

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：32604

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20500720

研究課題名（和文）肥満に伴う脂肪細胞の初期炎症状態を調べる動物実験系の確立と食餌予防因子の探索

研究課題名（英文）Estimation of animal experiment models to evaluate the early inflammation stage in adipocytes following obesity and investigation of anti-inflammatory factors in foods

研究代表者

青江 誠一郎（AOE SEIICHIRO）

大妻女子大学・家政学部・教授

研究者番号：90365049

研究成果の概要（和文）：C57BL/6J マウス、KK/Ta マウス、B6 系 db/+マウス（レプチン受容体欠損ヘテロマウス）に、高脂肪食と低脂肪食を様々な期間給餌し、脂肪組織中の炎症マーカーの mRNA の発現量を調べた。その結果、4 週目より高脂肪食群の脂肪組織重量と炎症マーカーの mRNA 発現量が急増した。短期摂食では、炎症マーカーとして NADPH オキシダーゼサブユニット、MCP-1、IL-6、レジスチンが適しており、さらに 8 から 12 週目で耐糖能悪化や脂肪細胞の肥大化が観察された。本実験系を食品の機能解析に適用した結果、大麦ならびに乳中のカルシウムに抗炎症作用があることが示された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the influences of high fat or low fat diet and feeding periods on the mRNA expressions of adipocyte inflammatory parameters in C57BL/6J, KK/Ta, B6db/+ (leptin receptor deficient hetero type) mice. Our results indicated that significant increase in abdominal fat mass and mRNA expressions of inflammatory parameters were observed after 4 weeks feeding of the high fat diet. On the short term feeding, detectable inflammatory parameters were NADPH oxidase subunits, MCP-1, IL-6, resistin. Impaired glucose tolerance and adipocyte enlargement were observed on the 8 or 12 weeks feeding. Using these parameters, anti-inflammatory effects of barley and dairy calcium were observed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1100000	330000	1430000
2009 年度	700000	210000	910000
2010 年度	700000	210000	910000
2011 年度	700000	210000	910000
年度			
総計	3200000	960000	4160000

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：栄養学、肥満、脂肪細胞、炎症、動物実験

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 現代のライフスタイルの問題点として過食ならびに運動不足からおこるエネルギー過剰が挙げられる。そこから脂肪細胞への

中性脂肪の蓄積が起こり、肥満症へと進展し、その肥満症が種々の病気を発症させるという概念は広く知られるようになった。肥満は特に糖尿病や動脈硬化発症の前駆状態と位

置づけられており、いわゆるメタボリックシンドロームとの関連が深い病態である。また、肥満は一種の慢性炎症状態であるとの考え方もあり、肥大化した脂肪細胞および脂肪細胞に浸潤するマクロファージによって産生された TNF- $\alpha$ 、IL-6 などの炎症性サイトカインなどがストレスシグナルの活性化を介してインスリンの作用を抑制することが明らかとなっている。このような炎症の過程において産生されるサイトカインは炎症性サイトカインと呼ばれる。したがって、糖尿病をはじめとしたメタボリックシンドロームの治療には炎症性シグナルの抑制がターゲットとなる。本研究のための実験モデル動物は種々開発されており、各種サイトカインのノックアウトマウスを用いた研究が盛んに行われている。しかしながら、これらモデル動物は病態発症のメカニズムや特定のサイトカインの役割を調べる上では有効であるが、いわゆる病態発症前の前駆状態を評価する上では適していない。

(2) メタボリックシンドロームの予防という観点から考えると、内臓脂肪型肥満の初期段階において適切な食事の指導により、後に発症すると考えられる脂肪細胞の機能破綻と炎症性サイトカインの異常分泌が起こる前に対処することができる。このような予備軍の状態を初期炎症状態ととらえることができる。しかしながら、前述のノックアウト動物やトランスジェニック動物では急速に病態を発症するので食餌による予防効果を評価するには最適なモデルとは言えない。平成 17 年度～19 年度までの科学研究費補助金（基盤研究 (C)）において食餌応答性の高い肥満モデル動物を探索し、高脂肪食による肥満には糖尿病のバックグランドを消去した B6 系のレプチン受容体ヘテロノックアウトマウス(B6 系 db/+マウス)が適することを見出した。また、過食による肥満と軽度のインスリン抵抗性を起こす KK マウスも食餌成分の評価には適しており、その特性を評価してきた。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では、これまで基礎的知見を蓄積したモデル動物を用いて、軽度肥満における初期炎症状態を評価できるバイオマーカーと測定タイミングを探索することを前半の目的とする。具体的には、炎症性マーカーとして脂肪細胞由来の TNF- $\alpha$ 、IL-6、アディポネクチン、肝臓由来の C 反応性タンパク質などを検索する。初期炎症段階では分泌量に差がないことも想定されるのでこれらサイトカインの mRNA 発現量やマクロファージを誘導する MCP-1 などの mRNA 発現量も検討する。

(2) 第一段階として、摂取期間、サンプリン

グのタイミングなどを検討し、動物実験によるメタボリックシンドロームの予防効果を評価できる実験系を構築する。

(3) 第二段階として初期炎症状態をモニターできる変動マーカーを探索する。

(4) 第三段階として本評価系を用いて疫学調査の上では有効とされる穀類、乳製品やエビデンスの乏しい健康食品素材などを用い、どのステージにおいて有効なのかについて、食品素材の作用を高感度に検出していくことが研究期間内の到達目標である。

## 3. 研究の方法

(1) 2 系統のマウスを用いて中期ならびに長期飼育を行い種々のマーカーについて検索した。使用した動物は、DIO(Diet Induced Obesity)マウスとして知られる高脂肪食を投与した C57BL/6J マウスと精製飼料摂取により体脂肪蓄積が促進し、高血糖を発症する KK/Ta マウスを使用した。AIN93G 組成を基本とし、脂肪エネルギー比が 50%となるようにラードを 20%配合した高脂肪食を用いた。4 週齢の C57BL/6J マウスを 1 週間通常飼料 (NMF; オリエンタル酵母工業製) で飼育後、10 週間(n=8)および 24 週間(n=8)飼育した。KK/Ta マウスは、同様に予備飼育後、10 週間と 17 週間飼育した。KK/Ta マウスも当初 24 週間飼育の予定であったが、糖尿病の進行に伴い衰弱したため 17 週齢で打ち切った。4 時間絶食後に、エーテル麻酔下で採血し、腹腔内脂肪組織を摘出し、重量を測定した。血清マーカーは、血清脂質およびグルコース濃度を酵素法で、インスリン、レプチン、アディポネクチン、C 反応性たんぱく質、TNF- $\alpha$  濃度は ELISA 法で測定した。

(2) 当研究室で維持飼育している B6 系 db/+ マウス (レプチン受容体欠損ヘテロマウス) とそのワイルドタイプマウスに、高脂肪食と低脂肪食を 11 週間給餌し、肥満に伴い血液ならびに腹腔内脂肪組織の炎症性マーカーがどのように変動するか検討した。次に、KK/Ta マウスを用い、低脂肪食で 8 週間飼育した場合と高脂肪食で 15 週間飼育した場合の血液ならびに腹腔内脂肪組織の炎症性マーカーの変動を比較した。低脂肪食として脂肪エネルギー比が 10kcal%の D12450B(リサーチダイエット社製)を、高脂肪食として脂肪エネルギー比が 60kcal%の D12492(リサーチダイエット社製)をそれぞれ用いた。4 時間絶食後に、エーテル麻酔下で採血し、腹腔内脂肪組織を摘出し、重量を測定した。精巣上体周辺脂肪は、病理組織切片を作成し、マクロファージのマーカーである F4/80 抗体を用いて免疫染色を行った。次に、精巣上体周辺脂肪より RNA を抽出後、RT-PCR 法により cDNA を作成し、リアルタイム PCR 法により炎症マーカーの mRNA 発現量を、36B4 をレファレン

スとして相対定量した。炎症マーカーとしてマクロファージのマーカーF4/80、MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)、TNF- $\alpha$  のプライマーを用いて測定した。

(3) C57BL/6J マウスに高脂肪食 (D12492、リサーチダイエツト社製) または高炭水化物食 (D12450B、リサーチダイエツト社製) を投与し、1 週、2 週、4 週目に経時的に解剖し、腹腔内脂肪組織 (精巣上体周辺脂肪、後腹壁脂肪、腸間膜脂肪組織) の蓄積動態を調べると共に、脂肪組織中の炎症促進マーカーの mRNA の発現量をリアルタイム PCR により分析した。炎症マーカーは、F4/80、MCP-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、レジスチンのプライマーを用いて同様に測定した。さらに、炎症に関わる活性酸素種 (ROS) の産生は、肥満マウスの脂肪組織で選択的に増加し、これには NADPH オキシダーゼ (NOx) の発現増加を伴うことから、NOx のサブユニット p40phox、p47phox、p67phox の mRNA 発現量の解析を行った。

(4) 確立した実験系を用いて食餌予防因子の探索実験を 3 回実施した。

実験 1: 実験動物は 5 週齢の雄性 KK/Ta マウスを用い、1 群 8 匹の 2 群に群分けした。対照 (CO) 群の飼料は AIN-93G 組成を基本とし、脂肪エネルギー比が 50% となるようラードをコーンスターチと置換した。大麦群の飼料は高  $\beta$ -グルカン大麦 ( $\beta$ -グルカン含量 10.1%、ビューファイバー;BF) を総食物繊維量として 5% となるように添加し、各群のたんぱく質、脂質量が等しくなるようにカゼイン、大豆油でそれぞれ調整した。マウスには実験飼料と水を 4 週間自由摂取させ、体重と飼料摂取量を測定した。解剖時には、4 時間の絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、心臓より採血した。腹腔内脂肪組織を摘出し、重量を測定した。その後、肝臓は脂質分析に、副睾丸周辺脂肪は mRNA 発現量の解析に用いた。また、腹腔内脂肪組織は、2% 酸化オスミウムで固定し、脂肪細胞のサイズの分布をコールターカウンター (マルチサイザー 3) を用いて解析した。採取した血液は、血清を分離し、トリグリセリド、遊離脂肪酸、総コレステロールを酵素法で、インスリン、レプチン、アディポネクチン濃度を ELISA 法にて分析した。耐糖能試験 (OGTT) は、飼育最終週に朝 9 時より絶食し、6 時間の絶食後、20% グルコース溶液を 1g/kg 体重となるようにマウスに経口投与した。投与前 (0 分) に尾部より採血し、投与後 15 分、30 分、45 分、60 分、120 分後に同様に採血し、血糖値を電極法により測定した。時間と血糖値の曲線から AUC (曲線下面積) を算出した。肝臓は Folch 法により抽出、水洗後、トリグリセリド、コレステロール量を酵素法にて分析した。副睾丸周辺脂肪組織の炎症マーカーの mRNA の発現量をリアルタイム PCR 法により測定した。

実験 2: 牛乳より調製したミセル性リン酸カルシウム複合体を KK マウスに摂取させ、内臓脂肪型肥満、耐糖能および炎症マーカーにどのような影響を及ぼすかを検討した。5 週齢雄の KK/Ta マウスを用い、1 群 8 匹の 2 群に群分けした。AIN93G 組成を基本とした脂肪エネルギー比 50% の高脂肪食に炭酸カルシウムまたはミセル性リン酸カルシウム複合体 (MCP-PP) を Ca 源として 0.5% 添加した飼料を摂取させた。各飼料は、50 日間自由摂取させた。実験 48 日目に耐糖能試験を行った。解剖は 4 時間絶食後、エーテル麻酔下で採血し、臓器を摘出後、重量を測定した。血清生化学値は酵素法により、血清ホルモン濃度は ELISA 法により測定した。肝臓脂質は Folch 法により抽出後、同様に酵素法で分析した。脂肪組織は、コールターカウンターにて脂肪細胞の大きさの測定を行った。

実験 3: 7 週齢の C57BL/6J 系雌マウスを用い、卵巣摘出術を施した後、1 週間の回復期間を設け 1 群 8 匹の 5 群に群分けした。また、疑似手術を施したマウス 8 匹を SHAM 群とした。飼料組成は AIN93G 組成を基本とし、脂肪エネルギー比が 30% となるようラードを添加した。SHAM 群と対照群は同じ飼料を、おから、大麦、赤ワイン粉末群は総食物繊維量が 5%、ビフィズス菌発酵乳粉末群はカルシウム量が 0.4% となるよう配合した試験飼料を、それぞれ 57 日間自由摂取させた。試験最終週に 6 時間絶食後に GTT 試験を行い、血糖値を電極法で測定した。解剖時は、エーテル麻酔下で採血後、肝臓、腹腔内脂肪を摘出し、重量を測定した。血清脂質の分析は酵素法、肝臓脂質及び糞中脂質の分析は Folch 法、脂肪細胞の解析は酸化オスミウムで固定し、コールターカウンターで分析した。卵巣周辺脂肪組織の炎症と抗酸化マーカーの mRNA 遺伝子発現量をリアルタイム PCR 法で測定した。

#### 4. 研究成果

(1) DIO マウスは 10 週間飼育と 24 週間飼育の比較をした結果、後腹壁脂肪、腸間膜脂肪の重量が 1.5 倍以上重くなり、腹腔内脂肪の蓄積が観察された。一方、KK/Ta マウスは 10 週間飼育で体重のピークを迎え、17 週間飼育時には糖尿病により衰弱し、全ての臓器が萎縮した。脂肪細胞サイズは、DIO マウスは 10 週間飼育と 24 週間飼育の比較でわずかに肥大化するのみで、脂肪細胞数の増加を示唆する結果であった。KK/Ta マウスは細胞サイズが 1/2 程度に萎縮していた。血清生化学値は、DIO マウスが 10 週間飼育と 24 週間飼育の比較をした結果、血清グルコースならびにインスリン濃度の増加、肥満に伴うレプチン濃度の増加とアディポネクチン濃度の低下が観察された。KK/Ta マウスでは、10 週間飼育で血清グルコースとインスリン濃度が

非常に高値を示し、糖尿病を発症していることが示唆された。17 週間飼育時にはすでに衰弱のため血清生化学値は全て低下していた。血清の炎症マーカーである C-反応性タンパク質は、D I O マウスで加齢に伴い増加したのに対し、KK/Ta マウスでは変化がなかった。TNF- $\alpha$  は両系統マウスともに検出限界以下であった。

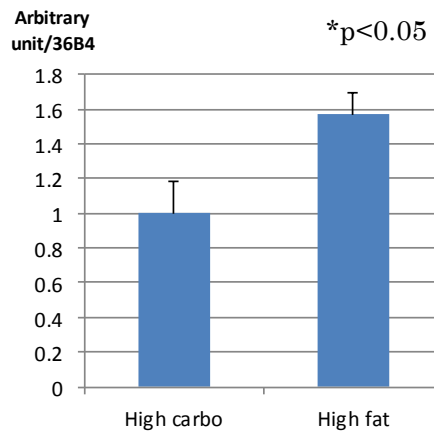
以上の結果、DIO マウスでは、加齢に伴い、腹腔内脂肪の蓄積と脂肪細胞の機能異常がアディポサイトカインの分泌量から示唆された。また肥満に関連する酸化ストレスマーカーである C-反応性タンパク質も増加することが確認された。一方、KK/Ta マウスは 10 週間飼育ですでに糖尿病を発症したが、血清炎症性マーカーの変動は脂肪細胞などには認められなかった。

(2) 脂肪組織の蓄積は、B6 系 db/+ マウスおよびワイルドマウスいずれも、高脂肪食により有意に蓄積量が多かった。ただし、内臓脂肪である腸間膜脂肪において、高脂肪食ではワイルドマウスが、低脂肪食ではヘテロマウスが有意に高かった(下表)。KK/Ta マウスにおいては、高脂肪食の影響を受けにくく、B6 系ワイルドマウスの高脂肪食と低脂肪食の中間の量であった。B6 系 db/+ マウスの傾向は糖尿病を発症する KK/Ta に似た挙動を示すことが推定された。血液マーカーとして CRP、TNF- $\alpha$ 、TBARS を測定した結果、高脂肪食間で有意な差は検出されなかった(右表)。全身の分泌量を反映する血液マーカーでは初期の炎症は検出しにくいことが認められた。そこで、局所的な影響を見るため、肥満に伴い脂肪組織に集積するマクロファージに着目し、F4/80 で免疫染色を行った。その結果、低脂肪食ではほとんどマクロファージ免疫染色像が観察されなかったが、高脂肪食では顕著なマクロファージの浸潤が観察された。そこで、マクロファージに関連する mRNA 発現量をリアルタイム PCR にて測定した。その結果、高脂肪食は低脂肪食に比べて、F4/80 の発現が 5 倍、MCP-1 の発現が 3.5 倍上昇した。TNF- $\alpha$  の mRNA 発現量も高脂肪食で増加したが、F4/80、MCP-1 ほどではなかった(右図と表)。

以上の結果、高脂肪食を負荷する実験モデルにおいては C57BL/6J マウスが適すると推定した。また、初期炎症のマーカーはマクロ

ファージの浸潤度とマクロファージが分泌する炎症促進マーカーが有力であると推定した。

### TNF- $\alpha$ mRNA 発現量(db/+マウス)



各種マウスの炎症マーカー比較

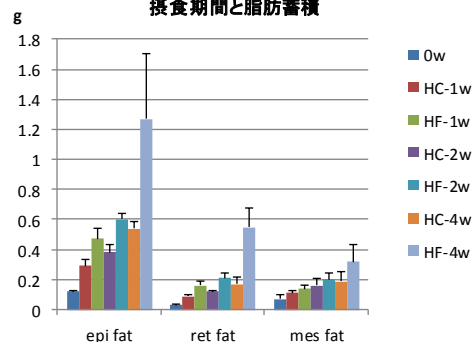
	CRP ( $\mu$ g/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	F4/80mRNA*
High Carbo(db/+)	7.58 $\pm$ 2.20 ab	35.5 $\pm$ 7.7	1.00 $\pm$ 0.64 d
HC(KK)	4.61 $\pm$ 2.25 b	13.9 $\pm$ 8.6	9.00 $\pm$ 5.19 ab
HC(C57BL/6J)	7.50 $\pm$ 3.42 ab	17.4 $\pm$ 8.1	0.71 $\pm$ 0.19 d
High Fat(db/+)	7.97 $\pm$ 2.56 ab	14.2 $\pm$ 7.7	4.09 $\pm$ 2.65 cd
HF(KK)	6.10 $\pm$ 1.59 ab	16.0 $\pm$ 9.2	13.70 $\pm$ 2.64 a
HF(C57BL/6J)	8.79 $\pm$ 1.43 a	32.6 $\pm$ 8.1	6.10 $\pm$ 4.05 bc

平均値  $\pm$  標準偏差  
異なるアルファベットの付く群間で有意差あり(p<0.05)  
\*36B4をレファレンスとした相対比

(3) 精巣上体周辺脂肪および後腹壁脂肪重量は給餌開始 1 週目より高脂肪食群が高炭水化物食群に比べて有意に重量が重かった。また、その差は 4 週目で顕著な差となった。一方、腸間膜脂肪組織重量にはそのような傾向は観察されなかった(下図)。

次に炎症マーカーを測定した結果、4 週目に高脂肪食群の MCP-1 の mRNA 発現量が急増した。一方、高炭水化物群にはそのような増加は認められなかった。しかし、F4/80 の mRNA 発現量は 4 週目では増加せず、マクロファージの集積はまだ顕著ではないと推定した。一方、IL-6 は高脂肪食群で増加傾向にあり、4 週間の高脂肪食摂取は炎症状態の開始時期であると推定した。なお、前回と同様に TNF- $\alpha$  の発現は 4 週目では顕著ではなかった。NADPHオキシダーゼサブユニットの mRNA 発現量の結果より、4 週目でサブユニットの発現量が急激に増えることが認められ、この時期が初期炎症の開始時期であることが証明できた(次ページ表)。

### 高炭水化物食(HC)、高脂肪食(HF)の 摂食期間と脂肪蓄積



各種マウスの腹腔内脂肪比較

	腸間膜脂肪(g)	精巣上体周辺脂肪(g)
High Carbo(db/+)	0.49 $\pm$ 0.12 c	1.25 $\pm$ 0.37 b
HC(KK)	0.83 $\pm$ 0.14 bc	1.37 $\pm$ 0.13 b
HC(C57BL/6J)	0.46 $\pm$ 0.23 c	1.18 $\pm$ 0.50 b
High Fat(db/+)	1.22 $\pm$ 0.41 b	2.38 $\pm$ 0.23 a
HF(KK)	0.95 $\pm$ 0.12 b	1.45 $\pm$ 0.14 b
HF(C57BL/6J)	1.83 $\pm$ 0.41 a	2.51 $\pm$ 0.37 a

平均値  $\pm$  標準偏差  
異なるアルファベットの付く群間で有意差あり(p<0.05)

精巣上体脂肪組織の炎症マーカーのmRNA発現量

	OW	High Carbo-4W	High fat-4W
p40phox	1.00 ± 0.36	0.86 ± 0.51	1.47 ± 0.96
p47phox	1.00 ± 0.37	0.56 ± 1.47	1.47 ± 0.70 *
p67phox	1.00 ± 0.46	1.14 ± 0.37	1.69 ± 0.36 *
MCP-1	1.00 ± 0.97	0.66 ± 0.34	3.06 ± 1.97 *
F4/80	1.00 ± 0.33	1.04 ± 0.46	1.03 ± 0.80
TNF-α	1.00 ± 0.88	0.78 ± 0.34	0.76 ± 0.38
IL-6	1.00 ± 0.70	0.45 ± 0.62	1.32 ± 1.83
Resistin	1.00 ± 0.43	0.82 ± 0.16	0.42 ± 0.12 *

36B4をレファレンスとした相対比

平均値±標準偏差

\*High Carbo群と比べて有意差あり(p<0.05)

次に、高コレステロール血症を起こす C57BL/6J 系統のアポE欠損マウスならびに 70mg/kg 体重のストレプトゾトシンを微量投与して高脂肪食を与えた新規なII型糖尿病モデルマウスを用いて8~10週間の飼育を行い、同様の評価を行ったが、C57BL/6J マウスほどの炎症が惹起されなかった(下表)。病態が進み過ぎない時期に評価すべきである可能性が示唆された。

各種マウスの炎症マーカー比較

	MCP-1	IL-6
C57BL/6J (4週齢-OW)	1.00 ± 0.20 b	1.00 ± 0.57 ab
C57BL/6J (HC-4w飼育)	0.63 ± 0.12 b	0.62 ± 0.76 ab
C57BL/6J (HF-4w飼育)	<b>2.93 ± 1.30 a</b>	<b>1.90 ± 2.62 a</b>
STZ処理マウス	1.47 ± 0.79 ab	0.18 ± 0.10 b
ApoE欠損マウス	1.80 ± 0.44 ab	0.39 ± 0.25 ab

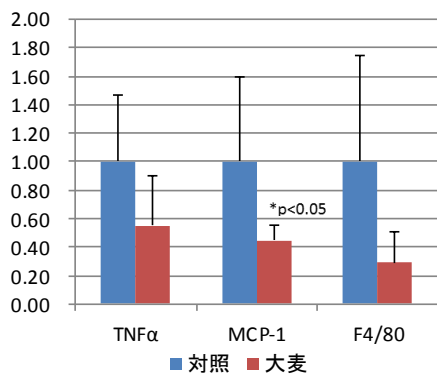
平均値±標準偏差

異なるアルファベットの付く群間で有意差あり(p<0.05)

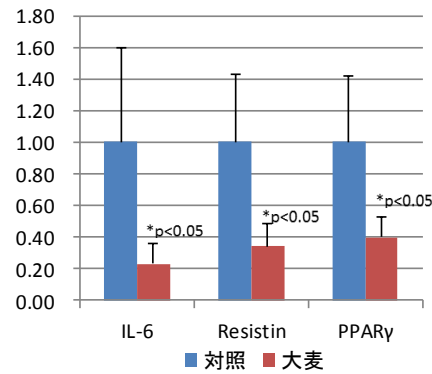
\*36B4をレファレンスとした相対比

(4) 初期炎症状態を評価する動物モデルは C57BL/6J マウスを高脂肪食で飼育する条件が適し、表現型(耐糖能、脂肪細胞肥大化など)まで検出する場合は長期摂取させるか、KK/Ta マウスが適すると結論した。実験1: 腹腔内脂肪総重量は、BF 群が CO 群に比べて有意に少なかった。脂肪細胞のサイズの分析結果から成熟した脂肪細胞の最頻粒径は各群間で差はなく、肥大化が観察されなかった。血清レプチン濃度および遊離脂肪酸濃度は、BF 群が CO 群に比べて有意に低かった。血清インスリン濃度および OGTT の結果より、各群間に有意差は認められず、高インスリン血症、耐糖能異常は認められなかった。肝臓脂質蓄積量も各群間に有意差は認め

大麦摂取と炎症マーカー-1



大麦摂取と炎症マーカー-2



られなかった。副睾丸周辺脂肪の炎症マーカーの mRNA 発現量の結果より、マクロファージのマーカーである F4/80, MCP-1, IL-6, レジスチンは、BF 群が CO 群に比べて有意に低値を示した(左図および上図)。

以上の結果、KK マウスにおいて、インスリン抵抗性による耐糖能異常ならびに脂肪細胞の機能破綻を起こす前の段階において、β-グルカンを高含有する大麦の摂取は、脂肪組織の炎症を抑制することが示された。これらの作用が長期摂取におけるインスリン抵抗性の発症を遅延または軽減するものと推定した。

実験2: MCP-PP 群で、肝臓湿重量、肝臓コレステロール及びトリグリセリド蓄積量は、有意に低かった。さらに、MCP-PP 群で、後腹壁脂肪の平均細胞サイズが有意に小さくなった。また、TNF-α、IL-6 の発現が MCP-PP で減少することが示された(下表)。以上の結果より、MCP-PP は肝臓の脂質蓄積および脂肪細胞の肥大化を抑制することが示された。さらに、乳中のカルシウムの形態は、脂肪組織の初期炎症の予防に効果的であることを認めた。

精巣上体周辺脂肪の炎症マーカーのmRNA発現量

	対照	ミセル性リン酸Ca
TNFα	1.0 ± 0.6	0.3 ± 0.2*
IL6	1.0 ± 0.6	0.4 ± 0.4*
MCP1	1.0 ± 0.8	0.7 ± 0.3
F4/80	1.0 ± 0.4	1.1 ± 0.5
RESISTIN	1.0 ± 0.6	0.2 ± 0.1*
p40phox	1.0 ± 0.6	0.6 ± 0.3
p47phox	1.0 ± 0.5	1.3 ± 5.0
p67phox	1.0 ± 0.6	0.8 ± 0.4

36B4をレファレンスとした相対定量

数値は平均値±標準偏差を表す。

\*対照群と比べて有意差あり(p<0.05)

実験3: OVX マウスは SHAM マウスに比べて飼料摂取量が少なかったにも関わらず体重増加量、腹腔内脂肪重量が有意に多かった。また血清インスリン値に有意差がなかったが、各食品添加群では血糖値が有意に低かった。

また、大麦、おから、発酵乳粉末、赤ワイン群において脂肪組織のNADPH オキシダーゼのサブユニット p67phox と TNF- $\alpha$  の発現量が有意に低かった (下図)。以上の結果、食品成分による炎症マーカーの低下効果が感度よく検出できた。

OVXマウスの炎症マーカーのmRNA発現量

	SHAM	OVX				
		対照	大麦	おから	ビフィズス菌発酵乳	赤ワイン
TNF- $\alpha$	0.3 ± 0.2*	1.0 ± 0.8	0.4 ± 0.2*	0.3 ± 0.1*	0.3 ± 0.1*	0.4 ± 0.2*
IL6	nd	nd	nd	nd	nd	nd
F4/80	1.8 ± 0.8	1.0 ± 1.5	2.8 ± 1.1	17.6 ± 1.4	2.4 ± 1.5	2.6 ± 1.5
p67 <sup>phox</sup>	0.3 ± 0.4*	1.0 ± 0.7	0.1 ± 0.1*	0.2 ± 0.2*	0.1 ± 0.1*	0.1 ± 0.0*
p40 <sup>phox</sup>	0.6 ± 0.6	1.0 ± 1.1	0.4 ± 0.3	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2
p47 <sup>phox</sup>	0.4 ± 0.3*	1.0 ± 0.9	0.3 ± 0.1*	0.5 ± 0.5	0.3 ± 0.1*	0.3 ± 0.1*

36B4をレファレンスとした相対発現量。

数値は平均値±標準偏差を表す。

\*の付く数値は対照群と比べて有意差あり(p<0.05)

以上の3つの実験例を通じて、脂肪組織の炎症マーカーをmRNAレベルで調べる方法は、食品成分の初期炎症を感度良く検出できる方法であり、様々な動物モデルに適用できる汎用性の高い方法であることが示された。

## 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2件)

- ① 青江 誠一郎、大麦の摂取がメタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響、日本食物繊維学会会誌、査読無、15巻、2011、1-11
- ② 山中千恵美、池上幸江、青江誠一郎、カルシウムの摂取量および形態の違いがKKマウスの腹腔内脂肪蓄積に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会誌、査読有、64巻、2011、385-391、doi:10.4327/jsnfs.64.385

[学会発表] (計7件)

- ① 山中千恵美、青江誠一郎、池上幸江、カルシウムの摂取量および形態の違いがKKマウスの腹腔内脂肪蓄積に及ぼす影響、第63回日本栄養・食糧学会大会、平成21年5月22日、長崎市茂里町
- ② 渡辺苗、青江誠一郎、池上幸江、大麦の長期摂取が食餌性肥満モデルマウスの糖代謝および腹腔内脂肪蓄積に及ぼす影響、第63回日本栄養・食糧学会大会、平成21年5月22日、長崎市茂里町
- ③ 加藤美智子、青江誠一郎、機能性食品素材が肥満モデルマウスの腹腔内脂肪蓄積に及ぼす影響、第57回日本栄養改善学会学術総会、平成22年9月11日、女子栄養大学(坂戸)
- ④ 青江誠一郎、ルミナコイドの血中コレステロール低下作用—作用機序の行方—(シンポジウム招待講演)、第15回日本食物繊維学術集会、平成22年11月23日、北海道大学(札幌)

- ⑤ 加藤美智子、青江誠一郎 他2名、高 $\beta$ -グルカン含有大麦の摂取がKKマウスの耐糖能および腹腔内脂肪蓄積に及ぼす影響、第65回日本栄養・食糧学会大会、平成23年5月14日、お茶の水女子大学
- ⑥ 山村未希、青江誠一郎 他7名、高 $\beta$ -グルカン含有大麦の摂取が食餌性肥満モデルマウスの耐糖能に及ぼす影響、第65回日本栄養・食糧学会大会、平成23年5月14日、お茶の水女子大学
- ⑦ 青江誠一郎 他6名、高 $\beta$ -グルカン含有大麦の摂取がKKマウスの脂肪組織の炎症ならびにインクレチン分泌に及ぼす影響、第16回日本食物繊維学会学術集会、平成23年11月26日、(独)国立健康・栄養研究所

[図書] (計1件)

- ① 青江誠一郎 他 共著、建帛社、ルミナコイド研究のフロンティア 第9章メタボリックシンドロームとルミナコイド、平成22年、169-184

[産業財産権]

○出願状況 (計0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0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
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  
青江 誠一郎 (AOE SEIICHIRO)  
大妻女子大学・家政学部・教授  
研究者番号：90365049

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者