博 士（水産科学） 奥 村 知 行

学 位 論 文 題 名

水産機能性成分の抗肥満作用に及ぼす植物成分の併用効果に関する研究

学位論文内容の要旨

近年、我が国を含め先進諸国を中心に食生活や生活習慣の変化から肥満となる人が増加しており、それにより発症するメタボリックシンドローム（内臓脂肪症候群）や生活習慣病が問題になっている。そのため、こうした肥満やそれに伴う疾病のリスクを未然に予防、改善することが極めて重要な課題となっている。

肥満やそれに伴う疾病のリスクの軽減に効果を発揮する食品素材の一つに水産脂質（魚油）がある。魚油はn-3系高度不飽和脂肪酸であるEPAやDHAを豊富に含んでおり、これらの脂肪酸は、抗動脈硬化作用や抗腫瘍作用、抗アレルギー作用などを示すほか、EPAやDHAを動物に投与することで、内臓脂肪の蓄積が抑制されることも報告されている。また、食用海藻のワカメ(*Undaria pinnatifida*)に含まれる脂溶性成分の一つであるカロテノイド類のフコキサンチンにも抗肥満作用や抗糖尿病作用が報告されている。一方、代表的な植物由来機能成分の一つとして、唐辛子の成分であるカプサイシンやコーヒーや緑茶に含まれるカフェインが挙げられる。カプサイシンやカフェインは共に、交感神経の活性化に伴う脂肪燃焼作用や代謝亢進作用を有することが知られており、その結果として抗肥満効果や体重軽減作用を発揮する。しかし、これら水産由来、植物由来の機能成分単独での生理作用に関する研究例は多いものの、それぞれの活性成分を併用した場合の作用については不明な点も多い。

そこで本研究では、水産由来成分の高度利用と有効活用を目指し、魚油とカプサイシン、カフェインの併用効果、ならびにフコキサンチンとカプサイシン、カフェインの併用効果について、肥満・糖尿病病態マウスを用いて検討した。

第1章では、肥満糖尿病モデルマウス（KK-*A^y*）に魚油とカプサイシンおよびカフェイ

ンの併用投与し、内臓脂肪と血糖値に与える影響について検討した。動物試験では、飼料脂質を大豆油 14% (w/w)としたコントロール群(Control 群)、Control 群の飼料脂質である大豆油 14%(w/w)のうち、7%(w/w)を魚油に置換した群を魚油群(FO 群)とした。コントロール群および魚油群の飼料に、それぞれをカプサイシン 0.0042%添加した群(SO + CP 群, FO + CP 群)、カフェイン 0.054%添加した群(SO + CF 群、FO + CF 群)および、カプサイシンとカフェインの両方を添加した群(SO + CP + CF 群、FO + CP + CF 群)をそれぞれ設け、全 8 群とした。実験飼育期間中の総摂餌量は各群で有意差がなかったのに対し、体重増加量は、Control 群と比べて FO + CP + CF 群、SO + CP + CF 群および FO + CP 群で有意に低い値を示した。白色脂肪組織(WAT)の総重量(子宮周囲、腎周囲後腹膜、腸間膜周囲、鼠径部周囲)を測定したところ、WAT 総重量は Control 群と比べ、魚油を投与した 4 群で有意に減少していた。また、肝臓の脂肪酸組成を分析したところ、DHA の割合は大豆油にカプサイシンとカフェインを併用投与しても Control 群と比べて変化がなかったのに対し、FO + CP + CF 群では FO 群と比べて有意に増加した。血糖値はカプサイシンまたはカフェインを投与した群において、Control 群と比べて有意に減少していた。これらの結果より、KK-A^yマウスに対する魚油、カプサイシン、カフェインの併用投与によるマウスの内臓脂肪抑制増強効果が明らかになった。また、これに伴い、肝臓中の DHA の割合が増加することも見出すことができた。ただし、肝臓と WAT 及び BAT 中の脂質代謝に関わる遺伝子・タンパク質の発現作用の検討により、EPA、DHA による脂質代謝制御と、カプサイシン、カフェインによるエネルギー代謝の亢進作用は相乗的に発現されるものではないことも明らかになった。これまで報告されているように、EPA、DHA を含む魚油の投与により、肝臓中の脂質合成系の抑制が起こり、肝臓脂質の減少も見られた。一方、カプサイシン、カフェインの投与は肝臓などでの糖代謝を活性化することが本研究の結果より推察された。いずれの作用も、遺伝子発現のレベルでは、コントロールとの有意差はつかなかったが、両者が相加的に働きあうことにより、内臓 WAT や体重の有意な減少につながったものと考えられる。また、本研究で用いた肥満糖尿病モデルマウス（KK-A^y）に対するカプサイシンとカフェインの効果は、内臓脂肪低下作用よりも血糖値低下作用の方が、投与濃度が低くてもより顕著に発現することも明らかになった。

第 2 章では、肥満糖尿病モデルマウスを用いて、ワカメ油由来のフコキサンチンとカプサイシン、カフェインの併用投与による内臓脂肪と血糖値に与える影響について検討した。

コントロール群（Control群）の大豆油14%(w/w)のうち0.1 %(w/w)をフコキサンチンに置換した群をフコキサンチン群(Fx群)とした。コントロール群およびフコキサンチン群の飼料に、それぞれカプサイシン0.0024%添加した群(CP群、Fx + CP群)、カフェイン0.031%を添加した群(CF群、 Fx + CF群)を設け、全6群とした。実験飼育期間中の総摂餌量は各群で有意差がなかったが、体重増加量は、Fx + CP群、Fx + CF群ではControl群と比べて有意に低い値を示した。血清中の遊離脂肪酸においても同様に、Fx + CP群、Fx + CF群ではControl群と比べて有意に低い値を示した。また鼠径部周囲WATにおけるUCP1のmRNA発現量を測定したところ、Control群と比べてFx + CF群では有意に増加しており、Fx + CF群においても高値傾向にあった。一方、血糖値はフコキサンチン、カプサイシン、カフェインを投与したすべての群でControl群と比べて有意に減少したが、フコキサンチンとカプサイシンまたはカフェインの併用効果は認められなかった。以上の結果より、フコキサンチンとカプサイシンまたはカフェインの併用投与が病的な体重増加に対して抑制作用を及ぼすことが明らかになった。本研究で見出されたフコキサンチンとカプサイシンまたはカフェインの相乗的効果は、カプサイシンまたはカフェインを単独で投与した場合にはコントロールと比較して内臓WATや体重に変化がなかったのに対し、フコキサンチンとカプサイシンまたはカフェインの併用では、フコキサンチンの単独効果よりも内臓WATや体重が低下していることから明らかである。フコキサンチンは内臓WAT中でUCP1を発現誘導することが知られている。UCP1の発現により、WAT中の脂質が積極的に分解され、生じたエネルギーが熱として散逸することが報告されている。一方、カプサイシンまたはカフェインは、交感神経系からのノルエピネフェリン(NE)などの産生を亢進させる。NEは内臓WAT細胞膜上のアドレナリンレセプターを刺激し、UCP1の発現誘導に関与する。こうした分子機構が、フコキサンチンとカプサイシンまたはカフェインを併用した場合に見られた相乗的な内臓WAT減少作用に関与しているものと推察される。

このように、水産物由来の機能性成分（魚油由来のEPAとDHA、海藻由来のフコキサンチン）は、植物由来の機能性成分（カプサイシンとカフェイン）と併用することにより、特に内臓脂肪の減少や血糖値の低下においてそれぞれを単独で投与するより効果的なことを本研究では明らかにすることができた。また、その効果に関与するメカニズムについても一定の考察をすることができた。特に、フコキサンチンとカプサイシンまたはカフェインの併用による効果は、交感神経系と内臓WAT細胞での一連のシグナル伝達系に関わる

ものであり、今後のこの分野の研究において新たな方向性を示すことができたと考える。本研究により、水産機能成分の高度利用と活用を図るだけでなく、様々な食品素材との組み合わせが、より効果的な栄養機能性を発揮する上で極めて重要なことが明らかになった。こうした成果は、新たな食品素材や製品を開発していく上でも役にたつものと期待される。

学位論文審査の要旨

主　査　教　授　宮　下　和　夫
副　査　教　授　板　橋　　　豊
副　査　准教授　細　川　雅　史

学 位 論 文 題 名

水産機能性成分の抗肥満作用に及ぼす植物成分の併用効果に関する研究

魚油中にはn-3系高度不飽和脂肪酸であるEPAやDHAが豊富に含まれており、これら脂肪酸には、脂質代謝改善作用とそれに基づく抗肥満作用が知られている。また、褐藻類に特徴的なカロテノイド、フコキサンチンについての抗肥満作用や抗糖尿病作用が最近明らかになり、その有効活用が期待されている。一方、代表的な植物由来の抗肥満成分として、唐辛子の成分であるカプサイシンやコーヒーや緑茶に含まれるカフェインが挙げられる。カプサイシンやカフェインは、共に、交感神経の活性化に伴う脂肪燃焼作用や代謝亢進作用を有することが知られている。しかし、これら水産由来と植物由来の機能成分単独での生理作用に関する研究例は多いものの、それぞれの活性成分を併用した場合の作用については不明な点も多い。また、カプサイシンやカフェインでは、多量摂取による弊害効果も指摘されている。したがって、各種の抗肥満成分の組み合わせによる効果的な抗肥満作用が期待されるが、こうした観点からの検討例はほとんどない。そこで本研究では、水産由来成分の高度利用と有効活用と共に、理想的な抗肥満効果を有する食品素材の開発も考慮し、魚油とカプサイシン及びカフェイン、ならびにフコキサンチンとカプサイシン及びカフェインの併用効果について、特に抗肥満作用に着目して検討を行った。本研究で得られた成果は以下のように要約される。

1．肥満糖尿病モデルKK-*Ay*マウスを用い、コントロール群(Control群)と魚油群(FO群)に対し、低濃度のカプサイシン（0.0042%）を添加した群(SO + CP群, FO + CP群)と、低濃度のカフェイン（0.054%）を添加した群(SO + CF群、FO + CF群)、および、カプサイシンとカフェインの両方を添加した群(SO + CP + CF群、FO + CP + CF群)をそれぞれ設け、全8群として実験を行った。その結果、実験飼育期間中の総摂餌量は各群で有意差がなかったのに対し、体重増加量は、Control群と比べてFO + CP + CF群、SO + CP + CF群およびFO + CP群で有意に低い値を示すこと、白色脂肪組織(WAT)の総重量(子宮周囲、腎周囲後腹膜、腸間膜周囲、鼠径部周囲)は、Control群と比べ、魚油を投与した4群とSO + CP + CF群、SO + CF群で有意に減少するが、魚油の効果に対するカプサイシンとカフェインの相加効果や相乗効果は、本研究

で用いた低濃度のカプサイシンとカフェインでは発揮されないことを明らかにした。

2．魚油とカプサイシンおよびカフェインの併用実験より、大豆油にカプサイシンとカフェインを併用投与してもControl群と比べて変化がなかったEPA、DHEの割合が、FO + CP + CF群ではFO群と比べて有意に増加することを見出した。また、血糖値は魚油、カプサイシン、カフェインのいずれを投与した群においても、Control群と比べて有意に減少すること、この効果が相加的なものであることを明らかにした。

3．肥満糖尿病モデルマウスを用い、コントロール群（Control群）とフコキサンチン0.1 %(w/w)含有群(Fx群)に、魚油実験で用いた濃度よりもさらに低濃度のカプサイシン（0.0024%）とカフェイン（0.031%）を添加した群((CP群、Fx + CP群とCF群、 Fx + CF群)を設け、全6群として実験を行った。その結果、実験飼育期間中の総摂餌量は各群で有意差がなかったのに対し、体重増加量は、Fx + CP群、Fx + CF群ではControl群と比べて有意に低い値となること、ただし、それぞれ単独では有意な減少とはならいこと、Fx群の総WAT重量はControl群と比較して有意に減少するが、Fx + CP群、Fx + CF群ではFx単独よりも有意に減少することを明らかにした。この結果から、本研究で用いたCPとCFの濃度では単独では抗肥満効果は発現しないが、Fxの抗肥満効果を相乗的に増大させることを示した。

4．CPとCFが示したFxの抗肥満効果に対する相乗効果の分子機構について検討し、WAT細胞での熱産生亢進誘導作用を提案した。すなわち、CPとCFの作用により、交感神経系が活性化され、ノルアドレナリン分泌の亢進が起こる。一方、Fx摂取により、内臓WAT細胞膜のノルアドレナリン受容体タンパク発現の増大が起こり、多量に分泌されたノルアドレナリン刺激を受けやすくする。その結果、本来内臓WATでは発現しないと考えられていたUCP1が発現し、脂肪燃焼エネルギーが体熱となって発散し、内臓脂肪の減少が起こるというものである。この作用については、Fx + CF群の鼠径部周囲WATにおけるUCP1のmRNA発現量が、Control群と比べて有意に増加していたことからも裏付けられた。

以上のように、本研究では水産物を起源とする代表的な脂質代謝改善作用を有する機能成分である魚油と褐藻カロテノイド、フコキサンチンに着目し、その作用を相乗的に向上できる植物由来食品成分（カプサイシンとカフェイン）について検討した。その結果、魚油では、何らの相乗作用も見出されなかったが、フコキサンチンとの併用では典型的な相乗効果が認められた。この研究から、植物由来成分（カプサイシンとカフェイン）が示す交感神経系に対する活性化作用と、フコキサンチンが有する内臓WATに対する特異的な作用の関連が明確になり、確かな科学的基盤に基づく抗肥満食品素材の創出にも大きく寄与できる成果が得られた。よって審査員一同は本研究の申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。