

食品成分による肝臓と脂肪組織の脂質代謝制御機構

1. はじめに

第二次世界大戦以降、食生活が豊かになるにつれて日本国民の健康が向上し、平均寿命が順調に延伸する一方、食生活の欧米化に伴う生活習慣病の発症が増加し、食生活の改善が呼びかけられている。ここ数年の間、健康的な食生活への国民の関心は非常に高まっており、健康に役立つ食材や食品成分が各種メディアで紹介されると翌日にはその食品が日本中の店先から消えることが度々生じている。生活習慣病の中でも肥満は食生活の影響を受けやすく、肥満自体には痛みや切迫した自覚症状を伴わず致命的なものではないが、肥満状態が進行あるいは持続することで糖尿病や心臓疾患、脳血管障害のような生命に関わる疾患を誘発するリスクが高まる。日本ではこのような肥満を原因とする疾病の罹患率、死亡率は依然として高い水準で推移している。万病の源とも言える肥満を予防、改善する方策として第一に挙げられるのは食生活の改善であり、摂取エネルギーやPFCバランス（タンパク質：脂肪：炭水化物の摂取比率）の見直し、生体の代謝調節作用がある成分を含む食品の選択的摂取などがその主な対策となる。食事を摂るヒトの側で肥満に最も大きく関わっている生体機能は脂質代謝であり、既にいくつかの食品成分に脂質代謝改善作用があることが示されている。本稿では食品成分が脂質代謝の中心となる肝臓と脂肪組織の機能にどのような影響を与え、肥満抑制や血中脂質濃度の低下作用にどのように関わっているかを、私どもの研究室で行ってきた研究結果より紹介し、さらに食品成分の機能性に関する今後の研究の方向について述べる。

2. 脂質代謝における肝臓と脂肪組織の役割

食餌より生体内に取り込まれた脂肪は胃腸内での消化作用により分解された後、小腸より吸収されて血液中に入り、全身に運ばれエネルギー源として利用される。余分な脂質は皮下や腹腔にある脂肪組織に入り、体脂肪として貯蔵される。肝臓では脂肪は分解されてエネルギーとして利用されるが、エネルギー過剰の場合は脂肪が合成される。また肝臓の脂質代謝には、脂肪からコレステロールや胆汁などへの変換も含まれる。

2.1 肝臓での脂質代謝

肝臓は脂質に限らず、糖質やタンパク質のようなエネルギー源となりうる栄養素の分解、合成、変換、貯蔵を盛んに行っている。肝臓の脂質代謝における主要な役割は以下の通りである¹⁾。1) コレステロールから胆汁酸塩を生成して腸管での脂質の消化吸収を促進する。2) 脂肪酸の合成や酸化、中性脂肪・リン脂質・

コレステロールの合成を行う。3) 血清中で脂質を輸送するためのリポタンパク質を合成する。4) 脂肪酸からケトン体を合成する。

血清リポタンパク質や中性脂肪の合成などを行う肝臓での脂質代謝の変化は、血清脂質濃度に直接的な影響を与える²⁾。コレステロールや中性脂肪などの血清脂質濃度を制御する因子で重要なものとして挙げられるのが、肝臓での中性脂肪の合成と分解速度のバランスである。肝臓での中性脂肪合成に使われる脂肪酸には、グルコースなどを炭素源として合成されるもの、脂肪組織から脂肪分解によって動員されるもの、食餌脂質に由来するものなどがある。肝臓に供給された脂肪酸は、グリセロールとのエステル化により中性脂肪やリン脂質のような脂質に合成され、一部の脂肪酸は肝臓で生成される中性脂肪を主要成分とした超低密度リポタンパク質(VLDL)の構成成分として取り込まれて血清中に分泌される。脂肪酸合成系が低下すると中性脂肪など血清脂質の合成基質が減少し、結果として血清脂質濃度が低下する。脂肪酸はアセチル-CoAカルボキシラーゼと脂肪酸合成酵素の働きにより合成されるが、合成に必要なNADPHの供給に関与するグルコース6-リン酸脱水素酵素とリンゴ酸酵素、細胞質でのアセチルCoA合成に関与するATP-クエン酸リアーゼなども脂肪酸合成系の変化に連動して制御される³⁾。この脂肪酸合成系経路は、個体や組織の栄養状態によって調節されることが明らかになっている。脂肪酸合成系酵素の遺伝子発現を調節する転写因子として注目されているものに、ステロール調節エレメント結合タンパク質(SREBP)がある³⁾。SREBPは核内タンパク質の一種で、コレステロールによる低密度リポタンパク質(LDL)受容体とコレステロール合成系酵素の遺伝子発現抑制作用に関わるシスエレメント、ステロール調節エレメント(SRE)に結合する。SREBPにはSREBP-1(同一遺伝子で転写開始点の違いによりSREBP-1aとSREBP-1cが存在する)とSREBP-2の2種類があり、SREBP-1は主としてATP-クエン酸リアーゼ、アセチル-CoAカルボキシラーゼ、脂肪酸合成酵素のような脂肪酸合成系酵素、SREBP-2はコレステロール合成系酵素とLDL受容体遺伝子の発現調節に関与すると考えられている(表1)^{4,5)}。

表1 SREBPサブファミリーと肝臓・脂肪組織での役割³⁾

	発現が強い臓器	機能	制御因子
SREBP-1a	脾臓など	コレステロール、脂肪酸、中性脂肪の合成に関わるタンパク質遺伝子発現の活性化(SREBPsによって制御される遺伝子全般)	プロモーター領域に核ホルモンレセプター-LXRが結合することで転写活性が上昇し、長鎖不飽和脂肪酸によって転写活性が減少する。SREBP-1cはインスリンによって上昇する。
SREBP-1c	肝臓、脂肪細胞、副腎、脳	脂肪酸、中性脂肪、リン脂質の合成に関わる遺伝子発現の活性化、脂肪細胞の分化と脂質蓄積	
SREBP-2	肝臓	コレステロール合成に関わる遺伝子発現の活性化	低コレステロール時に転写活性が上昇する

一方、脂肪酸の分解は脂肪酸酸化により行われ、脂肪酸から β 酸化の過程でアセチル-CoAを生じ多量のエネルギー産生を伴う。肝臓での β 酸化系はミトコンドリアとペルオキシゾームの両細胞小器官に存在する。この β 酸化は脂肪酸合成系と比べ、基質特異性の異なる多くの酵素から構成されている⁶⁾。これらの脂肪酸酸化系酵素による代謝も、脂肪酸合成系酵素と同様に栄養条件によって調節される。脂肪酸酸化系酵素の遺伝子発現を調節する転写因子として、ペルオキシゾーム誘導剤活性化受容体(PPAR)が発見された。哺乳動物には α 、 δ (β)および γ の3種類のPPARがあることが知られている(表2)³⁾。PPAR γ には γ 1と γ 2の2つのアイソフォームが存在する。PPAR α は肝臓、心臓、腎臓、小腸、褐色脂肪組織に多く発現し、PPAR γ 2は白色脂肪組織に高い発現が見られる。PPAR δ と γ 1は種々の組織に発現する。 β 酸化系を構成するペルオキシゾーム酵素のアシルCoA酸化酵素と二頭酵素遺伝子はPPAR α によって活性化されていることが証明されている他、ミトコンドリア酵素も含めて数多くの酵素遺伝子発現がPPARによって制御されていることが明らかにされている。PPARsによる転写活性調節に関与するリガンドのひとつとして脂肪酸が挙げられている^{7,8)}。

2.2 脂肪組織での脂質代謝

脂肪組織は中性脂肪の形でエネルギーを蓄える臓器である。脂肪組織に貯蔵されている中性脂肪量は常に脂肪分解と再エステル化(合成)の速度で調節され、それぞれの過程は栄養や代謝状態、インスリンをはじめとするホルモンなどの内分泌因子等により制御されている。この分解と合成のバランスが脂肪組織から血清中に供給される脂肪酸の量を決定する。一方、最近の研究により、脂肪組織は受動的にエネルギーを蓄えるだけでなく、活発な代謝活性を持ち生体のエネルギー代謝全般に重要な役割を果たしていることが明らかになっている⁹⁾。また分子生物学的解析から、脂肪組織は外界からの刺激に応じて活発にホルモンやサイ

表2 PPARサブファミリーと肝臓・脂肪組織での役割³⁾

	発現が強い臓器	機能	制御因子
PPAR α	肝臓、消化管、腎臓など	肝臓での脂肪酸 β 酸化促進、脂肪酸取り込み	空腹時やフィブレートなどの脂肪酸 β 酸化促進剤によって上昇、脂肪酸(パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸)
PPAR δ (β)	多くの臓器で広く発現、筋肉	筋肉での脂肪酸利用	飽和・不飽和脂肪酸
PPAR γ 1	脂肪細胞、肝臓など	脂肪細胞の分化、脂質貯蔵	インスリン増感剤、多価不飽和脂肪酸(エイコサペンタエン酸、アラキドン酸)
PPAR γ 2	白色脂肪組織に多く発現		

トカインを分泌し、全身にシグナルを発信する重要な内分泌臓器であることも分かってきた。脂肪細胞から放出されるタンパク質因子には、インスリン抵抗性を高める作用のあるTNF- α (tumor necrosis factor- α)、血圧上昇因子であるアンジオテンシノーゲン、さらに血栓形成に関わるとされるプラスミノゲン活性化阻害因子-1 (PAI-1)、その他、糖尿病、心筋梗塞、脳梗塞、高血圧を亢進する因子などがある(図1)¹⁰。脂肪細胞は食欲低下の誘導や脂肪組織量の調節に関与すると考えられているレプチンや、インスリンの感受性を上昇させるアディポネクチンのような脂質代謝を改善する因子も分泌する。リポタンパク質リパーゼ(LPL)は血清リポタンパク質から脂肪細胞に脂肪酸を取り入れる働きを行う。取り込まれた脂肪酸は中性脂肪に転換され、脂肪組織に蓄えられる。また、脂肪酸だけでなくグルコースも中性脂肪合成の材料となる。グルコース輸送体4 (GLUT4)は脂肪細胞で強い発現が見られ、血液中のグルコースを脂肪細胞内に輸送する。取り入れられたグルコースは脂肪酸に転換され、脂肪組織の脂肪合成の基質となる。この過程はインスリンによって調節され、インスリン依存性の血糖制御機構において重要な役割を果たしている(図2)⁹。

脂肪組織量の増加は、脂肪細胞の体積増加、つまり細胞の肥大と、脂肪細胞数の増加、すなわち増殖によって起こる¹¹。脂肪組織は中性脂肪からなる脂肪滴を蓄えた成熟脂肪細胞と未熟な前駆脂肪細胞から成り立っている。脂肪組織量の増加は脂肪細胞での中性脂肪の合成・貯蔵による脂肪滴の増大から起こり、脂肪の貯蔵が限界に達すると脂肪細胞を増殖させて対応する。脂肪細胞の増殖は微細な脂肪滴を含む前駆脂肪細胞だけでなく、成熟脂肪細胞でも見られる。前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化を制御する因子には成長ホルモンやインスリンなどがあるが、食品成分では脂肪酸やビタミンA、ビタミンDが脂肪細胞の分化に関与するPPAR γ 2のリガンドとなる¹²。

一般の脂肪組織が白色脂肪組織と称されるのに対し、褐色脂肪組織と呼ばれる別の脂肪組織も存在する(図3)。白色脂肪細胞が比較的大型の細胞で、その大部分が単一の巨大な脂肪滴で占められ、核や細胞質は周辺部に押しやられた単房性の構造であるのに対し、褐色脂肪組織を構成する褐色脂肪細胞は白色脂肪細胞より小さく、脂肪も多くの小滴に分かれた多房性構造となっており、それに近接して多くのミトコンドリアが存在している。褐色脂肪組織では脂肪酸を酸化分解して熱エネルギーに変換して放散する機能を持つことから、肥満抑制に関与していると考えられている。この熱産生作用は褐色脂肪細胞特異的に発現する脱共役タンパク質1 (UCP1)によるものである(図2)。

脂肪細胞の分化・増殖や脂肪組織での脂質代謝の制御にも、転写因子として肝臓と同様にSREBPやPPARが関与している(表1, 2)。

図1 脂肪細胞から血液中に分泌される代謝制御因子¹⁰⁾

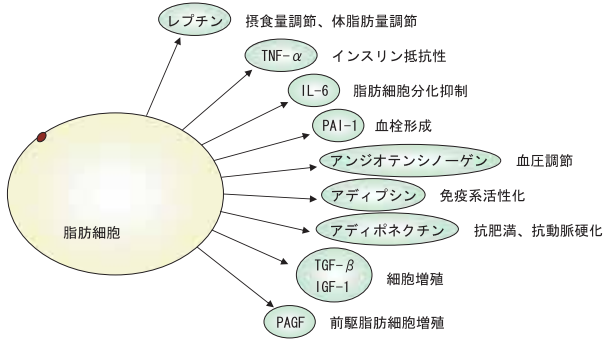


図2 白色脂肪組織(左)と褐色脂肪組織(右)での脂質・グルコース代謝

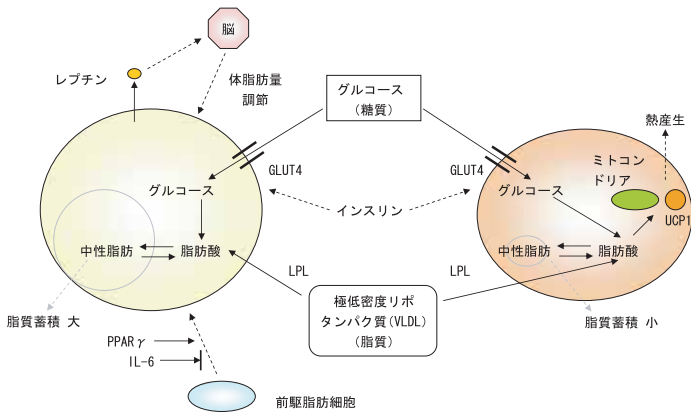
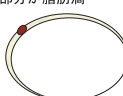



図3 白色脂肪組織と褐色脂肪組織の違い

白色脂肪組織		褐色脂肪組織
皮下、内臓周辺を中心に、全身に広く分布	分布	肩甲骨間、腋下、腎周囲など限定的で少量
細胞体の大部分が脂肪滴	脂肪細胞の形態	細胞内に小さな脂肪滴が存在、ミトコンドリアや神経、血管分布が豊富
		
50~100 μm	大きさ	20~40 μm
エネルギーの貯蔵と放出	生理的役割	脂肪酸燃焼による熱産生
血中から余剰の脂肪酸やグルコースを取り込んで中性脂肪としてエネルギーを貯蔵、エネルギー不足時には中性脂肪を分解して脂肪酸を血中に放出する	脂肪細胞での脂質代謝	脂肪を酸化分解することにより、UCP1を介しATP生成を伴わずに熱産生を行う。グルコースから脂肪を合成する一方、脂肪分解も盛んに行う。

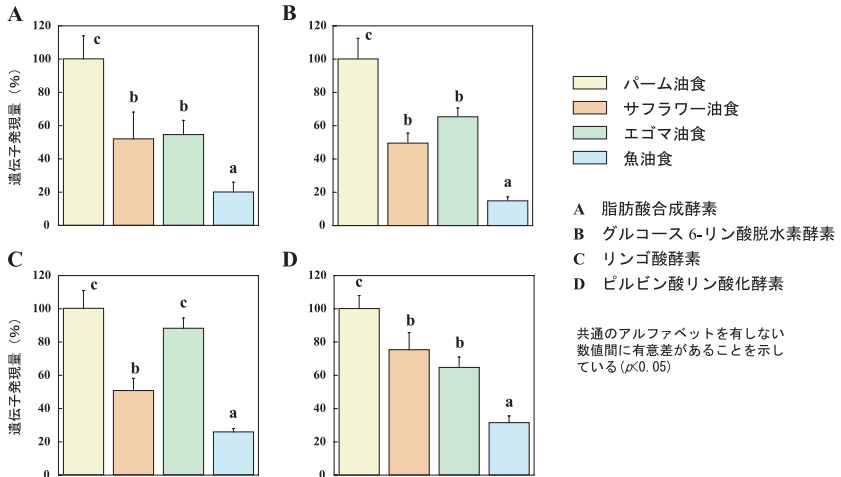
3. 脂質代謝を制御する食品成分

生体内での脂質代謝は個体や組織の栄養状態によって調節される。脂質代謝はアナボリックな代謝系である脂肪酸合成系とカタボリックな代謝系である脂肪酸酸化系とが協調的に制御されることでバランスが保たれると考えられるが、実際には両代謝経路はそれぞれ独立した制御機構を持ち、内分泌系や食品成分等の制御因子により支配されている。私どもの研究室では多価不飽和脂肪酸を中心に、脂質代謝を制御する食品成分の作用を研究してきた。以下に、肝臓や脂肪組織での脂質代謝調節機能を持つ食品成分と、その作用メカニズムの例を挙げる。

3.1 n-3系多価不飽和脂肪酸

脂質代謝調節作用を持つ多価不飽和脂肪酸として、n-6系不飽和脂肪酸のリノール酸(18:2)、n-3系不飽和脂肪酸である α -リノレン酸(18:3)、エイコサペンタエン酸(EPA, 20:5)、ドコサヘキサエン酸(DHA, 22:6)などが知られている。特にn-3系不飽和脂肪酸は飽和脂肪酸と比較したとき、血清脂質濃度を低下させる作用が強い。肝臓での脂肪酸合成系活性低下は、血清脂質低下の大きな要因である。ラットを用いた動物実験では、飽和脂肪酸に富むパーム油食を摂取した群に比べて、リノール酸が主成分のサフラワー油、 α -リノレン酸が多いエゴマ油、EPAとDHAが豊富な魚油を与えると血清脂質濃度が低下し、肝臓の脂肪酸合成系酵素の活性と遺伝子発現量が減少した(図4)¹³⁾。脂肪酸合成系の低下はサフラワー油とエゴマ油でほぼ同等であったが、魚油はより大きな減少を引き起こした。この原因として、n-3系脂肪酸に富む魚油はn-6系脂肪酸が主成分のサフラワー油と比べてマウス肝臓のSREBP-1c遺伝子発現量をより大きく低下させることが報告されている¹⁴⁾。また、核内レセプターであるliver X receptor (LXR)とretinoid X receptor (RXR)はヘテロダイマーを形成し、SREBP-1cのプロモーター領域にあるLXRエレメントに結合し、SREBP-1cの遺伝子発現を増加させることが知られている。多価不飽和脂肪酸はLXR/RXRのLXRエレメントへの結合を阻害しSREBP-1c発現を抑制するが、その抑制はn-6系脂肪酸のリノール酸よりもn-3系のEPAやDHAで大きいこと¹⁵⁾も報告されている。一方、食餌不飽和脂肪酸は肝臓脂肪酸酸化系にも大きな影響を与える。脂肪酸酸化系酵素活性と遺伝子発現量はパーム油摂取群とサフラワー油摂取群でほぼ同等であったが、n-3系不飽和脂肪酸を含むエゴマ油と魚油摂取ではより高い活性と発現量を示した¹³⁾。従って、魚油の強い血清脂質濃度低下作用は、肝臓での脂肪酸合成の低下に加え、脂肪酸酸化の亢進が要因になると考えられる。多価不飽和脂肪酸はPPAR α のリガンドとして脂肪酸酸化系酵素の遺伝子発現を活性化させ、脂肪酸の分解を促進するが、n-6系脂肪酸のリノール酸やアラキドン酸、またn-3系脂肪酸の α -リノレン酸、EPAやDHAのPPAR α との結合力やPPAR α の活性化能には大きな差は見られない¹⁶⁾。従って、種々の異なった多価不飽和脂肪酸を含む油脂がラット肝臓の脂肪酸酸化

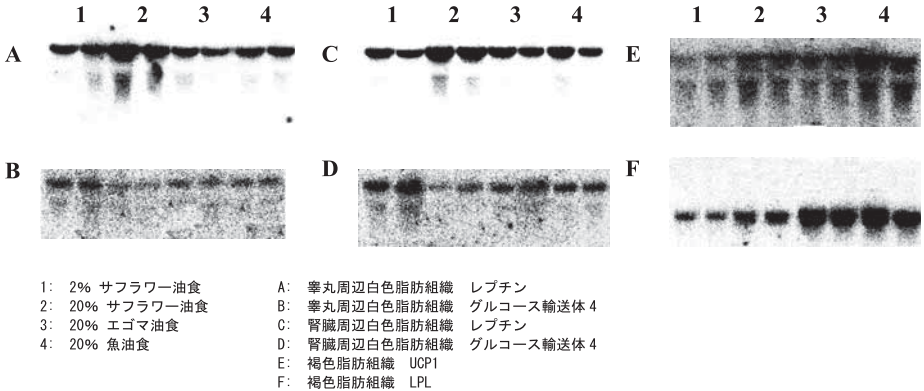
図4 食餌n-3系脂肪酸による肝臓脂肪酸合成系酵素遺伝子発現量への影響



系に与える影響の違いを、多価不飽和脂肪酸のPPAR α に対する作用の違いで説明することは難しい。 α -リノレン酸を多く含むエゴマ油の血清脂質低下作用はサフラワー油よりも優れるが、魚油よりはその効果が小さい。エゴマ油はリノール酸が主成分のサフラワー油と比較して脂肪酸酸化を亢進するが、脂肪酸合成には影響を与えないことがその生理作用の違いの原因と考えられる。

食餌不飽和脂肪酸は脂肪組織の脂質代謝にも影響を及ぼす。脂肪細胞で多く発現する脂質代謝に関連する遺伝子のうち、前章で取り上げたLPL、レプチン、GLUT4、UCP1(図2)の遺伝子発現量に対する食餌油脂の影響を検討した。n-6系脂肪酸油脂のサフラワー油を2%含む低脂肪食と、サフラワー油、n-3系脂肪酸油脂のエゴマ油および魚油をそれぞれ20%ずつ含む高脂肪食をラットに与えて比較したところ、高脂肪食は低脂肪食と比較してLPLのmRNA量を腎臓周辺白色脂肪組織で約30%、肩甲骨間の褐色脂肪組織では70-90%増加させたが、睪丸周辺の白色脂肪組織では増加が見られず組織特異的な応答があった¹⁷⁾。しかし、油脂の種類による応答に差はみられなかった。白色脂肪組織でのレプチン発現量は低脂肪食と比較しn-6系脂肪酸油脂で増加したが、n-3系脂肪酸油脂では増加は抑制された(図5)。さらにGLUT4発現量はn-6系脂肪酸油脂により低下したが、n-3系脂肪酸油脂では減少幅が小さくなった。褐色脂肪組織では、高脂肪食はUCP1の発現量を増加させたが、増加の程度はn-6系よりもn-3系脂肪酸油脂でより大きくなった。このような結果から、n-3系不飽和脂肪酸は脂肪組織での脂質代謝関連遺伝子の発現制御に重要な役割を果たしていることが推察される。実際

図5 n-3系脂肪酸と褐色脂肪組織での遺伝子発現



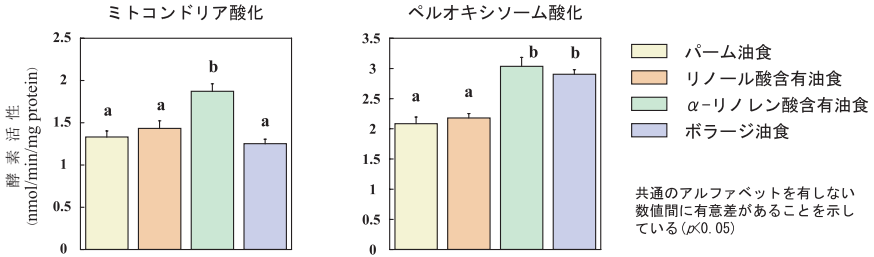
にこの実験で白色脂肪組織重量は、サフラワー油食群よりもエゴマ油、魚油食群で低下し、n-3系不飽和脂肪酸は体脂肪蓄積を抑制する効果を持つことが示された。褐色脂肪組織でUCP1発現量が増加することにより脂肪酸燃焼が亢進したことがその一因であると推察できる。また、脂肪組織のレプチン発現量は脂肪蓄積量と正の相関を示したことから、n-3系脂肪酸による発現低下は体脂肪重量の増加抑制を反映したものと推察された。また、脂肪組織のGLUT4遺伝子発現量減少は高脂肪食によるインスリン抵抗性の増大と高血糖を引き起こす大きな要因となるが、n-3系脂肪酸はこの発現量低下を妨げインスリン抵抗性を緩和しているものと考えられた。

3.2 γ -リノレン酸

γ -リノレン酸(18:3, n-6)は月見草油やボラージ油(植物の一種ルリジサの種子油)など、主に健康食品として市販されている油脂に多く含まれるn-6系多価不飽和脂肪酸である。生体内ではリノール酸から合成される。 γ -リノレン酸の健康へのプラス効果として、血管拡張作用や血小板凝集抑制作用、動脈硬化や高脂血症の予防作用が研究されている。

γ -リノレン酸が肝臓での脂肪酸酸化活性を上昇させることはTakadaraの研究で示されていた¹⁸⁾。私どもの研究室では、 γ -リノレン酸とn-3系不飽和脂肪酸の α -リノレン酸が肝臓脂肪酸酸化系と合成系酵素活性に与える影響を比較した。脂肪源としてパーム油、リノール酸を70%含む油脂、リノール酸39%+ α -リノレン酸31%を含む油脂、リノール酸39%+ γ -リノレン酸26%を含むボラージ油をそれぞれ15%添加した食餌を4群に分けたラットに15日間摂食させた。パーム油やリノール酸油脂と比較して、肝臓ミトコンドリアでのパルミトイルCoA酸化

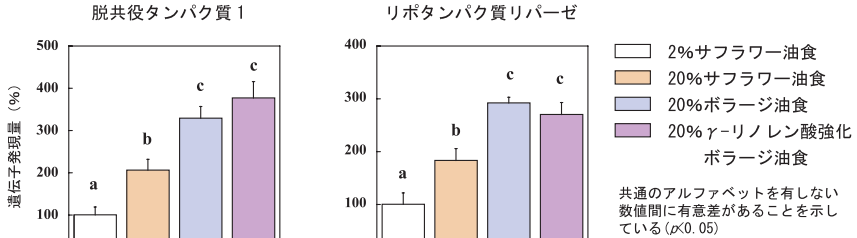
図6 γ -リノレン酸の肝臓脂肪酸酸化活性(パルミトイルCoA酸化)



は α -リノレン酸に富む油脂食により上昇したが、ボラージ油食群では増加は認められなかった。一方、ボラージ油食と α -リノレン酸食はペルオキシソーム β 酸化活性を同程度上昇させた(図6)¹⁹⁾。また、ペルオキシソームの脂肪酸酸化を調節するアシルCoA酸化酵素の活性は γ -リノレン酸および α -リノレン酸に富む油脂の投与で上昇し、ミトコンドリアの脂肪酸酸化に関わるカルニチンパルミトイル転移酵素活性はボラージ油食により上昇したが、上昇の程度は α -リノレン酸を含む油脂食よりも小さかった。従って γ -リノレン酸は α -リノレン酸と同様に肝臓の脂肪酸酸化活性を上昇させるが、 α -リノレン酸がミトコンドリアとペルオキシソームの両方で脂肪酸酸化を増加させるのに対し、 γ -リノレン酸はペルオキシソームでのみ脂肪酸酸化系を活性化させることが示された。脂肪酸合成系への影響については、脂肪酸合成酵素など代表的な酵素の活性を指標として評価した。パーム油食群と比較して α -リノレン酸や γ -リノレン酸に富む油脂は脂肪酸合成系酵素の活性を減少させたが、低下の度合はリノール酸に富む油脂で観察されるものと同様であり、脂肪酸特異的な作用は見られなかった。

γ -リノレン酸が脂肪組織の脂質代謝に与える影響は、脂肪組織で発現する代謝関連遺伝子の発現量を指標として評価した。リノール酸に富むサフラワー油を2%添加した低脂肪食、または、サフラワー油、 γ -リノレン酸を25%含むボラージ油、 γ -リノレン酸含有量を47%に高めたボラージ油をそれぞれ20%含む高脂肪食をラットに与えた。体重と摂食量に油脂の種類による違いは見られなかったが、白色脂肪組織重量はサフラワー油食と比べてボラージ油食で減少し、 γ -リノレン酸含量を高めたボラージ油でより大きな低下が認められた²⁰⁾。白色脂肪組織でのGLUT4とLPLの遺伝子発現量は高脂肪食群間で差はなかった。腎臓周辺白色脂肪組織でのレプチンの遺伝子発現量は低脂肪食群より高脂肪のサフラワー油食群で発現量が増加し、ボラージ油食群ではサフラワー油食群よりもレプチンの発現量が抑制され、 γ -リノレン酸含量の高いボラージ油でより大きな発現低下が観察された。これは γ -リノレン酸による脂肪組織重量の増加抑制に対応し

図7 γ -リノレン酸による褐色脂肪組織での代謝遺伝子発現量の変化



た変化と考えられる。一方、褐色脂肪組織ではUCP1遺伝子発現量がサフラワー油食と比較してボラージ油食で1.6倍から1.8倍上昇した（図7）。同時にLPL遺伝子発現量もボラージ油食群で高くなった。このことから、褐色脂肪組織ではUCP1による脂肪酸燃焼が高まり、LPL発現上昇により燃焼する脂肪酸の供給を増加させている可能性が示唆された。従って γ -リノレン酸を含む油脂摂取による白色脂肪組織量の増加抑制作用は、褐色脂肪組織でのUCP1発現上昇を介した脂肪酸消費の増加に起因すると考えられた。

3.3 共役リノール酸 (conjugated linoleic acid, CLA)

CLAは二重結合が共役したリノール酸(18:2, c-9, c-12)の位置および幾何異性体混合物の総称である。CLAは反芻動物の腸内細菌叢の働きにより生成するので、乳製品や牛脂に含まれる。これらの食品中に含まれる主要なCLAはc-9, t-11異性体で、その含量は脂肪1g当たり1~7mgと報告されている²¹⁾。CLAの生理学的作用として、体脂肪減少作用や心血管病リスク低下作用などが知られている。私どもはマウスを用い、CLAが脂肪組織や肝臓の脂質代謝に及ぼす影響について研究してきた。

C57BL/6J系とICR系の雄マウスに15%パーム油食または13%パーム油食に2%のCLAを添加した食餌を3週間摂取させると、エネルギー摂取量はCLA添加食群で10~12.5%減少し、体重増加量は30~44%減少した²²⁾。この体重減少は睾丸周辺、腎臓周辺白色脂肪組織および肩甲骨間褐色脂肪組織重量の著しい減少を伴い、特に腎臓周辺組織はマウス個体によっては脂肪組織がほとんど消失していた。

食餌CLAの脂肪組織重量減少メカニズムの一つとして、エネルギー代謝を高める効果が挙げられている。このエネルギー消費に関わる因子として脱共役タンパク質ファミリーが考えられる。脱共役タンパク質は先に述べた褐色脂肪組織特異的に発現するUCP1の他、多くの組織で非特異的に発現するUCP2、骨格筋と

褐色脂肪組織に比較的多く発現するUCP3などのアイソフォームが見ついている。2%CLA添加食で、無添加食と比べ褐色脂肪組織のUCP1とUCP3のmRNA発現量は減少したが、UCP2の発現量は大きく増加した。また、骨格筋でもCLA添加食でUCP2発現量が有意に増加したことから、褐色脂肪組織と骨格筋でのUCP2のmRNA量上昇がCLAのエネルギー消費量増加作用に関与していると考えられた。脂肪組織へのグルコース取り込みを行うGLUT4のmRNA発現量は白色脂肪組織、褐色脂肪組織ともCLAにより50%程度減少した。GLUT4発現量低下による脂肪酸合成基質であるグルコースの脂肪組織内への取り込み抑制も、CLAの体脂肪減少効果の一因であると考えられる。しかしCLA添加食群での骨格筋GLUT4のmRNA発現量には減少が見られず、筋肉でのグルコース利用は妨げない組織特異的なGLUT4発現調節機構が存在すると考えられた。また、CLA添加食を摂取したマウスの白色および褐色脂肪組織ではPPAR γ のmRNA発現量が大きく減少した。PPAR γ は脂肪細胞の分化を促進する転写因子であり、PPAR γ のmRNA発現量減少は脂肪細胞の成熟脂肪細胞への分化とそれに伴う細胞内への脂肪滴の蓄積を抑制すると考えられる。以上の結果からCLA摂取による体脂肪蓄積抑制は、褐色脂肪組織と骨格筋でのUCP2の発現量増加、白色および褐色脂肪組織でのGLUT4とPPAR γ の発現量減少によるものと推察された。

CLA摂取はマウス脂肪組織の著しい減少を引き起こすが、対照的に肝臓の重量を増加させる²⁹⁾。13.5%パーム油食にリノール酸(18:2, n-6)、パルミチン酸(18:0)、CLAをそれぞれ1.5%添加した食餌をICR系雄マウスに摂取させると、体重増加量はパルミチン酸食群でリノール酸食群やCLA食群よりも大きくなったが、肝臓重量はCLA食群で他群よりも2倍程度に増加し、CLA添加食群の体重100g当たりの肝臓脂質量は中性脂肪が他群の約8倍、コレステロールは約3倍、リン脂質は約1.5倍の増加を示した。CLAによる肝臓での脂質蓄積量増加に伴い、脂肪酸合成系酵素の酵素活性とmRNA発現量がリノール酸添加食と比較してそれぞれ2~5倍、1.6~4.5倍増加していた。このことから肝臓での脂質蓄積亢進は、脂肪酸合成の上昇によると考えられた。さらにCLAにより、脂肪酸合成系酵素の遺伝子発現量を調節するSREBP-1のmRNA発現量も有意に増加した。従ってCLAによる脂肪酸合成上昇はSREBP-1の発現増加に起因すると思われた。興味深いことに、CLAはマウスにおいてアナボリックな代謝系である肝臓脂肪酸合成系を大きく上昇させる一方、カタボリックな代謝系である脂肪酸酸化系も同様に上昇させる²⁹⁾。リノール酸添加食と比較して、CLA添加食は肝臓ミトコンドリアとペルオキシソームのパルミトイルCoA酸化速度を約2.5倍増加させた。脂肪酸酸化系酵素の活性もCLA食によりアシルCoAオキシダーゼで約2.4倍増加したのをはじめ、その他の酵素活性も2倍程度の上昇が見られた。mRNA発現量も、リノール酸添加食群と比べCLA添加食群ではミトコンドリアの脂肪酸酸化系酵素は1.4~2.3倍に、ペルオキシソーム酵素は2.0~2.7倍増加していた。

Petersら²⁴⁾はCLAがPPAR α のリガンド・活性化因子として機能することを報告していることから、CLAはPPAR α を介した経路により脂肪酸酸化系を上昇させる可能性が考えられる。また、CLAは肝臓で不飽和脂肪酸の脱飽和化を行う $\Delta 6$ -および $\Delta 5$ -脱飽和酵素のmRNA発現量も大きく増加させた。両脱飽和酵素はリノール酸を前駆体としてエイコサノイド産生の基質となるアラキドン酸を生成する代謝経路の律速酵素である。このことからCLAによる両脱飽和酵素の発現変化はエイコサノイド産生に影響を与え、エイコサノイドが関与するシグナル伝達経路を介して肝臓脂肪酸酸化系亢進に寄与している可能性もある。

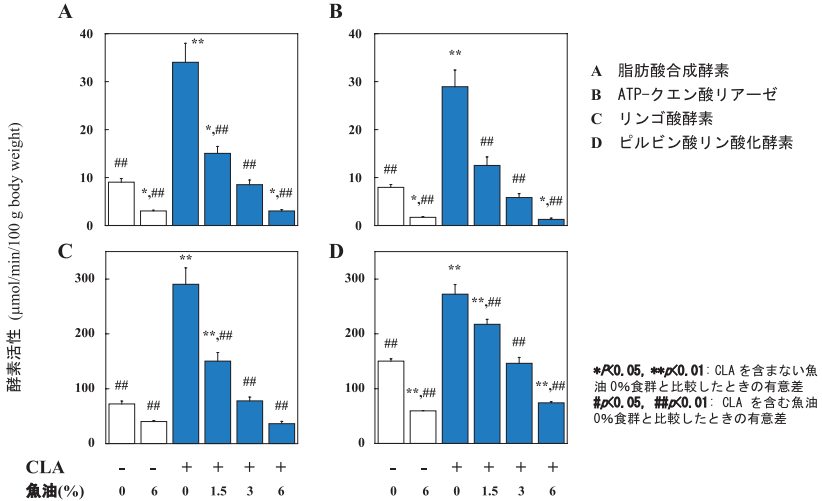
CLA摂取により肝臓脂質濃度は著しく上昇するが、血清中の中性脂肪、コレステロール濃度にはあまり変化が見られない。CLAによる肝臓脂肪酸酸化の増加はVLDLの生成減少、反対に脂肪酸合成上昇はその増加を引き起こすと考えられる。従ってCLAによって脂肪酸酸化と合成が同時に上昇するような条件ではVLDL生成量に大きな変化はなく、よって血清脂質濃度にも影響を与えないと考えられる。

以上の結果からCLAによる肝臓脂肪蓄積は、主に脂肪酸合成の亢進に基づくと考えられた。CLAは脂肪酸酸化を上昇させるが、その程度は肝臓脂肪蓄積を妨げるほどの変化ではないのであろう。CLAによる脂肪酸合成の亢進はSREBP-1が関与するシグナル伝達系を介して行われると推察される。しかしこの脂肪酸合成増加はCLAが直接的にこのシグナル伝達系に影響を与えるというよりも、白色脂肪組織量の大きな減少に起因した二次的な現象である可能性がある。白色脂肪組織はグルコースを脂肪酸に変換して蓄えることにより、全身のグルコース代謝に重要な役割を果たしている。よって、白色脂肪組織の大きな減少はグルコース代謝を遅延させる可能性がある。実際に、CLA添加食を摂取したマウスの血清グルコース濃度はリノール酸添加食あるいはパルミチン酸添加食群と比較して有意に上昇しており²⁵⁾、CLAによってグルコース恒常性が阻害されていることが示唆された。肝臓では主にグルコースが前駆体となり脂肪酸が合成される。従って、CLAによる肝臓での脂肪酸合成増加は脂肪組織の大きな減少に伴うグルコース代謝遅延を補うための補償的代謝応答である可能性がある。

4. これからの食品成分による脂質代謝調節メカニズムの研究

これまでに生体の脂質代謝を調節する因子として数多くの食品成分が発見され、それぞれの生理作用と調節メカニズムが研究されてきた。しかしこれらの研究の多くが特定の食品成分を単独で摂取した場合について検証したものであり、実際にヒトが日常の食生活から摂取する状況と一致するとは言えない。また、摂取する側のヒトでも年齢や性別などによって一人一人が異なる代謝状態を持つことから、同じ食品成分でも全てのヒトに同じ生理作用があるとは限らない。最近、オーダーメイド医療のような個人に適応した処方を提供するシステムの開発が進

図8 共役リノール酸+魚油の肝臓脂肪酸合成系酵素活性の変化



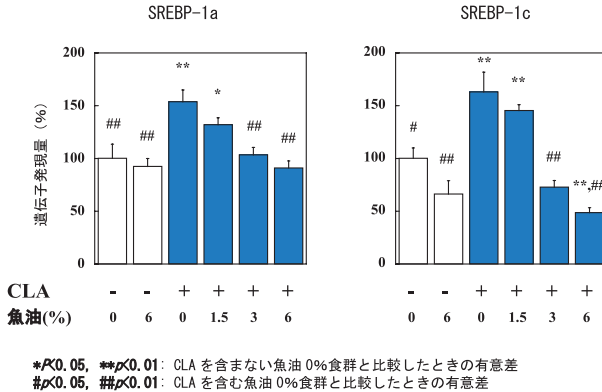
められているが、食生活の分野でも食べる人のライフステージや身体状況に応じて、健康を維持・増進できるような食品や関連する情報を提供できるシステムを創出することが可能になるかもしれない。そのような新しい食品の機能性を探ることを目的とした、これからの食品機能研究の方向性について述べてみたい。

4.1 食品成分の組み合わせ

ヒトは日常の食生活で生理活性のある食品成分を単体で摂るのではなく、複数成分の集合体である食品という形で摂取し、通常、一度の食事でいくつかの食品を組み合わせで食べている。それぞれの食品成分には異なる生理活性があること、また、それらを同時に摂取した場合には食品成分同士で相乗・相加作用、あるいは相殺作用が生じることが考えられる。従って、食品成分の生体への作用をより現実に則して研究するとき、食品を丸ごと摂取することや複数の食品を一緒に摂取することを想定しなくてはならない。このような複数の食品成分を同時に摂取する状況を検討するにあたり、私どもは食品成分を単独で摂取した場合と複数と同時に摂取した場合とは、生体の脂質代謝にどのような影響の違いが生じるのかを検討する研究を進めている。ここではその一例として、共役リノール酸と魚油との組み合わせについて実験した結果を紹介する。

先に述べたように、マウスがCLAを摂取すると白色脂肪組織重量が大きく減少する一方、肝臓脂質の蓄積量は著しく増加する。そこで、肝臓での脂肪酸合成系酵素のmRNA発現量を強く抑制する作用がある魚油をCLAとともに食餌に添

図9 共役リノール酸+魚油のSREBP-1遺伝子発現量の変化



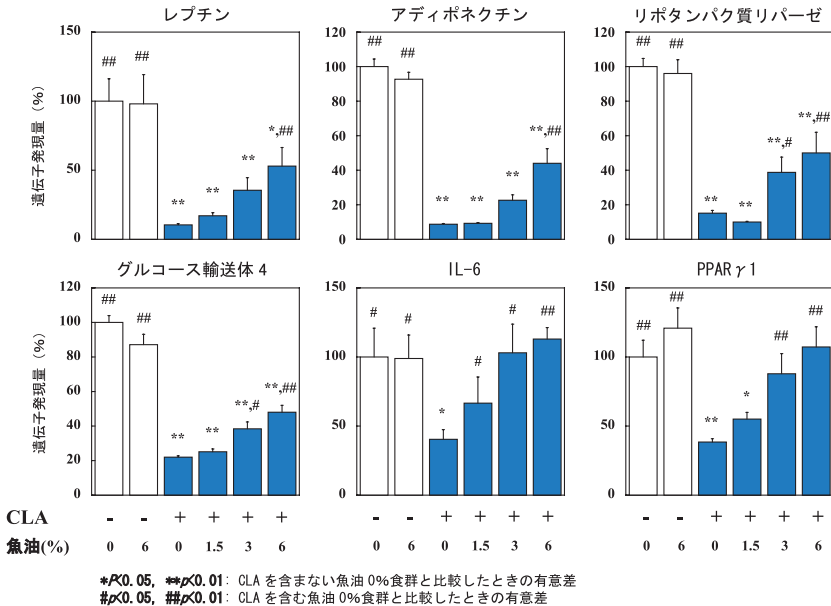
加したとき、肝臓脂質濃度や脂質合成系酵素活性およびmRNA発現量、血清中脂質濃度、脂肪組織での脂質代謝関連遺伝子発現量にどのような影響が見られるか観察した²⁵⁾。リノール酸1.5%を含みパーム油で総脂肪含量を15%に合わせた食餌(CLA無添加食)を摂取したマウス群と比較して、この食餌に含まれるパーム油のうち6%を魚油で置換した食餌を摂取した群との間には白色脂肪組織重量の差はなかったが、1.5%のリノール酸をCLAに置き換えた食餌群ではCLA無添加食群と比べて大きな(75~90%)白色脂肪組織の減少が観察された。しかし、CLA含有食に魚油を1.5、3あるいは6%添加すると量依存的に脂肪組織重量が増加し、CLAによる体脂肪減少作用が緩和された。CLA無添加食に魚油を添加しても肝臓重量に差は見られなかった。CLA添加により肝臓重量と肝臓の中性脂肪とコレステロールのレベルは大きく増加するが、魚油の同時添加はその量に依存してこれらの値を低下させた。魚油がCLAによる肝臓脂質濃度増加を抑制するメカニズムを検討するため、CLAによる脂質濃度増加の第一の要因と見られる肝臓での脂肪酸合成系酵素活性とmRNA発現量の変化を調べた。CLAにより著しく増加した脂肪酸合成系のこれらのパラメーターは魚油添加により低下した(図8)。同時に、脂肪酸合成系酵素の遺伝子発現量を調節するSREBP-1のmRNA発現量も魚油により減少した。さらに、SREBP-1のアイソフォームであるSREBP-1aとSREBP-1cとを比較すると、後者で魚油による発現量の抑制が大きく(図9)、SREBP-1cが肝臓の脂肪酸合成系を制御する主要な転写因子であることが示唆された。一方、肝臓脂肪酸酸化系については、CLA無添加食に魚油を添加した群では酵素活性ならびにmRNA発現量は上昇するのに対し、CLA添加食に魚油を添加したものでは明確な上昇は認められなかった。従って魚油がCLAの肝臓脂質濃度上昇を抑制する効果は、脂肪酸合成の阻害が主要な要因と考

えられた。

魚油はCLAによる著しい体脂肪減少を緩和する。この効果を、睪丸周辺白色脂肪組織での代謝を制御するタンパク質のmRNA発現量変化をパラメーターとして検討した²⁵⁾。前述の実験²³⁾結果と一致して、レプチン、GLUT4、PPAR γ のmRNA量はCLA無添加食と比較してCLA添加食群で著しく低下し、加えてLPL、アディポネクチン、IL-6など様々な遺伝子の発現量も低下することが観察された。しかしいずれも魚油を同時添加することにより、CLA無添加食群での発現量の50-110%程度にまで回復した(図10)。一方CLA無添加食に魚油を添加した食餌では、これらのmRNA発現量には変化が見られなかった。また、IL-6は脂肪細胞の分化誘導を阻害すること²⁶⁾、さらにマウスでIL-6の産生量増加は脂肪組織量の減少と肝臓脂質合成増加を引き起こすことが報告されている²⁷⁾。しかし我々の実験では、CLA添加によって脂肪組織のIL-6のmRNA発現量が減少し、魚油の同時摂取により発現量が増加したため、IL-6が脂肪組織量の調節に関与するとする仮説とは一致しない。CLAと魚油による脂肪組織量調節作用を明らかにするには、別のメカニズムについても検討しなければならない。

以前の実験で、CLA食によって血清グルコース濃度とインスリン濃度が上昇することが観察されている^{23,25)}。本実験ではCLA無添加食に魚油を6%添加して

図10 共役リノール酸+魚油の脂肪組織での遺伝子発現量変化



も血清グルコース濃度に変化は見られなかった。CLA食に魚油を1.5または3%添加するとCLAだけを添加した群と比べて血清グルコース濃度は上昇するが、魚油添加量を6%に増やすとCLA無添加食と同程度のレベルに減少した²⁵⁾。血清グルコース濃度を調節するインスリンについても測定したところ、グルコース濃度と同様にCLA食に魚油を1.5あるいは3%添加するとCLAによるインスリン上昇効果は促進されたが、魚油添加量を6%にするとCLA無添加食と同等のレベルになった。先の実験で²⁶⁾、CLA摂取により肝臓での脂肪酸合成が上昇し脂質蓄積濃度が増加する原因は白色脂肪組織が著しく減少しグルコース恒常性が失われるためだと仮説を立てたが、CLA添加食に魚油を同時添加するとその量の増加につれ脂肪組織量が回復し、インスリン抵抗性や高グルコース血症が改善した。従って白色脂肪組織は全身のグルコース代謝を調節に関与し、脂肪組織の著しい減少などによりその機能が失われると肝臓が血清中の余剰グルコースから脂質を合成してグルコース恒常性を保とうとするメカニズムが働くかと推察された。

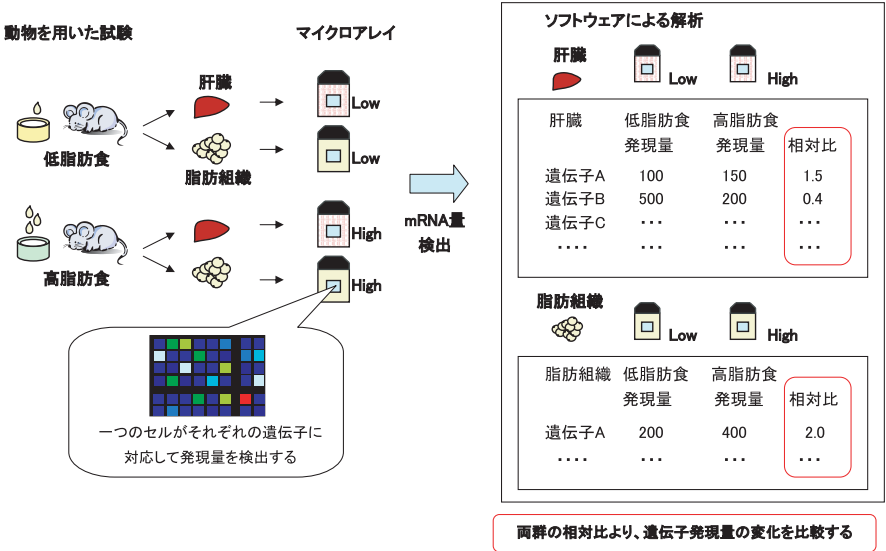
4.2 食品成分による脂質代謝制御機構の新しい研究方法：DNAマイクロアレイを用いたニュートリゲノミクス研究

脂質代謝を制御する食品成分についてはこれまで数多く紹介されているが、食品を摂取するヒトの側から考えると、性別、年齢、人種、体質、疾患の有無、生活様式などの違いにより、食品成分に対する感受性が個人で異なることが考えられる。よって、同じように食品成分を摂取しても個人によって有効に作用する場合もあれば、全く作用を示さない場合、あるいは逆にマイナスの作用を示す場合もあると思われる。また、このような食品成分のプラス効果を期待したサプリメントや食品が多く市販され手軽に摂取できるようになったが、実際どれくらい摂取すれば生体に好影響を及ぼすのかは個人によって異なってくるであろう。食への関心がますます高まる現代において、人々は健康を保ち気になる症状を改善するための情報を次々と手に入れているが、それらを実践することは誰にとっても安全で効果があるのかどうかは確実でない。

このような食品成分の作用の多様性、摂取する側の多様性に対応した研究分野として、ニュートリゲノミクスと呼ばれる新しい領域が作られている。栄養(nutrition)とゲノム科学(genomics)を合わせた造語で、様々な臓器や組織で発現する数万もの遺伝子に対して、生体が摂取した食品成分がどのような発現変動を与えるかを計測することにより、どのような生理作用を発現するかを予測するものである。この数万もの遺伝子発現量を解析するのに使われるのがDNAマイクロアレイと呼ばれるツールである。DNAマイクロアレイとはDNAチップとも呼ばれ、ガラスなどの担体上にさまざまな遺伝子配列由来のオリゴヌクレオチドあるいはcDNA断片を高密度に配置し固定化したものの総称である。DNAマイクロアレイを用いることにより、数千から数万の遺伝子の発現変化を一度の実験

図11 DNAマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子解析のモデル

例:高脂肪食と低脂肪食での比較



で網羅的に解析することが可能になった。一度の実験で多数の遺伝子発現を解析できるため、食品成分の種類や量、組み合わせを変えた研究や、食品成分を摂取する対象のコンディションを変えた研究にも対応し、それぞれの条件間での比較も容易になる。

食品成分の作用は直接ヒトで検証するのが一番確実であるが、安全性や倫理面で問題があるため、一般的には実験動物や細胞などをモデルとして用いるのが現実的である。DNAマイクロアレイを用いた食品成分の生体への作用性を解析する研究として、ここではラットが低脂肪食あるいは高脂肪食を摂取したとき、脂質代謝が盛んな肝臓と脂肪組織で発現する遺伝子にどのような差が現れるかを検討するときの例を示す(図11)。それぞれの食餌を一定期間摂取させた動物の肝臓や脂肪組織より抽出したRNAを用いて、その臓器で発現しているあらゆる遺伝子のmRNA量をDNAマイクロアレイで測定し、食餌群間での差を比較する。DNAマイクロアレイを用いることで数千から数万の遺伝子の発現量をスクリーニング的に一度に解析でき、発現量に変化が見られたものはその遺伝子名と機能をデータベースから検索して、それら遺伝子の働きから食事の脂質含量の違いによる生理作用として推定できる。

各食品成分がヒトではどのような作用を示すかは、動物実験の結果からある

程度類推することは可能であっても、動物実験の結果をそのままヒトに当てはめることはできない。ヒトを対象としたときの食品成分の影響を調べる場合、採取時に生体へのダメージを最小限に留めることができる血液や尿などのサンプルを用い、生化学的分析値、一部の遺伝子やタンパク質の発現量、酵素活性の変動から食品成分の作用を推定するに留まる。動物や細胞を用いた実験ではヒトでは採取も難しい生検サンプルが得られ、DNAマイクロアレイを用いることでより多くの遺伝子発現量の変動を捉えて食品成分の作用性を広く観察することができるため、広範な代謝系への影響を検討することが可能である。動物や細胞実験ではDNAマイクロアレイの解析と併せて従来の生化学的分析なども実施し、これらのデータを蓄積することで、動物や細胞モデルでの機能性とヒトでの機能性に相関性が見出され、ヒトでの食品成分の作用性をより正確に推定することができるようになる。またDNAマイクロアレイの利用により、これまで知られていなかったバイオマーカーの開発にも役立てることができると期待される。

5. おわりに

食品に含まれる機能成分とその作用性について、ここ数十年の間に多くの物質や作用メカニズムが解明されてきており、数々の機能性食品の開発や消費者へ食と健康を考えるための情報提供に役立てられてきた。脂質代謝の制御に関わる食品成分についても、肥満をはじめとした心疾患や糖尿病などの深刻な生活習慣病の予防に有効であると大いに注目を集めている。しかし食の情報が氾濫する現代では、健康維持に有効な食品成分はどれくらい、どの食品からどのようにして摂ればいいのか、結局どうすれば一番いいのか、など混乱があるのが現状である。また、必要かつ十分な栄養素や機能性成分の量はライフスタイルの多様化や個人の特性があることから、それぞれのヒトで異なるはずである。さらに、健康の維持や増進のためにと特定の栄養素や成分を過剰に摂取する人、好きなものは好きなだけ食べて足りないと思う栄養素はサプリメントで補えばいいという考え方、または忙しすぎて食事に手間がかけられないと適当に済ませてしまうなど、食事そのものをおろそかにしているケースも多く見受けられる。本来、食事は人間の本能的な欲求を満たすものであるとともに、生活の中で大きな楽しみとして占めるはずのものである。政府は食育基本法を制定し、国民一人一人が「食」について意識を高め、『自然の恩恵や「食」に関わる人々の様々な活動への感謝の念や理解を深めつつ、「食」に関して信頼できる情報に基づく適切な判断を行う能力を身に付けることによって、心身の健康を増進する健全な食生活を実践するために、今こそ、家庭、学校、保育所、地域等を中心に、国民運動として、食育の推進に取り組んでいくこと（食育基本法附則より）』を、国を挙げて実行に取りかかっている。食品成分の機能性研究もこのような流れに沿って、食品に含まれる成分の重要性だけでなく、食品や食事そのものが持つ魅力と機能性を明らかにし

て、全ての人々が十分理解し健康増進に役立てていただけるように努力しなければならないと感じている。

(食品機能部 栄養化学研究室 高橋 陽子)

引用文献

- 1) Murray, R. K. et al.: Harper's Biochemistry 22nd edition, Appleton&Lange, Norwalk, CT, 1990
- 2) 井手隆: 化学と生物 32:106-113, 1994
- 3) 井手隆: 日食工誌 48:555-563, 2001
- 4) Pegorier J. P., Le May C., Girard J.: *J. Nutr.* 134:2444S-2449S, 2004
- 5) Horton J. D., Goldstein J. L., Brown M. S.: *J. Clin. Invest.* 109: 1125-1131, 2002
- 6) 井手隆: 化学と生物 37:443-450, 1999
- 7) Lee C. H., Olson P., Evans R. M.: *Endocrinology* 144:2201-2207, 2003
- 8) Klierer S. A. et al.: *Recent Prog. Horm. Res.* 56: 239-263, 2001
- 9) 井手隆, 高橋陽子: 農業および園芸 74:264-276, 1999
- 10) Fruhbeck G. et al.: *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280:E827-E847, 2001
- 11) 杉浦甫, 船津丸貞幸, 渡辺恵子: *Molecular Medicine* 36:236-242, 1999
- 12) 川田照雄, 杉本悦郎: 実験医学 14:2209-2214, 1996
- 13) Ide T. et al.: *Biochim. Biophys. Acta* 1485:23-25, 2000
- 14) Kim H. J., Takahashi M., Ezaki O.: *J. Biol. Chem.* 274:25892-25898, 1999
- 15) Yoshikawa T. et al.: *J. Biol. Chem.* 277:1705-1711, 2002
- 16) Forman B. M, Chen J., Evans R. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:4312-4317, 1997
- 17) Takahashi Y., Ide T.: *Br. J. Nutr.* 84:175-184, 2000
- 18) Takada R., Saitoh M., Mori T.: *J. Nutr.* 124:469-474, 1994
- 19) Kumamoto T., Ide T.: *Lipids* 33:647-654, 1998
- 20) Takahashi Y., Ide T., Fujita H.: *Comp. Biochem. Physiol. B* 127:213-222, 2000
- 21) Chin S. F. et al.: *J. Food Comp. Anal.* 5:185-197, 1994
- 22) Takahashi Y. et al.: *Comp. Biochem. Biophys. B* 133:395-404, 2002
- 23) Takahashi Y. et al.: *Biochim. Biophys. Acta* 1631:265-273, 2003
- 24) Peters JM et al.: *Biochim. Biophys. Acta* 1533:233-242, 2001
- 25) Ide T.: *Diabetes* 54:412-423, 2005
- 26) Lagathu C. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 311:372-379, 2003
- 27) Metzger S. et al.: *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 281:E957-E965, 2001

