

## 略 歴

- 2002年 3月 静岡県立大学大学院  
生活健康科学研究科  
博士後期課程 修了  
(博士 食品栄養科学)
- 2002年 4月 ポストドクトラルフェロー  
NICHD, NIH
- 2005年 9月 静岡県立大学食品栄養科学部  
栄養学科 助教
- 2012年 4月 山梨大学生命環境学部  
地域食物科学科 准教授
- 2016年 12月 山梨大学生命環境学部  
地域食物科学科 教授  
現在に至る

## 中鎖脂肪はカロテンの吸収促進を介し 生活習慣病発症リスクを低減させるか？

### 【背景・目的】

中鎖脂肪 (MCT) は、長鎖脂肪 (LCT) と比べて $\beta$ 酸化において素早くアセチル CoA に代謝されエネルギー源として使われるため、肥満予防として有効である。その一方で、MCT による過剰なアセチル CoA の産生は肝臓において脂肪酸合成をもたらすことが報告されている。一方、カロテノイドの一種であるリコペンは、脂肪細胞からインスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの分泌を高めることを我々は第71回日本栄養・食糧学会で報告した。しかしながら、中鎖脂肪とリコペンの共投与による肝臓の糖・脂質代謝への影響は明らかではない。そこで本研究では、中鎖脂肪とトマトパウダーの摂取が肝臓における糖・脂質代謝に関連する遺伝子の発現およびホルモンの血中濃度に与える影響を検証した。

### 【方法】

6週齢のSD系ラットをコントロール食群 (con 群 P:F:C = 64:16:20)、長鎖脂肪食群 (LCT 群 P:F:C = 35:49:16)、長鎖脂肪を中鎖脂肪に置き換えた中鎖脂肪食群 (MCT 群)、およびそれぞれにトマトパウダーを5%添加した群 (con + T、LCT + T、MCT + T 群) に分け、自由摂食させた。試験食摂取開始から15日目に剖検し、組織を採取した。肝臓の中性脂肪量や血清中のリコペンやホルモン濃度をHPLC法やELISA法などにより、肝臓のmRNA量をqRT-PCR法により定量した。

### 【結果】

剖検時の血清中リコペン濃度および肝臓中リコペン量は、中鎖脂肪の共投与によって増大傾向 (血清) もしくは増大 (肝臓) を示した。随時血糖において有意な差は認められなかった。インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの高分子型の血中濃度は、MCT 群に比べ MCT + T 群で顕著に

高く、絶食時に糖・脂質代謝を促進する FGF-21 の血中濃度は低かった。肝臓における解糖系関連遺伝子 (*Gck1*、*Pfk1*、*Pdhal*、*Pc*) や脂肪酸合成関連遺伝子 (*Acaca*、*Acacb*、*Fasn*、*Scd1*) の発現は con 群と比較して MCT 群で有意に増大したが、MCT 群と比較して MCT + T 群では顕著に低下もしくは低下傾向した。一方で解糖系や $\beta$ 酸化の活性化により生成増大する血清中ケトン体濃度では有意差が認められなかった。肝臓重量あたりの中性脂肪量は、MCT 群に比べ MCT + T 群で低い傾向があった。

## 【考察】

リコペンを含むトマトパウダーの摂取は、中鎖脂肪摂取で観察される肝臓における解糖系や脂肪合成の増大の活性化を抑制すると考えられた。このことは、摂取した中鎖脂肪を効率よく燃焼させるとともに、全身へ糖を分配させることによって脂肪肝のリスクも低減させると考えられた。

## 序 論

カロテノイドは、ニンジンやミカン、トマトなどに含まれる呈色性の主要な食品成分の一つであり、活性酸素種の中でも一重項酸素を効率よく除去することができる<sup>(1-3)</sup>。そのため、生活習慣病の発症予防に有効である可能性が考えられている。カロテノイドの内、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -カロテンや $\beta$ -クリプトキサンチンなどは生体内で必要に応じてビタミン A に変換されることから、プロビタミン A と呼ばれている。ビタミン A は成長や骨および神経系の発達、上皮細胞の分化・増殖や免疫能などにおいて重要な栄養素であるが、その過剰摂取は、頭蓋内圧の上昇、悪心、頭痛、皮膚炎、関節や骨の痛み、肝障害などの様々な症状を示す<sup>(4)</sup>。プロビタミン A であるカロテノイドは、一般的に上記のような急性的な過剰障害は少ないと考えられている。7 報をまとめたメタアナリシスでは、 $\beta$ -カロテンの摂取は全死亡率の低下と関連があることが報告されている<sup>(5)</sup>。しかしながら男性喫煙者を対象にしたコホート追跡調査では、 $\beta$ -カロテン摂取群は対照群よりも肺がんの発生率が高くなったという報告もある<sup>(6)</sup>。それゆえ、 $\beta$ -カロテンの摂取は、一部の疾患抑制とは関連があるが、肺がんなどの重篤な疾患を誘導する可能性がある。一方で、リコペンやルテインなどのカロテノイドは、ビタミン A に変換されることはなくそのまま体内に蓄積される。それゆえ、リコペン、ルテインは、プロビタミン A であるカロテノイドより体内で効率よく活性酸素種を除去することが期待され、また、 $\beta$ カロテン等で観察される過剰障害が観察されにくい可能性が考えられる。

これまでの 21 報の介入研究を解析したメタアナリシスでは、トマトやリコペンの摂取と心血管疾患リスク因子の低下と関連があることが報告されている<sup>(7)</sup>。一方、15 報の介入研究を再解析したメタアナリシスでは、トマトやリコペンの摂取と大腸がんとの関連は観察されないが<sup>(8)</sup>、42 報の介入研究をまとめたメタアナリシスでは、食事からのリコペンの摂取は、前立腺がんの発症リスク低下と関連することが報告されている<sup>(9)</sup>。さらに、長期のビタミン A、 $\beta$ -カロテン、ルテインの摂取は、肺がんの発症の増加との関連が観察されるが、リコペンの摂取では肺がん発症増加との関連は観察されない報告がされている<sup>(10)</sup>。これらの研究成果はいまだ断片的であるが、リコペンは、他のカロテノイドと比較して心血管疾患やがん等の生活習慣病の予防に有効である可能性を示唆している。

これまでの研究によってリコペンと代謝性疾患発症抑制の分子機構については以下のように明らかとなっている。例えば、高飽和脂肪高コレステロール食を与えたマウスにおいて、リコペンを豊富に含む

トマトの皮が、血中過酸化脂質反応、インスリン抵抗性および耐糖能異常を抑制した結果が報告されている<sup>(11)</sup>。また、高脂肪食を与えたマウスにおいて、転写因子である SREBP-1c およびその下流域の遺伝子発現を抑制することによって、脂肪蓄積や炎症、インスリン抵抗性を抑制するという報告もある<sup>(12)</sup>。しかしながら、リコペンが他のカロテノイドと比較して、強い生活習慣病の発症抑制が観察される分子機構は、いまだ不明な点が多い。近年、我々は 3T3-L1 脂肪細胞において、リコペンは、 $\beta$ -クリプトキサンチンおよび $\beta$ -カロテンと比較して、炎症性サイトカインの一種である TNF- $\alpha$ 誘導性の *Adipoq* や *Fabp4* などのインスリン感受性遺伝子の発現低下を抑制することを明らかにした。このことは、リコペンがインスリン感受性遺伝子の発現を増大させ、インスリン抵抗性および耐糖能異常などを抑制することにより、2型糖尿病などの生活習慣病の抑制に有効であることを示唆している。

しかしながら、リコペンの脂溶性は他のカロテノイドより高く、小腸吸収細胞より吸収される際に十分なミセル化が必要となることなどから、生体利用効率は低くなっており、これまでにナノ化技術などを用いた様々な改善が試みられてきた<sup>(13)</sup>。食品として摂取する場合には、カロテノイドは油脂と同時摂取することによりその吸収効率は増大すると考えられている。実際に健常成人を対象とした試験において、茹でたブロッコリー約 75g をマヨネーズ 15g とともに同時摂取することにより、ブロッコリーのみの単独摂取に比べ、血中 $\beta$ -カロテン量が約 2.5 倍増大したという報告がある<sup>(14)</sup>。しかしながら、ラードや植物油に多く含まれている長鎖飽和脂肪や n-6 系長鎖不飽和脂肪の過剰摂取は、心血管疾患リスクの増大および肥満を促進する<sup>(15,16)</sup>。

近年、母乳やココナッツオイルに多く含まれ、炭素数 8-12 の脂肪酸からなる中鎖脂肪 (MCT) が、迅速な栄養補給や肥満予防に効果的であるとして注目を集めている。一般的な炭素数 14 以上の脂肪酸からなる長鎖脂肪 (LCT) と比べて、中鎖脂肪 (MCT) は小腸より吸収後、門脈を介して直接肝臓へ運ばれることや、 $\beta$ 酸化が行われるミトコンドリア内膜を通過する際にカルニチンという特異的な担体を必要としないことなどから、 $\beta$ 酸化において素早くアセチル CoA に代謝されエネルギー源として使われるため、肥満予防としても有効である。LCT の長鎖脂肪酸の一部を中鎖脂肪酸に置換した構造脂質 (LMCT) をラットに投与すると、肝臓における $\beta$ 酸化の促進に関与する酵素の発現が増大すること<sup>(17)</sup>、クエン酸回路の初発酵素であるクエン酸合成酵素や電子伝達系の律速酵素の活性が増大すること<sup>(18)</sup>が報告されている。さらに、MCT がラット肝臓において脂肪酸合成経路を活性化することや<sup>(19)</sup>、ヒトの血中ケトン体濃度を増大させることが報告されている<sup>(20)</sup>。これらのことから、MCT は自身がエネルギーになりやすだけでなく、他のエネルギー代謝経路全般の活性化にも寄与している可能性が示唆される。上記のエネルギー代謝経路はインスリン作用による調節を受けるため、MCT の投与はインスリン感受性増大に繋がる可能性が考えられる。実際に、LMCT をラットに投与することにより LCT 誘導性のインスリン抵抗性が抑制されるという成果が報告されている<sup>(21)</sup>。また、MCT による炎症や活性酸素種産生の抑制や、2型糖尿病や脂肪肝の抑制との関連はこれまでに多く報告されている<sup>(22-24)</sup>。一方で、上記の経路の過剰な活性化は、脂肪の蓄積をもたらすため、MCT の過剰摂取は、脂肪肝の発症リスクを期待ほど低下させない可能性も考えられる。

近年、我々は、中鎖脂肪酸は小腸吸収細胞様 Caco-2 細胞において、管腔からのカロテンの取り込みに関与する SCARB1 タンパク質や、カロテンの小腸吸収細胞からの輸送に関与するキロミクロン形成タンパク質 (APOB, APOA) の遺伝子発現を顕著に増大させることを明らかにした (未発表)。上記の研究成果は、MCT はリコペンなどのカロテノイドの吸収促進を介し、生活習慣病のリスクを低減させる可能性が高いことを示唆している。

そこで本研究では、活性酸素種を効率よく除去するリコペンを豊富に含むトマト抽出物と、素早く代謝され肥満予防やインスリン感受性向上に寄与すると考えられるMCTを、ラットに共投与することによってリコペンの吸収と血清および肝臓における代謝への影響を検証した。

## 実験方法

### 動物実験および試料の採取

5週齢のSD系ラットを日本SLC株式会社(静岡、日本)から搬入後、3日間AIN93G食に馴化させた。その後対照食群(AIN93G基準食、con群P:F:C=16:64:20)、長鎖飽和脂肪食群(LCT群P:F:C=49:35:16)、長鎖飽和脂肪を中鎖飽和脂肪に置き換えたMCT食群(MCT群)、およびそれぞれにトマト抽出物を5%添加した群(con+T、LCT+T、MCT+T群)に各群6匹ずつ分け、それぞれの食餌および水を自由摂取させた。体重測定、体調および行動観察、餌交換を週に2度行った。試験食摂取開始から15日目に安楽死させ、血液、肝臓、腸間膜脂肪および副腎丸脂肪を摘出した。採取した血液および液体窒素で急速凍結を行った肝臓は、血液-80℃で保存した。また、ラットを飼育した動物宿舎は、室温23±2℃、湿度50±00%、12時間明暗サイクル(明期6-18時、暗期18-6時)の条件である。

### 肝臓における定量的リアルタイムRT-PCR

採取した肝臓組織0.1gあたり1mLの細胞溶解液(4M guanidine thiocyanate, 25mM sodium citrate pH7.5, 0.5% sarcosyl, 0.1M 2-mercaptoethanol)を加え、ホモジェナイズした。500μLずつ分注し、50μLのpH4.0 2M 酢酸ナトリウムを加え10秒攪拌したのち、0.5mLの平衡酸性フェノール(水飽和)を加え20秒攪拌し、0.1mLのクロロホルム-イソアミルアルコール(49:1)を加えた。1分間攪拌して氷上に15分置いたのち、17,800g 4℃で20分間遠心し、上清を新しいチューブに回収した。450μLのイソプロパノールを加え、攪拌したのち-30℃で15分間放置した。17,800g 4℃で30分間遠心したのち遠心し、上清を除いた。RNAのペレットを300μLのTEに溶解したのち、75μLの10M LiCl(1/4vol)を入れて2時間放置した。17,800g 4℃で10分間遠心し、上清を捨てた。1mLの75%エタノールを加え、17,800g 4℃で10分間遠心し、上澄みを捨て、もう一度1mLの70%エタノールを加え、17,800g 4℃で10分間遠心した。乾燥させたのち、DNase RNase free waterに溶解し、総RNAを抽出した。次に、抽出した総RNAを鋳型とし、Superscript III逆転写酵素(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)を用いて逆転写反応を行った。合成されたcDNAを用い、Light Cycler System(Roche Diagnostics, Basal, Switzerland)によりPCRを行った。PCR反応液は、Light Cyclar 480 SYBR Green I Master、鋳型DNA、10μM forward primer、10μM Reverse primerを、DNase RNase free waterで調整したものを用いた。なおmRNA発現量は、内部標準として*Tf2b*のmRNA発現量で補正し、相対値として表した。

### 血清および肝臓における各種タンパク質などの測定

血清中高分子アディポネクチンの測定は、レビス高分子アディポネクチンキット(AKMAN-011、株式会社シバヤギ、群馬、日本)を用い、ELISA法により測定した。血清中FGF-21の測定は、Quantikine ELISA(MF2100, R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN)を用い、ELISA法により測定した。血清および肝臓中の中性脂肪濃度の測定は、Serum Triglyceride Quantification Kit

(STA-396, CELL BIOLABS, INC. USA)を用い、比色法によって測定した。血清および肝臓中リコペン濃度は、肝臓切片を切削しメタノール+0.1% butylated hydroxytoluene 溶液で抽出した後、株式会社日研ザイル株式会社 日本老化制御研究所 (静岡、日本) に委託し、HPLC 法により測定した。血清中ケトン体はケトン体キットオートワコー総ケトン体 (富士フィルム和光純薬株式会社、大阪、日本)を用い、酵素サイクリング法により測定した。

## 統計処理

実験結果は、平均値±標準誤差で示した。con 群と LCT 群、LCT 群と MCT 群、MCT 群と MCT + T 群でそれぞれ Student's *t*-test を行い、 $p < 0.05$  を統計的有意と判断した。

## 結果

### MCT とトマト抽出物の共投与がラットの摂餌量と組織重量、および肝臓・血中生化学パラメーターに及ぼす影響

各食餌が摂食量に及ぼす影響：LCT 群と比べ MCT 群で有意に少なかったが、MCT 群と比較して MCT + T 群で有意に高かった。その他の群間では有意な差は確認されなかった。

各食餌が組織重量に及ぼす影響：肝臓重量および副睾丸脂肪重量においては、いずれの群間にも有意差は観察されなかった。一方で腸間膜脂肪重量において、LCT 群では対照食と比べて顕著に重量が高かったが、MCT 群では LCT 群と比較して有意に低かった。

各食餌が血糖値に与える影響：各群間で有意差は示されなかった。

各食餌が血中ケトン体濃度を与える影響：対照食群と比較して、LCT 群で有意に高かった。その他では有意差は認められなかったが、LCT 群と比較して MCT 群で高い傾向が観察された。

食餌が血清中および肝臓中の中性脂肪濃度を与える影響：血清中の中性脂肪濃度は、対照食群と比較して LCT 群で有意に高かった。一方、他の群間で有意な差は認められなかったが、トマト抽出物の添加により、LCT + T 群、MCT + T 群でそれぞれ LCT 群、MCT 群より低い値を示す傾向が観察された。肝臓中の中性脂肪に関しては、LCT 群の中性脂肪濃度は、対照食群と比較して有意に高かった。他の群間で有意な差は認められなかったが、トマト抽出物の添加により、MCT + T 群で MCT 群より低い値を示す傾向が観察された。(Table 1)

Table 1 MCT とトマト抽出物の共投与がラットの摂餌量と臓器重量、および肝臓・血中生化学パラメーターに及ぼす影響

|               | 対照食群        |             | LCT群            |              | MCT群          |     |              |    |
|---------------|-------------|-------------|-----------------|--------------|---------------|-----|--------------|----|
|               | control     | トマト         |                 | トマト          |               | トマト |              |    |
| 摂餌量[g]        | 493 ± 15    | 532 ± 9     | 490 ± 5         | 492 ± 24     | 424 ± 8       | ##  | 467 ± 12     | \$ |
| 肝臓重量[g]       | 11.7 ± 0.82 | 12.7 ± 0.27 | 11.4 ± 1.39     | 13.0 ± 0.50  | 11.5 ± 0.23   |     | 12.6 ± 0.56  |    |
| 腸間膜脂肪[g]      | 2.20 ± 0.24 | 2.49 ± 0.25 | 4.14 ± 0.52 **  | 3.64 ± 0.23  | 2.60 ± 0.18 # |     | 2.71 ± 0.47  |    |
| 副睾丸脂肪[g]      | 3.66 ± 0.38 | 3.51 ± 0.32 | 6.79 ± 1.53     | 5.78 ± 0.36  | 3.69 ± 0.35   |     | 4.11 ± 0.38  |    |
| 血糖値[mg/dL]    | 161 ± 6.7   | 163 ± 4.8   | 157 ± 5.1       | 155 ± 2.9    | 158 ± 5.1     |     | 163 ± 4.7    |    |
| ケトン体[μmol/L]  | 55.5 ± 9.8  | 96.7 ± 11.7 | 148.6 ± 27.2 ** | 223.8 ± 33.2 | 218.4 ± 35.5  |     | 237.1 ± 39.0 |    |
| 血中中性脂肪[mg/dL] | 33.9 ± 0.22 | 33.3 ± 0.69 | 46.7 ± 0.99 *   | 40.6 ± 0.92  | 44.6 ± 0.93   |     | 41.8 ± 0.90  |    |
| 肝臓中性脂肪[mg/肝臓] | 16.4 ± 1.7  | 11.7 ± 2.1  | 28.4 ± 2.4 **   | 28.9 ± 4.5   | 22.6 ± 2.8    |     | 19.0 ± 2.9   |    |

平均値±平均誤差で示した。

Student's *t*-test \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. control, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs. LCT,

§ $P < 0.05$ , §§ $P < 0.01$  vs. MCT

## MCTとトマト抽出物の共投与が血清および肝臓中リコペン濃度に与える影響

血清中リコペン濃度は、いずれの群間においても有意差は認められなかったが、対照食+T群に比べMCT+T群で高い傾向が観察された。肝臓1gあたりのリコペン量では、LCT+T群が対照食+T群と比較して有意に低い一方で、LCT+T群と比較してMCT+T群でその濃度は顕著に高かった。(Fig.1)

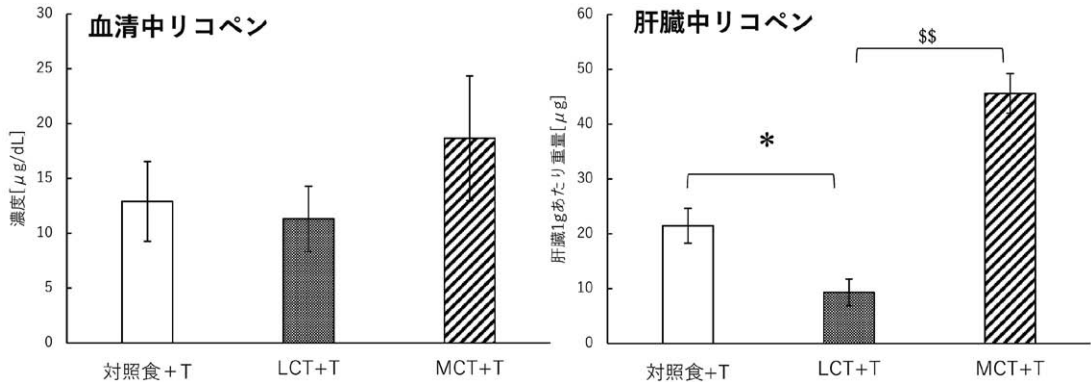


Fig. 1. MCTとトマト抽出物の共投与が血清および肝臓中リコペン濃度に与える影響  
平均値±平均誤差で示した。Student's *t*-test \* $P < 0.05$ ,  $^{SS}P < 0.01$

## MCTとトマト抽出物の共投与が血中インスリン感受性ホルモンに与える影響

インスリン感受性および動脈硬化抑制作用、脂肪燃焼促進に関与する高分子型アディポネクチンタンパク質の血中濃度は、MCT群と比較してMCT+T群で顕著に高かった。一方で、絶食時・インスリン抵抗性時に糖・脂質代謝を促進するFGF-21タンパク質の血中濃度は、LCT+T群およびMCT群と比較し、MCT+T群で有意に低かった。(Fig.2)

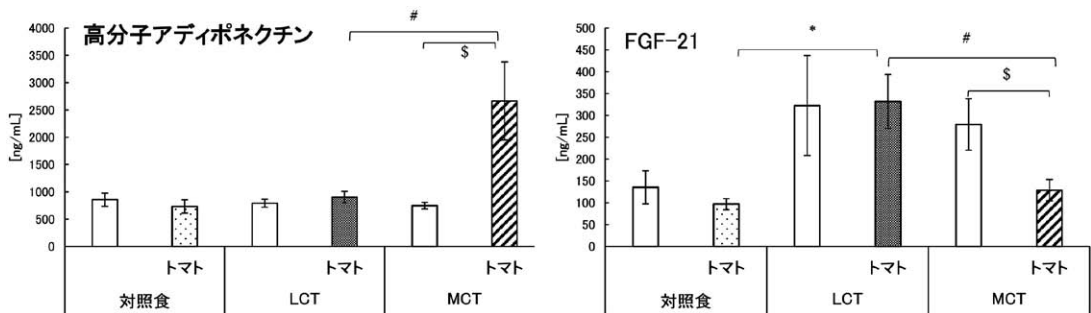


Fig. 2. MCTとトマト抽出物の共投与が血中インスリン感受性ホルモンに与える影響  
平均値±平均誤差で示した。Student's *t*-test \* $P < 0.05$ , # $P < 0.05$ ,  $^SP < 0.05$

## MCTとトマト抽出物の共投与が肝臓の解糖系関連遺伝子の発現に与える影響

肝臓でグルコースからグルコース-6-リン酸にリン酸化するグルコキナーゼ1 (*Gck1*) 遺伝子や、フルクトース-6-リン酸からフルクトース-1,6-ビスリン酸へリン酸化するホスホフルクトキナーゼ (*Pfk1*) 遺伝子、ピルビン酸のカルボキシ基を酸化するピルビン酸デヒドロゲナーゼ (*Pdha1*) 遺伝子、ピルビン酸をオキサロ酢酸へカルボキシル化するピルビン酸カルボキシラーゼ (*Pc*) 遺伝子などの解糖系関連遺伝子の

発現は、LCT 群と比較して MCT 群では有意に高かった。MCT + T 群では、MCT 群と比較してその有意に低かった。(Fig.3)

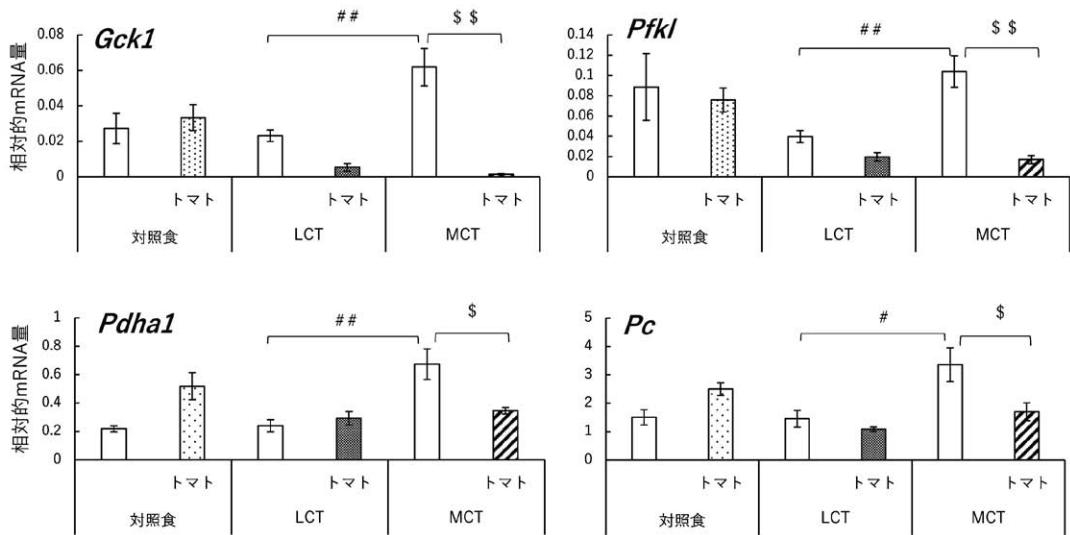


Fig. 3. MCTとトマト抽出物の投与が肝臓の解糖系遺伝子の発現に与える影響  
平均値±平均誤差で示した。Student's *t*-test #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01, \$*P* < 0.05, \$\$*P* < 0.01

#### MCTとトマト抽出物の共投与が肝臓の脂肪酸合成遺伝子の発現に与える影響

アセチル CoA からマロニル CoA を合成するアセチル CoA カルボキシラーゼ (*Acaca*, *Acacb*) 遺伝子や、パルミチン酸合成を行う脂肪酸合成酵素 (*Fasn*) 遺伝子、オレイン酸を生合成するステロール CoA デサチュラーゼ (*Scd1*) 遺伝子などの脂肪酸合成関連遺伝子の発現は、対照食群に比べて LCT 群で低く、LCT 群に比べて MCT 群では高かった。MCT + T 群では、MCT 群と比較して発現が高かった。(Fig.4)

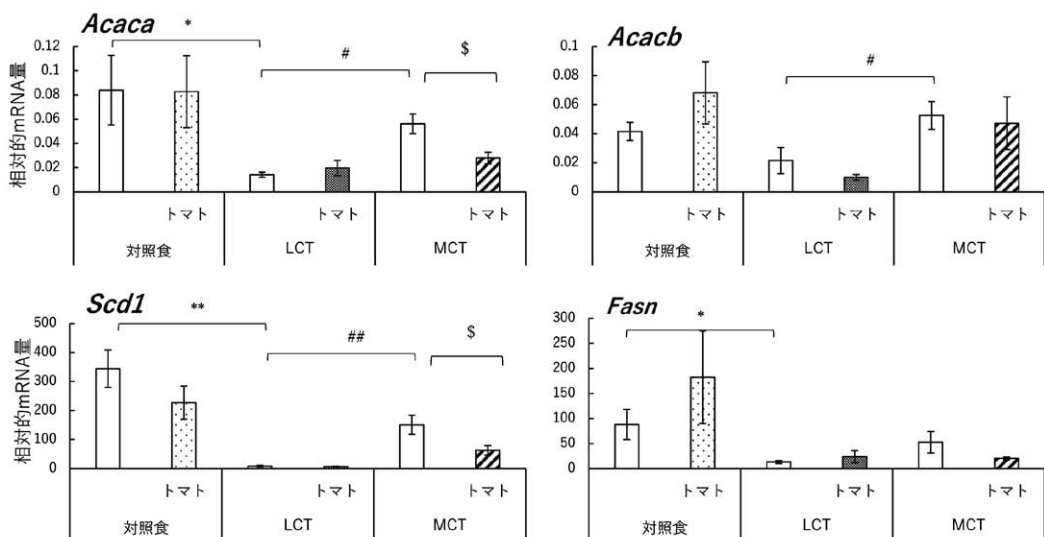


Fig. 4. MCTとトマト抽出物の投与が肝臓の脂肪酸合成遺伝子の発現に与える影響  
平均値±平均誤差で示した。  
Student's *t*-test \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01, #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01, \$*P* < 0.05, \$\$*P* < 0.01

## 考 察

本研究では、活性酸素種を効率良く除去するリコペンを豊富に含むトマト抽出物と、素早く代謝され肥満予防やインスリン感受性向上に寄与すると考えられるMCTを、ラットに共投与することによってリコペンの吸収と血清および肝臓における代謝への影響を検証した。まず、本研究によって得られた病態に関して考察する。解糖系や $\beta$ 酸化の活性化により増大すると考えられる血中ケトン体濃度は、対照食群と比較して、トマト抽出物添加を含めた高脂肪食群でそれぞれ高くなる傾向が観察された。血清中の中性脂肪濃度は、対照食群と比較してLCT群で有意に高かった。一方、トマト抽出物の添加により、それぞれLCT群、MCT群より低い値を示す傾向が観察された。肝臓中の中性脂肪に関してほぼ同様の結果が得られ、LCT食単独群の中性脂肪量は、対照食群と比較して有意に高かったが、MCT-トマト抽出物共投与群でMCT群より低い値を示す傾向が観察された。血中リコペン濃度に関してMCT-トマト抽出物共投与群では、LCT-トマト抽出物共投与群と比べて高い傾向、肝臓中リコペン量は有意に高い結果が得られた。また、インスリン感受性ホルモンである高分子型アディポネクチンタンパク質の血中濃度は、MCTとトマト抽出物の共投与により有意に高くなっていた。一方、絶食時に糖・脂質代謝を促進するFGF-21タンパク質の血中濃度は、MCTとトマト抽出物の共投与により、MCT単独投与と比較して有意に低くなっていた。これらの結果は、MCTが $\beta$ 酸化などで効率良く燃焼されるとともに、MCTとトマト抽出物の共投与により、トマト抽出物に含まれていたリコペンが効率良く血中および肝臓中に取り込まれたことや、LCTの過剰摂取による中性脂肪濃度高値を抑制したこと、全身のインスリン感受性を増大させたことなどを示唆している。

次に、上記の作用機序について考察する。qRT-PCR法により肝臓中 mRNA 遺伝子発現を調べると、解糖系関連遺伝子 (*Gck1*, *Pfk1*, *Pdhal*, *Pc*) の発現に関して、高MCT食誘導性の発現増大が、トマト抽出物の共投与によって顕著に抑制された。また、脂肪酸合成関連遺伝子の発現では、LCTの投与によって抑制されたが、MCTによって有意に発現が増大した。さらにMCTにトマト抽出物を共投与することによって、MCT投与で観察される発現増大を抑制した。トマト抽出物中の成分が、高MCT食誘導性の過剰な解糖系および脂肪酸合成の活性化を抑制したことが考えられた。MCTの投与によって肝臓中のリコペン濃度が顕著に増大することが明らかとなった。そのため、トマト抽出物に豊富に含まれるリコペンが効率よく体内に取り込まれ蓄積されたことにより、これら遺伝子発現を抑制した可能性が考えられる。しかしながら、トマト抽出物の中には、他の栄養成分も多く含まれている。例えば、トマト中に含まれる13-オキソ-9,11-オクタデカジエン酸は、PPAR $\alpha$ のアゴニストとして作用し、脂肪肝を抑制する知見が得られている<sup>(25)</sup>。しかしながら、本研究では、トマト抽出物の投与は、PPAR $\alpha$ の標的である $\beta$ 酸化や熱産生経路の活性化ではなく、解糖系-脂肪酸合成経路の活性化を誘導した。それゆえ、13-オキソ-9,11-オクタデカジエン酸による作用はあまり強くない可能性が考えられる。しかしながらトマト中のリコペン以外の成分が関与する可能性も考えられるので今後検討する必要がある。これまでに高MCT食が、マウス肝臓における脂肪蓄積を抑制しインスリン抵抗性指標を低下させたという報告<sup>(26)</sup>がある。一方で、マウスへの多量のMCTの投与は、フルクトース誘導性の脂肪蓄積および炎症の増大を悪化させるという報告もある<sup>(27)</sup>。それゆえ、多量のMCTの投与は、過剰な解糖系の活性化は脂肪酸合成の活性化に繋がるのが考えられ、肝臓における過剰な脂肪酸合成の活性化は脂肪肝を招く可能性が考えられる。したがってMCTへのトマト抽出物の共投与は、インスリン感受性を



増大させるというMCTの長所を活かすとともに、脂肪肝の抑制に効果的である可能性が考えられた。

今回の実験では、ラットを用い、試験食を2週間自由摂食させた場合の血清および肝臓への影響を検証した。この試験食摂食期間は比較的短期間であり、MCTとトマト抽出物の長期的な共投与による影響に関しては確認できていない。この長期摂取による有効性または有害性も検討する必要がある。また、脂質割合に関しても、高長鎖飽和脂肪の置き換えとしてMCTを用いたが、通常食におけるMCT置き換え食に関しても検討する余地がある。

また、今回はmRNA 遺伝子発現をもとにその作用機序を考察した。ウェスタンブロットなどによるタンパク質発現や、クロマチン免疫沈降法などによる遺伝子修飾など、より幅広い検証によってより詳細なメカニズムを解明する必要がある。また、トマト抽出物添加による作用がリコペンによるものであるかの検討、およびリコペンの酸化物質除去能力や、MCTによる $\beta$ 酸化活性化作用などについてもさらに詳細な検証が必要である。

以上をまとめると、ラットへのMCTとトマト抽出物の共投与は、血中および肝臓におけるリコペン濃度を高めた。さらに全身のインスリン感受性を高めた一方で、肝臓における中性脂肪蓄積抑制の傾向を示し、高MCT食誘導性の過剰な解糖系および脂肪酸合成関連遺伝子の発現も抑制した。これらの結果は、MCTとトマト抽出物の共投与が全身のインスリン感受性を向上させ、肝臓における脂肪肝発症のリスクを低減させる可能性を示唆している。

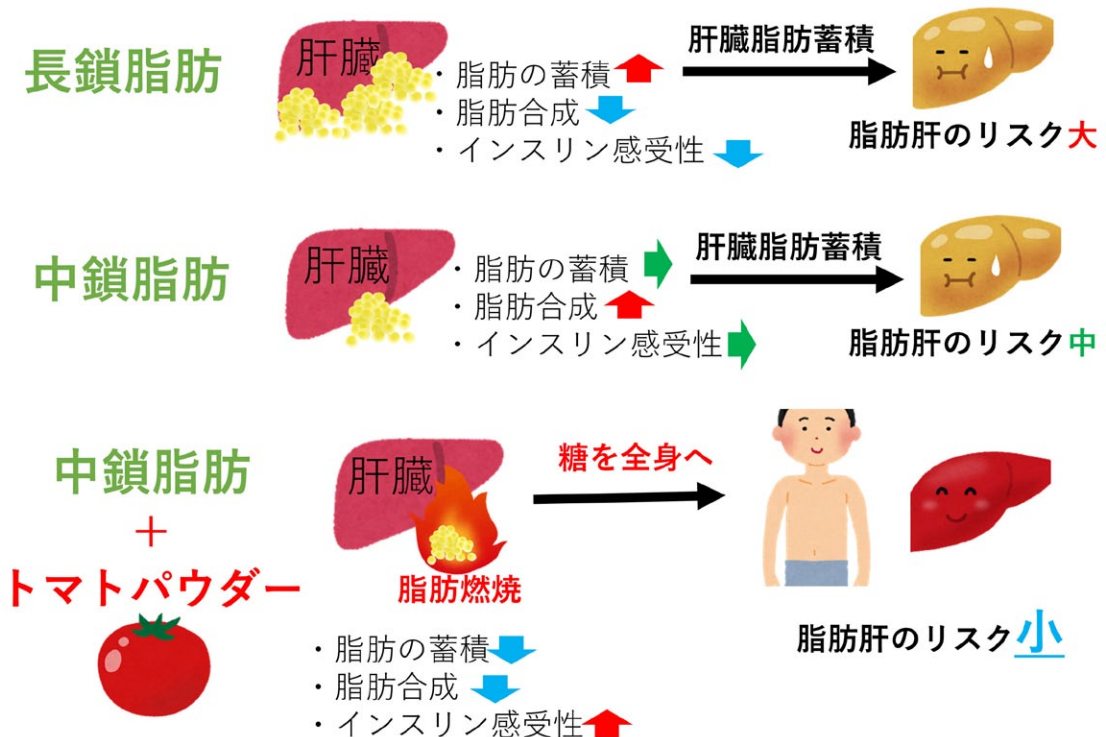


Fig.5. 総括

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人アサヒビール学術振興財団より研究助成を賜りましたことを深く感謝申し上げます。

## 引用文献

1. Feng, D., Ling, W. H., and Duan, R. D. (2010) *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]* **59**, 115-121
2. Kawata, A., Murakami, Y., Suzuki, S., and Fujisawa, S. (2018) *In Vivo* **32**, 255-264
3. Di Mascio, P., Kaiser, S., and Sies, H. (1989) *Archives of biochemistry and biophysics* **274**, 532-538
4. Han, L., Ma, A., and Zhang, Y. (2004) *Wei sheng yan jiu = Journal of hygiene research* **33**, 450-452
5. Zhao, L. G., Zhang, Q. L., Zheng, J. L., Li, H. L., Zhang, W., Tang, W. G., and Xiang, Y. B. (2016) *Scientific reports* **6**, 26983
6. (1994) *The New England journal of medicine* **330**, 1029-1035
7. Cheng, H. M., Koutsidis, G., Lodge, J. K., Ashor, A., Siervo, M., and Lara, J. (2017) *Atherosclerosis* **257**, 100-108
8. Wang, X., Yang, H. H., Liu, Y., Zhou, Q., and Chen, Z. H. (2016) *Nutrition and cancer* **68**, 1083-1096
9. Rowles, J. L., 3rd, Ranard, K. M., Smith, J. W., An, R., and Erdman, J. W., Jr. (2017) *Prostate cancer and prostatic diseases* **20**, 361-377
10. Satia, J. A., Littman, A., Slatore, C. G., Galanko, J. A., and White, E. (2009) *American journal of epidemiology* **169**, 815-828
11. Zidani, S., Benakmoum, A., Ammouche, A., Benali, Y., Bouhadef, A., and Abbeddou, S. (2017) *The Journal of nutritional biochemistry* **40**, 164-171
12. Zeng, Z., He, W., Jia, Z., and Hao, S. (2017) *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association* **125**, 610-617
13. Inanc Horuz, T., and Belibagli, K. B. (2018) *Food chemistry* **268**, 86-93
14. Takeda, S., Kimura, M., Marushima, R., Takeuchi, A., Takizawa, K., Ogino, Y., Masuda, Y., Kunou, M., Hasegawa, M., and Maruyama, C. (2011) *Journal of nutritional science and vitaminology* **57**, 209-215
15. Hooper, L., Martin, N., Abdelhamid, A., and Davey Smith, G. (2015) *The Cochrane database of systematic reviews*, CD011737
16. Simopoulos, A. P. (2016) *Nutrients* **8**, 128

17. Shinohara, H., Wu, J., and Aoyama, T. (2010) *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **74**, 2336-2338
18. Matsuo, T., and Takeuchi, H. (2004) *The British journal of nutrition* **91**, 219-225
19. Shinohara, H., Ogawa, A., Kasai, M., and Aoyama, T. (2005) *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **69**, 1811-1818
20. Matsuo, T., Matsuo, M., Taguchi, N., and Takeuchi, H. (2001) *Metabolism: clinical and experimental* **50**, 125-130
21. Terada, S., Yamamoto, S., Sekine, S., and Aoyama, T. (2012) *Nutrition* **28**, 92-97
22. Conti, P., Ronconi, G., Kritas, S. K., Caraffa, A., and Theoharides, T. C. (2018) *Canadian journal of diabetes* **42**, 568-573
23. Pitocco, D., Tesauro, M., Alessandro, R., Ghirlanda, G., and Cardillo, C. (2013) *International journal of molecular sciences* **14**, 21525-21550
24. Fricker, Z. P., Pedley, A., Massaro, J. M., Vasan, R. S., Hoffmann, U., Benjamin, E. J., and Long, M. T. (2018) *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*
25. Kim, Y. I., Hirai, S., Goto, T., Ohyane, C., Takahashi, H., Tsugane, T., Konishi, C., Fujii, T., Inai, S., Iijima, Y., Aoki, K., Shibata, D., Takahashi, N., and Kawada, T. (2012) *PloS one* **7**, e31317
26. Zacek, P., Bukowski, M., Mehus, A., Johnson, L., Zeng, H., Raatz, S., Idso, J. P., and Picklo, M. (2018) *The Journal of nutritional biochemistry* **64**, 32-44
27. Guimaraes, J., Bargut, T. C. L., Mandarim-de-Lacerda, C. A., and Aguilá, M. B. (2019) *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* **140**, 64-71