

<平成 26 年度助成>

脂肪組織の質的变化から明らかにする香辛料成分の機能性プロフィール

小堀 真珠子

(農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門食品健康機能研究領域)

1. 目的

高齢社会の現在において、健康長寿に寄与する食生活の提示が強く求められている。食品成分の機能性を明らかにして食生活に取り入れるには、機能性や安全性に関わる作用を網羅的・総合的に評価して機能性プロフィール(全体像と特徴)を明らかにする必要がある。

香辛料成分であるクルクミンは抗酸化作用、抗炎症作用、脂肪蓄積軽減作用等を示すことが報告されているが、その作用および作用メカニズムには不明な点も多い。これまでの研究において、内臓脂肪組織の遺伝子発現が肥満やメタボリックシンドロームの進行とともに大きく変化し、食品成分の機能性の特徴をよく反映することが明らかになってきたことから、本研究では、ヒトの食生活を反映する西洋型食による食餌性肥満モデルを用い、内臓脂肪組織のトランスクリプトミクスおよびメタボロミクスによりクルクミンで変化する遺伝子、代謝産物のプロフィールを明らかにする。さらに、これらを手がかりにしてクルクミンの機能性と作用機構を明らかにすることを目的とする。

2. 方法

1) C57BL/6J マウスに高脂肪・高ショ糖・高コレステロール食である西洋型食を摂取させ、食餌性肥満およびメタボリックシンドロームのモデルとした。コントロール食(AIN93G)、西洋型食または西洋型に0.1%クルクミンを添加した飼料を16週間自由摂取させた後、体重、組織重量、血糖値、血中脂

質等を測定して、クルクミンが西洋型食による肥満およびメタボリックシンドロームに及ぼす影響を検討した。これらの実験は、「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」に従い、農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門動物実験委員会の承認を得て実施した。

2) その他、血中、肝臓および精巣周囲脂肪組織の酸化ストレスは、脂質過酸化のマーカである8-イソプロスタンおよびマロンジアルデヒド(MDA)を指標として測定した。また精巣周囲脂肪組織のマクロファージは、マクロファージのマーカであるMac2に対する抗体で染色した。

3) 精巣周囲脂肪組織よりRNAを抽出して、DNAマイクロアレイ(GeneChip Mouse Genome 430 2.0 Array, Affymetrix)を用いて遺伝子発現の網羅解析を行った。また、リアルタイムRT-PCR法により、精巣周囲組織および肝臓の遺伝子発現を測定した。

4) 精巣周囲脂肪組織の脂質メディエーターは、一般財団法人化学物質評価研究機構において、LC-MSを用いたメタボローム解析により測定した。

3. 結果および考察

1) クルクミンは西洋型食を摂取した肥満モデルマウスの血糖値の上昇を有意に抑制した。一方、体重、肝臓重量および内臓脂肪重量の有意な低下は認められず、血中脂質(コレステロール、遊離脂肪酸、トリグリセリド)濃度の有意な低下も認められなかった(表1)。また、クルクミンは血漿、肝臓および精巣周囲脂肪組織において脂質過酸化のマーカである8-イソプロスタンまたはMDAの濃度を大きく

表1 クルクミンは食餌性肥満モデルマウスの血糖値の上昇を抑制する

	コントロール食	西洋型食	西洋型食+0.1%クルクミン
体重 (g)	33.98 ± 1.11	40.37 ± 2.19	37.29 ± 1.81
肝重量 (g)	1.48 ± 0.04 ^a	2.43 ± 0.31 ^b	2.13 ± 0.23 ^{ab}
腎臓重量 (g)	0.38 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.35 ± 0.03
膵臓重量 (g)	0.26 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.27 ± 0.01
内臓脂肪 (g/mouse)	1.32 ± 0.38 ^a	3.10 ± 0.46 ^b	2.29 ± 0.51 ^{ab}
血糖値 (mg/dL)	132 ± 8 ^a	206 ± 18 ^b	158 ± 10 ^a
血漿コレステロール (mg/dL)	84.2 ± 6.0 ^a	160.0 ± 14.0 ^b	129.4 ± 12.5 ^b
血漿レプチン (ng/mL)	0.41 ± 0.26 ^a	2.12 ± 0.68 ^b	0.95 ± 0.32 ^{ab}

数値は各群 7-9 匹の平均値 ± 標準誤差。異符合間で有意差あり。

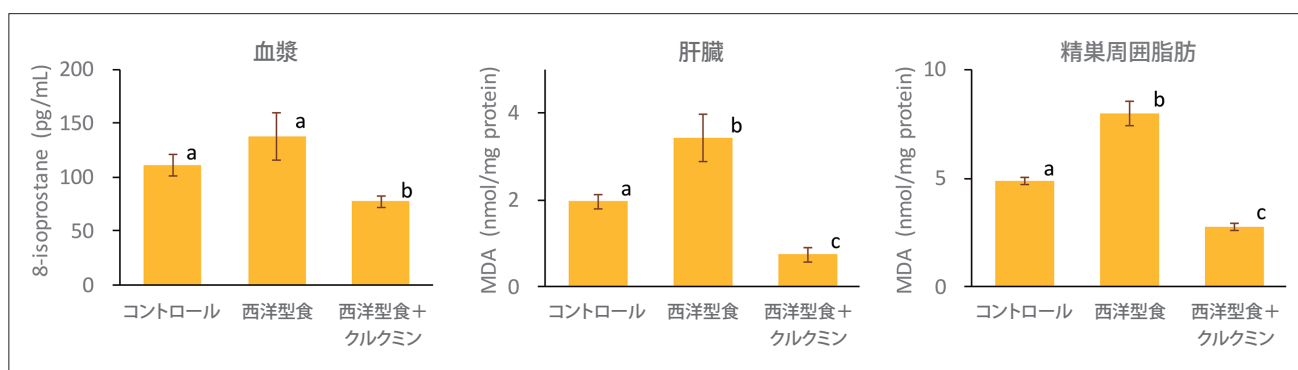


図1 クルクミンは食餌性肥満モデルマウスの血漿、肝臓および精巣周囲脂肪組織における脂質の過酸化を抑制する

減少させた(図1)。これらのことからクルクミンが、食餌性肥満モデルマウスにおける血中脂質濃度の上昇や組織の脂肪蓄積に及ぼす影響は少ないが、血中および組織においては強い酸化ストレス抑制効果を示すこと、また血糖値低下作用を示すことが明らかになった。

2) 肥満の内臓脂肪組織では、マクロファージやその他の免疫細胞が増加して慢性炎症を引き起こし、インスリン耐性からさらにメタボリックシンドロームへの進行を誘導する。そこで内臓脂肪である精巣

周囲脂肪組織のマクロファージを染色した結果、クルクミンがマクロファージの蓄積を有意に抑制した(図2)。このことは、クルクミンが内臓脂肪組織において、慢性炎症への進行を抑制し、インスリン耐性を改善する可能性を示している。

3) そこで、内臓脂肪組織における代謝産物のプロファイルを明らかにするため、脂質のうち炎症に関わるエイコサノイドのメタボローム解析を行った。その結果、精巣周囲脂肪組織におけるエイコサノイドの含量は低く、6-ケトプロスタグランジン F1 α

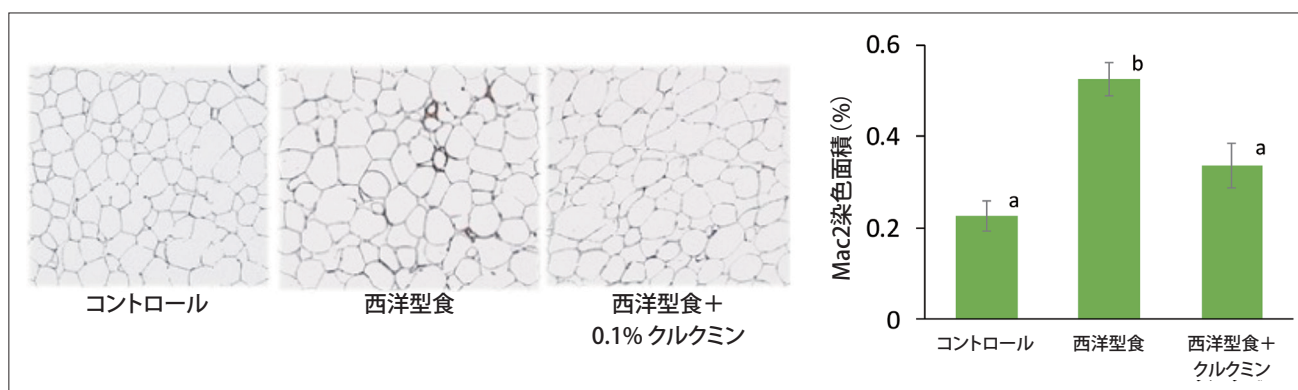


図2 クルクミンは食餌性肥満モデルマウスの精巣周囲脂肪組織において、マクロファージの蓄積を抑制する

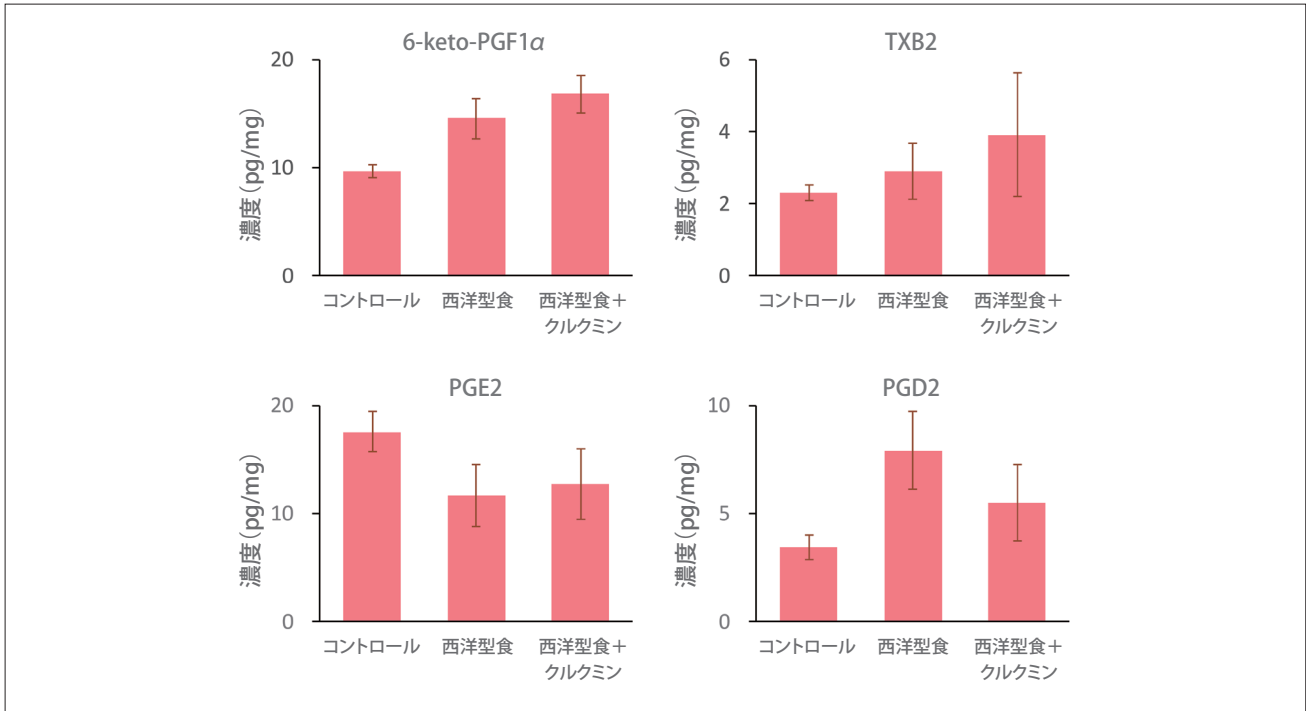


図3 精巣周囲脂肪組織の脂質メディエーター（エイコサノイド）含量

(6-keto-PGF1 α)、トロンボキサン B2 (TXB2)、プロスタグランジン E2 (PGE2) およびプロスタグランジン D2 (PGD2) が検出され、西洋型食やクルクミンによる変化が示唆されたが、いずれも有意な変化ではなかった (図 3)。また、これらのうち PGE2 および PGD2 の血漿中濃度を測定したが、いずれも西洋型食およびクルクミンによる有意な変化は認められなかった。しかし RT-PCR 法による遺伝子発現解析の結果、クルクミンは西洋型食で誘導されるアラキドン酸 5-リポキシゲナーゼ (Arachidonate 5-lipoxygenase) の発現を有意に抑制することが明らかとなり、脂質メディエーターを含めた炎症抑制作用を有することが示唆された。

4) DNA マイクロアレイを用いて、精巣周囲脂肪組織の遺伝子発現を網羅解析した結果、クルクミンはミトコンドリアの酸化リン酸化に関わる遺伝子発現を誘導した (図 4A)。さらに活性酸素種の産生に関わる遺伝子発現を有意に抑制した他、脂肪蓄積に伴い増加する免疫細胞のうち好中球、顆粒球、マクロファージ、単球、マスト細胞、T 細胞、ナチュラルキラー細胞等に関わる遺伝子発現が抑制された。また、インスリン抵抗性に関わる TNF α や IFN γ の作

用を抑制することが示唆された (図 4B)。

以上のことからクルクミンは、内臓脂肪組織において、その脂肪蓄積抑制効果は弱いものの、強い酸化ストレス抑制作用を示し、ミトコンドリアの機能等に関わる遺伝子発現を改善するとともに、炎症抑制作用を示すと考えられた。

その後の研究により、クルクミンが小胞体ストレスに関わる eIF2 シグナル伝達関連遺伝子の発現を変動させることから、小胞体ストレスで誘導される eIF2 のリン酸化を抑制することが明らかになった。また、精巣上体周囲脂肪組織の脂質のプロファイルを変化させることも明らかになり、その結果から脂肪合成を抑制することが示唆された。クルクミンは本モデルにおいて内臓脂肪組織の酸化ストレス、小胞体ストレス、脂肪合成を抑制して、メタボリックシンドロームに対して予防的に働いていると考えられる¹⁾。このように、食餌性肥満モデルマウスを用い、内臓脂肪組織のトランスクリプトミクスおよびメタボロミクスによりクルクミンで変化する遺伝子および代謝産物のプロファイルを明らかにすることで、クルクミンのメタボリックシンドローム予防に関わる作用が明らかになった。

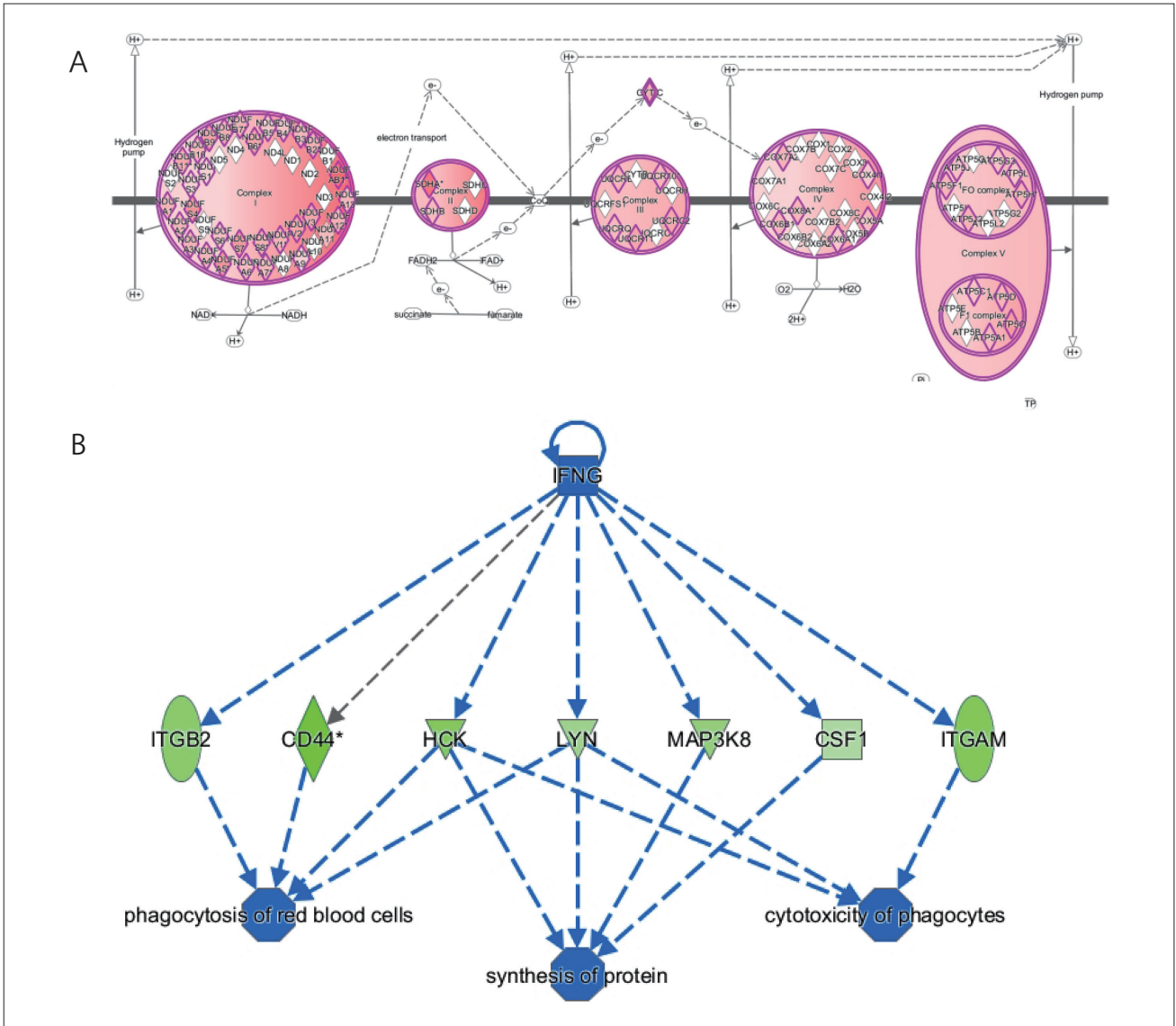


図4 クルクミンは精巣周囲脂肪組織においてミトコンドリアの酸化的リン酸化 (A) に関わる遺伝子発現および IFN γ で制御される遺伝子発現 (B) を変動させる
赤は増加した遺伝子の機能、緑は抑制された遺伝子、青は抑制が予想される機能

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団および関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

1) Kobori, et al. Dietary Intake of Curcumin Improves eIF2 Signaling and Reduces Lipid Levels in the White Adipose Tissue of Obese Mice. Scientific Reports 8, 9081 (2018).

Curcumin improves the gene expression and metabolite profiles of visceral adipose tissues in diet-induced obese mice

Masuko KOBORI

Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization, Japan

To evaluate the effect of curcumin on diet-induced obesity and metabolic syndrome, we analyzed the gene expression and metabolite profiles of the visceral adipose tissues of diet-induced obese mice. C57BL/6J mice were fed either a control diet, a high-fat, high-sucrose, and high-cholesterol Western diet, or a Western diet containing 0.1% curcumin for 16 weeks. A dietary intake of curcumin significantly reduced the increased blood glucose levels in the Western diet-induced obese mice. However, curcumin did not significantly reduce the body weight, weight of the liver and visceral adipose tissue, or plasma levels of triglyceride, non-esterified fatty acid, and cholesterol in the mice. Curcumin significantly reduced the levels of lipid peroxidation markers 8-isoprostane or malondialdehyde in the plasma, liver, and epididymal adipose tissue in the obese mice. A Western diet induces the accumulation of macrophages and other proinflammatory cells in visceral adipose tissue and promotes chronic inflammation, leading to systemic insulin resistance. Curcumin suppressed the increase in the number of macrophages in the epididymal adipose tissues. A metabolome analysis of eicosanoids detected 6-keto prostaglandin F₁ α , thromboxane B₂, prostaglandin E₂, and prostaglandin D₂ in the epididymal adipose tissues of mice. Although curcumin did not significantly affect the levels of the eicosanoids in the epididymal adipose tissues, an RT-PCR analysis showed that curcumin suppresses the Western diet-induced arachidonate 5-lipoxygenase expression in the mice. A comprehensive gene expression analysis showed that curcumin increased the expression of genes related to oxidative phosphorylation, and reduced the expression of genes related to free radical production in the epididymal adipose tissue in the obese mice. Moreover, curcumin suppressed the expression of genes related to macrophages, monocytes, granulocytes, mast cells, T cells, and natural killer cells in this tissue. Our results suggested that dietary curcumin strongly reduced oxidative stress, and alleviated mitochondrial dysfunction and inflammation in the epididymal adipose tissue of Western diet-induced obese mice.