
(中部大・応用生物)
- 15:35 ⑪ジペプチド FP (Phe-Pro) は肥満と高コレステロール血症を改善する新規ペプチドである  
○坂野新太，森峻輔，岡田健司，王吉力持，山本雄太，二本松太郎，長岡利  
(岐阜大・応用生物科学)

## 演題①

### オルトジヒドロキシイソフラボンの脳機能に及ぼす影響

○平松直人, 梅田周佑, 呉暁紅, 岡田利孝  
(東洋発酵)

**【背景と目的】**糖化とは、タンパク質と糖(ブドウ糖などの還元糖)が非酵素的な反応を経て結合し、終末糖化産物 (AGEs : Advanced Glycation End- products) を生成することである。糖化は生体内においても起こり、その反応によって蓄積した AGEs は生体組織において様々な機能障害を引き起こすが、その中の 1 つにアルツハイマー病がある。わが国では高齢化の進行に伴いアルツハイマー病等の認知症患者数は増え続けており、その数が 2012 年の 462 万人から 2025 年には 730 万人へ増加し、65 歳以上の 5 人に 1 人が認知症を発症すると推計されている。老化に伴う認知機能の低下には、遺伝的要因だけでなく食事や運動などの生活習慣も大きく関与しており、特に糖化ストレスの高い糖尿病患者のアルツハイマー病及び血管性認知症の発症リスクは健常者の約 2 倍にまで上昇すると言われている。このような背景の中、我々は老化疾患予防とそれによる健康寿命延長を可能とする食品用抗糖化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する大豆エキスを黒麹菌で発酵させた発酵物に強い抗糖化作用があることを見出した。さらに研究を進めた結果、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。そこで、今回抗糖化作用に基づく機能の一つとして、ODI の脳機能に及ぼす影響について調べた。

**【方法及び結果】**アミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) は、アルツハイマー患者の脳に見られる老人斑の主成分として発見されており、 $A\beta$  の凝集により神経機能の異常が現れると考えられている。そこで、ODI の  $A\beta$  凝集阻害作用についてチオフラビン T(ThT)色素を用いた ThT 蛍光アッセイ法によって評価した結果、ODI では明らかな  $A\beta$  凝集阻害作用が確認された。一方でアグリコン体のイソフラボンでは  $A\beta$  凝集阻害作用はほぼ確認されなかった。

続いて健康な成人男女 18 名を被験者として、経口摂取による神経栄養因子(BDNF, NGF, NT-3)上昇効果についての評価を行った。被験者を低用量摂取群及び高用量摂取群の 2 群に分け、ODI を含む試験食を 16 週間摂取した後の血漿中における神経栄養因子濃度を ELISA 法にて測定した結果、いずれの因子においても経時的に上昇することが確認され、またその効果は用量依存的に高くなった。次に同様の試験食を使用し、60 歳以上 75 歳以下の健康な日本人男性および女性において、自己申告により物忘れを自覚する者を対象としたアーバンス神経心理テストを実施した。試験デザインは試験食摂取 8 週間の前後比較試験とし、総合評価点は 5 つの認知領域の粗点をもとに年齢別標準化サンプルにおける平均値と標準偏差から算出した。その結果、総合評価点においては摂取前と比べて有意に高値を示し、また 5 つの認知領域のうち短期記憶の領域においても有意な改善効果が確認された。

## 演題②

### 脳波解析を用いた炭酸水飲用による感性変動の取得

○小杉亘<sup>1</sup>, 水野征一<sup>1</sup>, 太田英作<sup>2</sup>, 満倉靖恵<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>アサヒ飲料, <sup>2</sup>電通サイエンスジャム, <sup>3</sup>慶大)

**【背景と目的】**炭酸水飲用時の印象として「スッキリする」「さっぱりする」などの主観的な気持ちの変化があると言われている。この気持ちの変化に着目し、生体信号では一体どのような変化が起こるのかを調査するため、強弱2種類の炭酸水と水を用いた飲用試験を行った。本研究では気持ちの変化を捉えるため生体情報の一つである脳波を用いた評価を実施した。

**【方法】**強炭酸水あるいは弱炭酸水と水を飲用して、各飲料の飲用時の脳波を計測する試験を実施した。脳波から気持ち(感性)の変化を計測するためにはすでに有用性を報告している感性アナライザ<sup>(1)(2)</sup>を用いた。感性アナライザは脳波から感性を推定する感性アルゴリズムが組み込まれており、感性把握アルゴリズムは脳波に混入されるノイズのフィルタリング、特徴抽出、および様々なパターン認識手法によって構成される。被験者は会社員51名(男性34名, 女性17名, 平均年齢36.0歳)とした。強炭酸水飲用群26名と弱炭酸水飲用群25名に分け、脳波計を装着して各飲料を飲用する際の脳波データを収集した。それぞれの群内では炭酸水を先に飲用する群と水を先に飲用する群に振り分けた。試験手続は、まず事前アンケートとして自覚症しらべと飲食料摂取・就労形態の質問票の実施により疲労状況と各被験者の状況を取得した後に脳波計を装着した。次に先行の飲料飲用前の安静時の脳波を計測した上で、脳波を計測しながら飲用を行い、飲料飲用後の安静時の脳波を計測した。その後、後行の飲料も同様に脳波の計測と飲用を行った。飲用量は炭酸水と水の両方共に各100mlとして統一した。

**【結果と考察】**各飲料の飲用前の安静時、飲用中、飲用後の安静時のそれぞれの脳波から得られた感性推定値の比較により、強炭酸水の飲用中に覚醒度が上昇すること、強炭酸水の飲用前後にて集中度が上昇することが認められた。強炭酸水と水を飲用した群と弱炭酸水と水を飲用した群について各々に感性値の比較を行ったが、強炭酸水を飲用したケースにて水と比べて「飲用前後の安静中における集中度の上昇」と「飲用中における覚醒度の上昇」の有意差が確認できた。このことから強炭酸水を飲用することによって集中度と覚醒度が高まる可能性を示唆している。

#### 参考文献

- (1) Yasue Mitsukura : “EEG Signal Processing for Real Applications” , Journal of Signal Processing, Vol. 20, No. 1, pp. 1-7 (2016)
- (2) 「感性アナライザ」: 株式会社電通サイエンスジャム <http://kansei-analyzer.com/>

### 演題③

## 腸管の管腔内ケミカルセンシングと非神経性コリン作動性シグナル伝達

○唐木晋一郎

(静岡県大・食品栄養科学)

腸管は、管腔内の物理的・化学的状态を感受して、上皮膜機能(分泌・吸収・バリア機能)や、運動機能を調節していると考えられる。下部消化管においては、腸内細菌の主要な代謝産物である短鎖脂肪酸が、Gタンパク共役型受容体(GPCRs)である FFA3(GPR41)や FFA2(GPR43)を介して感受され、腸管粘膜からの水分泌を駆動する起電性経上皮アニオン分泌や、ペプチド YY や GLP-1 などの消化管ホルモンの内分泌が惹起されることが報告されている。短鎖脂肪酸が惹起する起電性アニオン分泌は、ニューロンではなく、粘膜上皮細胞によって直接産生されていることを示唆することが報告されている。

本研究では、ラットの腸上皮にアセチルコリン(ACh)産生酵素であるコリン-Aセチルトランスフェラーゼ(ChAT)を発現した細胞が散在し、この細胞は、味覚情報の伝達に関与することが知られている Gタンパク質の一種、gustducin(Ggust)を共発現していることを、免疫組織化学(IHC)的手法により明らかにした。腸管の Ggust 発現上皮細胞は、brush 細胞と呼ばれる細胞であると考えられ、管腔内ケミカルセンシングに関与している可能性が示唆されている。本研究では、Ggust 発現細胞は、brush 細胞のマーカーでもある Cytokeratin18 も発現し、味覚受容体やグルタミン酸受容体も発現していることを確認した。短鎖脂肪酸、特に分泌作用を惹起するプロピオン酸は、FFA3 受容体を介して ChAT 発現 brush 細胞に作用し、ACh を産生・放出する可能性がある。

Brush 細胞から放出された ACh は、近傍の神経終末や上皮細胞を刺激し、経上皮アニオン分泌を誘導すると考えられる。ラット結腸粘膜上皮標本を Ussing chamber に装着し、起電性イオン輸送を短絡電流(Isc)として測定したところ、既に報告されている通り、神経遮断薬テトロドトキシン(TTX)はプロピオン酸の作用をほとんど抑制せず、アトロピンはほとんど消失させたことから、この作用は、上皮細胞上のムスカリン様 ACh 受容体(mAChR)を介していると思われる。今回、IHC によって、ラット結腸上皮には  $\alpha 7$  サブユニットを有するニコチン様受容体(mAChR)も腸上皮細胞の頂端(管腔)側の細胞膜上に発現していることが分かった。そこで、Ussing 実験において、ラット結腸粘膜の頂端側灌流液にニコチンを投与すると、濃度依存性、TTX 耐性の Isc 上昇が測定された。

これらの実験結果から、ラット結腸粘膜上皮のケミカルセンシングとその情報伝達機構には、局所的には神経を介さず、血管側、管腔側それぞれに ACh が放出され mAChR および nAChR を介して作用する非神経性コリン作動性シグナル伝達経路が存在することが示唆された。

#### 演題④

### *Akkermansia muciniphila* を標的とした新規プレバイオティクスの探索

○水嶋貴康<sup>1</sup>, 宮田高明<sup>1</sup>, 日野真吾<sup>2</sup>, 西村直道<sup>2</sup>, 森田達也<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 静大院・総合科学技術, <sup>2</sup> 静大・大学院)

**【目的】** 肥満や糖尿病病態との関連性が注目されている *A. muciniphila* (*Am*) は、ムチンを唯一の炭素・窒素源として生育可能な菌で GlcNAc や Thr に必須性を示す。我々は先の研究で、ムチン糖鎖末端の硫酸化糖 capping 比率が高いエイ体表粘質物由来のムチン (EM) が *Am* を特異的に (有意に) 誘導することを見出した。本研究では EM 摂取が *Am* 誘導に要する期間, 効果の持続性を検討すると同時に, *Am* 誘導が大腸生理に及ぼす影響を考察した。また prebiotics 効果を予測するため, ヒト糞便を用いた EM の発酵試験を実施した。

**【方法】** 実験 1: 7 週齢の Wistar 系雄ラットに对照, あるいは 1.2%EM を添加した飼料を 21 日間与え, 試験飼育 0, 3, 7, 14, 20 日目の糞便中 *Am* および *Bacteroides thetaiotaomicron* (*Bt*) 数の変動を追跡した。一部のラットでは, 14 日目に盲腸および結腸組織切片 (凍結後カルノア固定) を調製し, アルシヤンブルー (AB) および FISH-Muc2 抗体染色により, ムチン層を計測した。また, 盲腸および結腸粘膜のムチン, tight junction (TJ) 関連遺伝子および炎症性サイトカインの mRNA 発現量を測定した。さらに Cr-EDTA 経口投与時 (20 mg/head) の尿中 Cr 排泄量から *Am* 誘導時の腸管透過性を測定した。実験 2: Jar-fermentor を用い, nutrient broth 培地に終濃度で (重量比) 3%EM と 2% 新鮮便を添加し pH5.5 で 48 時間培養を行ない, この間の *Am* と *Bt* 数の変動を PCR で測定した。

**【結果・考察】** EM 摂取による *Am* および *Bt* の誘導 (夫々 12 倍および 4 倍) は, 摂取後 3 日目から認められ 21 日目まで持続した。一方, これらの誘導効果は EM 摂取中止 3 日目には消失した。結腸組織切片の AB および FISH-Muc2 抗体染色像から, EM 群のムチン層 (30  $\mu$ m) は对照 (44  $\mu$ m) に比べ有意に薄くなることが判明した。このときの EM 群の結腸粘膜 mRNA 発現量は, *Muc3* および *Claudin3*, *Occludin* に加え, *IL-1 $\beta$* , *4*, *13* および *IFN- $\gamma$*  等の炎症性サイトカインでも对照群に比べ有意に低下していた。一方, 盲腸組織に何ら変化は認められなかった。これらの結果は, 一見, 従来の *Am* 仮説と矛盾する。現在測定中である尿中 Cr 排泄量の結果と合わせて考察する予定である。*Am* 占有率が 0.1% を超える糞便検体を用いたとき, 培養時の *Am* 数は最大で 3 倍増加したが *Bt* では 10 倍の増加を示し, ラット摂取試験で認められた結果と一致しなかった。使用した糞便の *Am* と *Bt* の初期占有率が影響したかもしれない。prebiotics 効果については今後, 検体数を増やし検討を継続する予定である。

## 演題⑤\*

### ムチン構成糖は短鎖脂肪酸の産生および腸管免疫系の発達に寄与する

○金子功典<sup>1</sup>, 日野真吾<sup>2</sup>, 山田恭央<sup>3</sup>, 長谷耕二<sup>3</sup>, 西村直道<sup>2</sup>, 森田達也<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 静大院・総合科学技術, <sup>2</sup> 静大・学術院, <sup>3</sup> 慶大院・薬)

**【目的】** 消化管に分泌されるムチンは高密度に糖鎖化された糖タンパク質であり, その重量の6-8割を糖鎖が占めている。高密度に糖鎖化されたムチンは小腸では難消化性であり, 大腸へと流入し, 腸内細菌に発酵基質として利用される。我々は, ラットでの豚胃粘膜ムチン(PM)摂取試験を行い, ムチンは短鎖脂肪酸 (SCFA)のうち, 特に, *n*-酪酸を顕著に増加させることを明らかにした。本試験では, PM 糖鎖の組成に着目し, *n*-酪酸濃度を高めるムチン構成糖を明らかにすることを目的に, 発酵代謝経路が異なると推定される 3 種類のムチン構成糖 (GlcNAc, Fuc, NeuAc) をラットに摂取させた。また, ムチンおよび GlcNAc 摂取が腸管免疫系の発達に及ぼす影響を解析した。ムチンの摂取により増加する SCFA は, エピジェネティックな制御を介して腸管免疫系の発達を促すと予想されるためである。

**【方法】** **実験 1:** 6 週齢の Wistar 系雄ラットに对照飼料または GlcNAc, Fuc, NeuAc をそれぞれ 1%添加した飼料を 14 日間与えた。飼育終了時, 盲腸内容物の有機酸, ムチン (*O*-結合性糖鎖当量)の測定および腸内細菌叢の解析に供した。**実験 2:** 4 週齢の Wistar 系雄ラットに对照飼料, 1, 3% GlcNAc 飼料または 1.5% PM 添加飼料を 30 日間与えた。飼育終了時, 盲腸から粘膜固有層リンパ球を調製し, IgA 形質細胞, 制御性 T 細胞 (Treg)数を FACS 解析した。また, 盲腸粘膜のサイトカイン, IgA, ムチンおよびタイトジャンクション関連遺伝子の発現量を測定した。盲腸内容物は有機酸, 総菌数ならびに IgA の測定に供した。

**【結果・考察】** **実験 1:** SCFA パターンでは, 酢酸は GlcNAc および NeuAc 群で, プロピオン酸は Fuc および GlcNAc 群で对照群に比べ有意に増加したのに対し, *n*-酪酸は GlcNAc 群でのみ对照群に比べ有意に増加した。菌叢解析の結果, 各ムチン構成糖によって誘導される菌は異なっており, GlcNAc は, *Roseburia faecis*, *Eubacterium tortuosum*, *Allobaculum stercoricanis* といった *n*-酪酸産生菌を誘導することが明らかとなった。**実験 2:** PM および GlcNAc 群では, 对照群に比べすべての SCFA 濃度が上昇したが, 酢酸およびプロピオン酸濃度の上昇は, 3% GlcNAc 群でのみ有意であった。盲腸内容物 IgA 濃度に群間で差はなかったが, PM および GlcNAc の摂取は, IgA 形質細胞を有意に増加させた。Treg は PM および GlcNAc 群で对照群に比べ高値を示したが, 1%GlcNAc 群でのみ有意であった。このとき, GlcNAc および PM 群では, 对照に比べ炎症性サイトカインである *Tnfa*, *Ifng* 発現量が低下していたが, 抗炎症性サイトカインである *Il10*, *Tgfb* 発現量に群間で差は無かった。また, PM および GlcNAc 群では IgA の産生・分泌に関与する *April*, *pIgR* 発現量も低下していた。

以上の結果より, PM 摂取による盲腸 *n*-酪酸濃度の上昇は GlcNAc (アミノ糖)の発酵特性に起因すると考えられた。また, PM や GlcNAc の摂取が IgA 形質細胞および Treg を誘導し, かつ炎症性サイトカイン発現量を低下させたことから, 大腸へ流入するムチンは, 発酵を介して腸管免疫系の発達および恒常性の維持に寄与している可能性が示唆された。

## 演題⑥\*

### グルコラファニン高含有ケール摂取による皮膚老化抑制作用機構の解明

○市川紗貴<sup>1</sup>, 内堀友貴<sup>1</sup>, Supattra Chawalitpong<sup>1</sup>,  
Patipark Kueanjinda<sup>2</sup>, 中村宗一郎<sup>1</sup>, 片山茂<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>信州大院・農, <sup>2</sup>信州大・バイオメディカル研)

**【目的】** スルフォラファンは種々の抗酸化機構を制御する転写因子 Nrf2 の誘導剤として知られるが、揮発性の不安定な成分であるため加工時での損失が避けられない。この欠点を解決すべく、スルフォラファンの前駆体グルコラファニンを高含有した品種改良ケール（以下、GEK）が開発された。本研究室ではこれまでに、GEK 長期摂取により、老化促進モデルマウス SAMP1 の外観老化度、特に、皮膚の老化度が顕著に抑制されることを報告した。さらに、GEK 摂取群では皮膚の菲薄化が抑制され、皮膚中のコラーゲン量がコントロール群と比べて増加することを見出した。そこで本研究では、詳細な作用機構の解明を目的として、GEK 摂取群マウスの皮膚・肝臓組織を用いて抗老化関連因子の発現解析を行った。

**【方法】** AIN-93M を基本食とし、コントロール群と GEK 摂取群（1% (w/w) GEK 搾汁粉末添加食）に分け、SAMP1 マウス（5 週齢、雄性）に 39 週間自由摂取させた。摂取期間終了後、マウスから背部皮膚と肝臓を採取し、リアルタイム PCR 法を用いて遺伝子発現解析を行った。タンパク質発現量はウエスタンブロッティング法により測定した。さらに、皮膚切片を作成し免疫染色法により Nrf2 核移行の解析を行った。GEK のメタノール抽出物を固相中抽出カラム InertSep C-18 に供し、ポリフェノール濃縮画分を調製した。ヒト皮膚由来線維芽細胞 NB1RGB に試料を添加して 24 時間培養後、コラーゲン合成関連酵素の遺伝子発現量をリアルタイム PCR 法により測定した。

**【結果・考察】** 皮膚・肝臓の遺伝子およびタンパク質発現を解析したところ、GEK 摂取群において抗酸化酵素である HO-1 の発現量が増加することが示された。また、皮膚切片中の Nrf2 を免疫染色にて解析したところ、GEK 摂取群において Nrf2 の核移行が観察された。さらに、TGF- $\beta$  II 型受容体 (T $\beta$ R II) と転写因子 Smad3 のタンパク質発現量は、GEK 摂取群においてコントロール群と比べて顕著に増加した。線維芽細胞を用いた試験では、GEK 由来ポリフェノール濃縮画分において、コラーゲン合成酵素 COL1A1 の遺伝子発現量が増加することが示された。以上の結果より、SAMP1 マウスにおける GEK 長期摂取の皮膚老化抑制作用は、Nrf2 活性化を介した酸化ストレス軽減効果と T $\beta$ R II/Smad3 経路を介したコラーゲン合成促進に起因することが示された。



## 演題⑦\*

### 無菌 ODS ラットにおけるアスコルビン酸欠乏による炎症様変化の解析

○川出野絵, 村井篤嗣, 鈴木若奈, 竹内健三郎, 小林美里, 堀尾文彦  
(名大院・生命農)

**【目的】** アスコルビン酸 (AsA) 生合成不能の ODS ラットでは, AsA 欠乏により腸管で炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , IL-6) と CD68 (マクロファージマーカー) の発現が上昇する。また, AsA 欠乏により肝臓では, 急性期タンパク質 (C 反応性タンパク質 (CRP),  $\alpha$ 2 マクログロブリン (A2m), 他) や酸化ストレス関連遺伝子 (ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1), NADPH キノンオキシドレダクターゼ 1 (NQO1)) の発現が上昇する。本研究では, AsA 欠乏時に起こるこれらの炎症様変化に対する腸内細菌の関与を検討することを目的として, 無菌の ODS ラットを用いて解析を行った。

**【方法】** 無菌の ODS ラット (6 週齢, 雄) に基本飼料 (AsA 600mg/kg) を与える対照 (GF-C) 群と AsA 無添加飼料を与える欠乏 (GF-D) 群とを設けて 18 日間飼育した。また, SPF 環境下で通常 ODS ラットを用いて対照 (SPF-C) 群と欠乏 (SPF-D) 群とを設けて対照実験を行った。空腸, 回腸, 盲腸, 結腸の 5 部位の粘膜と肝臓を採取し, 炎症関連因子の遺伝子発現量を測定した。

**【結果】** 腸管について, SPF 群と比較して GF 群では IL-1 $\beta$ , IL-6, CD68 の mRNA レベルは低値を示した。空腸では IL-1 $\beta$ , IL-6, CD68 の mRNA レベルが SPF-C 群に対して SPF-D 群で, GF-C 群に対して GF-D 群で上昇していた。また, GF-D 群では盲腸の IL-6, 結腸の IL-1 $\beta$  と IL-6 の mRNA レベルが GF-C 群に比べて上昇していた。肝臓については, SPF-C 群に対して SPF-D 群で, GF-C 群に対して GF-D 群で急性期タンパク質 (CRP, A2m, 他) や酸化ストレス関連遺伝子 (HO-1, NQO1) の mRNA レベルが上昇していた。

**【結論】** 無菌の ODS ラットにおいても AsA 欠乏により腸管や肝臓で炎症関連因子の発現が上昇したことから, 無菌条件下でも AsA 欠乏により炎症様変化が起こることが示された。また, 腸管では盲腸や結腸において GF 群でのみ AsA 欠乏により IL-6 発現が上昇したことから, 腸内細菌の存在の有無が AsA 欠乏時の腸管でのサイトカイン発現に影響を及ぼしていることが推測された。

## 演題⑧\*

### 不活動化による骨格筋中の筋代謝関連遺伝子の発現変動 とサイトカイン発現との関連性

○石山詩織, 本間一江, 合田敏尚  
(静岡県大院・薬食生命科学)

#### 【目的】

不活動状態は、身体のおよそ40%を占めている骨格筋を萎縮させ、身体機能障害、さらにはQOLの低下につながる。骨格筋は、他臓器と同様にサイトカインを分泌する器官として認識されているが、不活動状態でのサイトカイン発現がどのようなものであるかについての報告は少ない。また、骨格筋の栄養シグナルとして分岐鎖アミノ酸が重要とされており、豊富に含む乳清タンパク質に注目が集まっている。本研究では、不活動化での乳清タンパク質摂取状態での筋代謝関連遺伝子の発現変動と骨格筋サイトカイン発現との関連性を検討した。

#### 【方法】

7週齢のWistar系雄ラットを2群に分け、右下肢ギプス固定を施して固定群とした。固定群と対照群をさらに2つのグループに分け、ギプス期間中にタンパク質エネルギー比13%の乳清タンパク質食または大豆タンパク質食を7日間与えた。ヒラメ筋および長指伸筋を右下肢から採取し、筋分解関連遺伝子、筋合成・分化関連遺伝子、炎症関連遺伝子およびマイオカインのmRNA発現量をリアルタイムRT-PCR法で測定した。

#### 【結果および考察】

7日間の固定化により、固定群では対照群よりも体重、腓腹筋およびヒラメ筋の重量が大幅に減少したが、長趾伸筋の重量には変化は見られなかった。乳清タンパク質食を与えられたラットのヒラメ筋において、筋分解関連遺伝子 *Atrogin-1* と *Murf1* および筋合成・分化関連遺伝子 *Myod1* と *Myog* のmRNA発現量は、対照群より固定群で有意な高値あるいは高値傾向を示した。また、乳清タンパク質食を与えられたラットのヒラメ筋における *Il15* および *Il18* のmRNA発現量は、対照群よりもそれぞれ5.8倍および12.9倍と有意に増大した。しかし、大豆タンパク質食を与えられたラットのヒラメ筋においては、有意な増大は見られなかった。以上の結果より、筋代謝関連遺伝子の発現変動と骨格筋サイトカインの発現変動が同じ傾向にあることから、不活動化での乳清タンパク質摂取状態での筋代謝関連遺伝子の発現変動と骨格筋サイトカイン発現との関連性の可能性が示唆された。さらに、乳清タンパク質は筋分解および筋合成・分化の両経路を大きく動かすことから、萎縮した骨格筋の適応変化における代謝変換に有効な食事性タンパク質である可能性が示唆された。

運動が動脈硬化性疾患を抑制する新規メカニズム  
～BAIBA の関与～

○片山桂吾<sup>1</sup>, 榛葉有希<sup>1</sup>, 妹尾奈波<sup>1</sup>, 池田雅彦<sup>2</sup>, 守田昭仁<sup>1</sup>, 三浦進司  
(<sup>1</sup>静岡県大, <sup>2</sup>常葉大)

**【背景】**持久運動トレーニングは動脈硬化性疾患の発症リスクを低下させる。しかし、そのメカニズムについては完全には明らかになっていない。一方、持久運動トレーニングによる骨格筋での転写共役因子 PGC-1 $\alpha$  の発現増加は、骨格筋からの生理活性物質マイオカインの分泌を促進する。また、そのマイオカインの1つである BAIBA ( $\beta$ -aminobutyric acid) は他臓器機能に影響を与えることが報告されている。そのため、持久運動トレーニングは骨格筋からのマイオカインの分泌を介して動脈硬化進展の抑制に寄与している可能性がある。

**【目的】**骨格筋特異的な PGC-1 $\alpha$  過剰発現及び BAIBA 投与による動脈硬化進展に与える影響を明らかにする。

**【方法】**動脈硬化易発症モデルマウス「ApoE KO」の骨格筋に PGC-1 $\alpha$  過剰発現させた「ApoE KO/PGC-1 $\alpha$  マウス」を作製した。18~22 週齢のマウスを用いて、大動脈起始部の動脈硬化巣面積、血中脂質プロファイル、大動脈における動脈硬化進展に関わる遺伝子の発現量、たんぱく質発現量測定を行った。また、TNF- $\alpha$  で炎症誘導させたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) にマイオカインである Irisin, BAIBA を添加し、動脈硬化進展に関わる遺伝子の発現量、たんぱく質発現量測定を行った。

ApoE KO に 5~20 週齢の間 BAIBA 投与を行った。その後、大動脈起始部の動脈硬化巣面積、血中脂質プロファイル、大動脈における動脈硬化進展に関わる遺伝子の発現量測定を行った。

**【結果】**「ApoE KO」と比較して「ApoE KO/PGC-1 $\alpha$  マウス」では、血中脂質プロファイルに大きな変化はなかった。しかし、動脈硬化巣面積、動脈硬化進展に関与する VCAM-1, MCP-1 の遺伝子発現量、たんぱく質発現量が減少した。また、TNF- $\alpha$  で炎症誘導させた HUVEC に Irisin, BAIBA を添加することにより VCAM-1, MCP-1 の遺伝子発現量が減少し、VCAM-1 のタンパク質発現量が低下した。

また、ApoE-KO への BAIBA の投与は、血中脂質プロファイルに大きな変化はなかったが、動脈硬化巣面積が減少し、VCAM-1, MCP-1 のタンパク質発現量が減少した。

**【結論】**骨格筋特異的な PGC-1 $\alpha$  過剰発現は骨格筋からのマイオカイン分泌を介して動脈硬化進展を抑制する可能性が示唆された。

## 演題⑩

### 食品由来因子と運動の併用による褐色脂肪細胞化の誘導と機序解明

○小島拓也, 加藤大樹, 西川翔, 津田孝範  
(中部大・応用生物)

**【目的】**褐色脂肪細胞は、熱産生を行いエネルギー消費を促進する。これまでの研究から寒冷刺激などで白色脂肪組織中に「誘導型」褐色脂肪細胞が分化誘導され、体脂肪が減少することが明らかになっている。一方、運動には様々な恩恵があることが知られているが、運動により白色脂肪組織で褐色脂肪細胞化が誘導されることが報告されている。本研究では、食品由来因子と運動との併用による「褐色脂肪細胞化」誘導増幅の可能性を検証することを目的とした。

**【方法】**実験動物として C57BL/6J マウスを用い、トレッドミルによる適切な運動条件を検討・確立した。さらに種々の食品由来因子についての予備検討から、候補食品由来因子を選定した。この食品由来因子の投与と運動負荷を併用し、一定期間の後、白色脂肪組織等の各種組織を得た。得られた組織については、褐色脂肪細胞化に伴う形態変化を H&E 染色と褐色脂肪細胞マーカーとして抗 UCP1 抗体を用いた免疫組織染色で観察した。さらに UCP1 タンパク質の発現量を評価した。

**【結果】**運動負荷を行わず候補食品由来因子のみを投与した場合は、白色脂肪組織の形態変化は観察されず、いずれの脂肪組織においても UCP1 タンパク質発現の有意な誘導は認められなかった。一方、候補食品由来因子と運動負荷を併用すると、皮下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。なお精巣上体白色脂肪組織では併用による褐色脂肪細胞化誘導は認められず、さらに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。以上の結果から、候補食品由来因子は運動負荷との併用で褐色脂肪細胞化の誘導を増幅させることが明らかになった。現在さらに解析を進めるとともに、作用機構の解明を試みている。

## 演題⑪\*

### ジペプチド FP (Phe-Pro) は肥満と高コレステロール血症 を改善する新規ペプチドである

○坂野新太, 森峻輔, 岡田健司, 王吉力持, 山本雄太, 二本松太郎, 長岡利  
(岐阜大・応用生物科学)

**【目的】**世界の死因の第一位を占める心疾患, 脳血管疾患は動脈硬化が主な要因となって発症する。予防として血中 LDL レベルの低減化が重要である。我々はペプチド混合物である牛心臓タンパク質加水分解物 (HPHU) がコレステロール (CHOL) 代謝を改善することを報告した [1]。そこで, HPHU から CHOL 吸収やミセル溶解性を低下させる画分 (IB2) を単離精製し, 活性ペプチドの同定を試みた。最終的に新規 CHOL 代謝改善ジペプチド FP を 400 種のジペプチドから最初に発見した。また, FP の作用を解明するために, ヒト小腸モデルである Caco-2 細胞実験やラットによる動物実験で解析した。さらに, FP の抗肥満作用について, 高脂肪高 CHOL 食をマウスに摂取させて解析した。

**【方法】**(1) CHOL ミセル溶解性を低下させる IB2 画分中のペプチドを MALDI-TOF/MS で同定した。(2) Caco-2 細胞で CHOL 吸収系に対する FP の影響を解析した。(3) Wistar 系雄ラット (4 週齢) に 20%カゼインを含む高脂肪高 CHOL 食を摂取させ, FP を 14 日間経口投与し, 脂質代謝への影響を評価した。(4) C57BL/6J 雄マウス(6 週齢)に 20%カゼインを含む高脂肪高 CHOL 食を摂取させ, FP を 70 日間経口投与し, 肥満を含む脂質代謝への影響を評価した。

**【結果】** (1) IB2 画分から新規 CHOL 代謝改善ペプチド FP を同定した。(2) Caco-2 細胞において FP により CHOL 吸収が有意に減少した。FP は ABCA1, NPC1L1, ApoB, LXR  $\beta$  mRNA レベルの有意な減少作用を誘導した。(3) ラットの血清総 CHOL および非 HDL-CHOL が有意に減少し, 空腸 ABCA1mRNA レベルが有意に減少した。(4) マウスの血清 CHOL および総脂肪重量が有意に低下した。本研究から, 従来発見されていなかった動物実験で有効な抗肥満作用およびコレステロール代謝改善作用の両方に有効なジペプチドとして, FP を世界で最初に発見した [2]。

[1] *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73, 607-612 (2009)

[2] 脂質代謝改善剤, 特願 2018-037464