

# 木質系バイオマス・リグノフェノールを有効成分とする 肥満に起因する動脈硬化症の予防改善剤の開発

佐藤 伸<sup>1)</sup> \*、向井 友花<sup>1)</sup>、乗鞍 敏夫<sup>1)</sup>、藤田 修三<sup>1)</sup>

1) 青森県立保健大学

**Key words** ①リグノフェノール、②脂質代謝異常、③トリグリセリド、④単回投与毒性試験

## I. はじめに

今日の高齢社会における健康寿命の延伸や QOL の向上を図る上で、肥満の予防・改善は急務のひとつといえる。一般に、脂肪摂取量の増大は脂肪組織の増加とインスリン抵抗性を引き起こし、慢性的な脂質代謝や糖代謝の異常をもたらす。リグニンとは、植物の細胞壁を構成する主要成分であり、不溶性食物繊維としての機能を有することが知られている。日常生活で、我々はリグニンを摂取しているが、その構造上、そのまま抽出することは困難であるため、リグニンの生理調節機能はほとんどわかっていない。一方、リグノフェノール(lignophenol ; LP)は、リグニンから「相分離系変換システム」により得られる新素材であり、フェノール性水酸基が付加した広義のポリフェノールとして知られている<sup>1)</sup>。前年度では、高脂肪食誘発肥満モデルラットに LP を投与し、脂質代謝に関わる合成酵素などの遺伝子発現を調節する転写因子である脂質合成転写因子-1c (SREBP-1c)の mRNA が低下したことを報告した。しかし、SREBP-1c の mRNA 低下にともなう SREBP-1 タンパク質の発現への影響や SREBP-1c に制御される酵素、アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) の発現に及ぼす影響は明らかではない。また、この実験とは別に LP の安全性に関する知見はほとんどない。

## II. 目的

今年度は、肥満における LP の生理調節機能を明らかにするために、SREBP-1 あるいは ACC タンパク質の発現に及ぼす LP の影響を検討した。また LP の安全性に関する知見はほとんどなかったため、安全性評価の一環として LP の単回投与毒性試験を行い、LP の毒性を評価した。

## III. 研究方法

本研究は、青森県立保健大学動物実験委員会の承認を得て、すべて「青森県立保健大学動物実験に関する指針」に従って実施された。

### 1. 高脂肪食誘発肥満モデルラットの脂質代謝に及ぼすリグノフェノールの影響 (実験 I)

前年度に採取した試料を用いて行った。実験デザインを簡潔に示す。Sprague-Dawley ラット(5週齢、雄性)を用いた。対照群(C 群)、高脂肪食群(0%HF 群)、0.5%(0.5%HF 群)及び 1.0%LP 含有高脂肪食群(1.0%HF 群)に分け、8週間飼育した。終了時に血漿を得、臓器を摘出し重量を測定した。血漿中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)及びアラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)を測定した。ウェスタンブロットでは、SDS-PAGE 電気泳動後にブロッティングした。一次抗体には ACC、リン酸化 ACC 及び SREBP-1 を用いた。内在性コントロールとして  $\beta$ -actin を用いた。これらを二次抗体と反応させてバンドを検出した。

### 2. リグノフェノールの単回投与毒性試験 (実験 II)

\*連絡先：〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: s\_sato3@auhw.ac.jp

実験デザインを簡潔に示す。雄性Wistar系ラット(約20週齢)を用いて1群3匹とし、低用量群(83 mg/kg)、中用量群(250 mg/kg)及び高用量群(750 mg/kg)に分けた。一晩絶食後に被験物質を胃内に単回投与した。対照群にはvehicleである0.5%カルボキシメチルセルロースを投与した。観察・測定項目は既報のガイドライン等を参考にして行った<sup>3,4)</sup>。一般状態の観察では投与日は投与直後及び投与後6時間に観察し、観察期間は投与後14日間とした。体重及び摂餌量も測定した。終了時の生存例は剖検し臓器重量を測定した。

#### IV. 結果及び考察

##### [実験 I] 高脂肪食誘発肥満モデルラットの脂質代謝に及ぼすリグノフェノールの影響

肝機能の指標である AST 及び ALT 値では、0.5 及び 1.0%HF 群の AST 値は 0%HF 群に比べて上昇傾向がみられた。一方、ALT 値には各群間に差はみられなかった。

SREBP-1c は、脂肪酸やトリグリセリドの合成を制御している<sup>5)</sup>。前年度の結果では、0.5 及び 1.0%HF 群の SREBP-1c の mRNA 量は、0%HF 群に比べて減少した。そこで、肝臓の SREBP-1 のタンパク質量に及ぼす LP の影響を検討したところ、0%HF 群に比べて 1.0%HF 群では有意に減少した。

SREBP-1c の発現に制御される ACC は、その活性化によりアセチル CoA を出発物質として、主にパルミチン酸の生成を亢進する<sup>6)</sup>。ACC のタンパク質量を測定した結果、0%HF 群に比べて LP の各投与群で減少傾向がみられた。また、リン酸化 ACC/ACC 比は、0%HF 群に比べて 0.5%HF 群で有意に増加し、1.0%HF 群においても増加傾向がみられた。このことは、LP は肝臓中のリン酸化した ACC 量を増加させること、すなわち ACC 活性を抑制することを示唆していた。

以上の結果より、LP は、少なくとも、肝臓中の SREBP-1c の mRNA 発現を減少させ、また脂質合成に関わる ACC 活性が抑制されることにより、血漿中 Tg の減少や脂肪重量の減少に寄与するのではないかと推察された。

##### [実験 II] ラットを用いたリグノフェノールの単回投与毒性試験

本実験で設定した 750 mg/kg までは死亡例は認められず、また臨床症状においても用量に応じた変化は認められなかった。臓器の重量では、高用量群の肝臓重量が対照群に比べて大きくなる傾向がみられたが、相対重量を含め、各群間には有意な差はみられなかった。剖検においても、各群の臓器の肉眼的な異常は観察されなかった。

#### V. 参考文献

- 1) 船岡 正光, 佐藤 伸, 藤田 修三: 生体機能開発.木質系有機資源の新展開 II, 128-133, 2009.
- 2) 単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について  
[http://www.pmda.go.jp/ich/s/s4\\_93\\_8\\_10.pdf](http://www.pmda.go.jp/ich/s/s4_93_8_10.pdf)
- 3) 経済協力開発機構 (OECD) の化学物質の試験に関するガイドライン  
<http://jonai.medwel.cst.nihon-u.ac.jp/uploadfiles/file/pdf/OECD%20TG%20Health%20Effects%20jp.pdf>
- 4) Eberlé et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie*. 2004; 86:839-48.