

**Table 3a.** Organ weight-Group mean values in female rats  
(Absolute weight at terminal kill after 2 weeks of treatment)

Dose (mg/kg/day)		Body weight (g)	Brain (mg)	Pituitary (mg)	Thyroids (mg)	Salivary (mg)	Heart (mg)	Thymus (mg)	Liver (g)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenals (mg)	Ovaries (mg)	Uterus (mg)
0	Mean	144	1714	8.2	16.2	351	542	390	4.34	1141	342	63.5	83.0	440
	S.D.	8	59	0.8	2.9	29	46	34	0.23	71	22	5.9	26.3	227
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4
1000	Mean	146	1692	8.0	17.3	368	549	479	4.74	1275	348	73.4	96.6	339
	S.D.	13	43	1.5	4.7	49	61	298	0.40	131	39	12.6	26.8	53
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
2500	Mean	150	1744	9.5	13.5	359	550	392	5.37 **	1323	388	67.2	76.5	356
	S.D.	7	15	1.2	1.6	26	34	81	0.39	125	42	8.8	10.8	59
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals examined.

Significantly different from control: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

**Table 3b.** Organ weight-Group mean values in female rats  
(Absolute weight at terminal kill after 2 weeks of treatment)

Dose (mg/kg/day)		Body weight (g)	Brain (mg)	Pituitary (mg)	Thyroids (mg)	Salivary (mg)	Heart (mg)	Thymus (mg)	Liver (g)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenals (mg)	Ovaries (mg)	Uterus (mg)
0 <sup>a)</sup>	Mean	149	1694	8.0	16.9	358	572	363	4.87	1211	344	69.6	76.1	443
	S.D.	9	49	1.0	5.9	35	55	103	0.40	109	30	9.4	7.9	255
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
5000 <sup>b)</sup>	Mean	151	1720	8.7	17.9	396	566	384	6.18 **	1331	354	79.9	75.8	368
	S.D.	5	18	2.1	4.0	42	55	37	0.44	170	23	9.9	8.9	87
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals examined.

a), b): Animals were administered twice at interval of 30 minutes.

(a; the vehicle, b; the test substance)

Significantly different from control: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

**Table 4a.** Organ weight-Group mean values in female rats  
(Relative weight to body (%) at terminal kill after 2 weeks of treatment)

Dose (mg/kg/day)		Brain	Pituitary	Thyroids	Salivary	Heart	Thymus	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenals	Ovaries	Uterus
0	Mean	1.20	0.00570	0.01127	0.245	0.378	0.271	3.02	0.796	0.238	0.0444	0.0575	0.313
	S.D.	0.08	0.00052	0.00223	0.031	0.047	0.029	0.16	0.093	0.011	0.0069	0.0169	0.181
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
1000	Mean	1.17	0.00554	0.01187	0.252	0.377	0.319	3.26	0.875	0.239	0.0511	0.0665	0.234
	S.D.	0.10	0.00120	0.00326	0.013	0.024	0.166	0.16	0.038	0.016	0.0119	0.0197	0.045
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
2500	Mean	1.16	0.00627	0.00901	0.239	0.367	0.261	3.57 **	0.879	0.259	0.0447	0.0511	0.236
	S.D.	0.04	0.00058	0.00124	0.022	0.026	0.051	0.14	0.051	0.026	0.0051	0.0081	0.030
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals examined.

Significantly different from control: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

**Table 4b.** Organ weight-Group mean values in female rats  
(Relative weight to body (%) at terminal kill after 2 weeks of treatment)

Dose (mg/kg/day)		Brain	Pituitary	Thyroids	Salivary	Heart	Thymus	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenals	Ovaries	Uterus
0 <sup>a)</sup>	Mean	1.14	0.00536	0.01124	0.241	0.383	0.242	3.26	0.812	0.231	0.0467	0.0513	0.303
	S.D.	0.07	0.00070	0.00320	0.017	0.015	0.061	0.08	0.048	0.015	0.0063	0.0067	0.189
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
5000 <sup>b)</sup>	Mean	1.14	0.00583	0.01193	0.263	0.375	0.255	4.10 *	0.881	0.235	0.0531	0.0502	0.246
	S.D.	0.03	0.00160	0.00298	0.028	0.025	0.028	0.24	0.086	0.007	0.0074	0.0044	0.066
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

S.D.: Standard deviation.

N: Number of animals examined.

a), b): Animals were administered twice at interval of 30 minutes.

(a; the vehicle, b; the test substance)

Significantly different from control: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全・安心確保推進研究事業）  
分担研究報告書

特定保健用食品の新たな審査基準に関する研究  
—多機能多成分複雑系としての食品における有効性評価—

分担研究者 合田 敏尚 静岡県立大学食品栄養科学部助教授  
研究協力者 望月 和樹 静岡県立大学食品栄養科学部助手

研究要旨

代謝性疾患のリスクを低減させることを目的とする特定保健用食品について、多機能多成分であっても有効性を評価できる方法を明らかにすることを目的とし、保健の用途ごとに中間評価指標として利用できる標的バイオマーカーを探索し、候補バイオマーカーの妥当性の検討を行った。糖尿病自然発症モデルラットにおいても、EGCGの投与が血中アディポネクチン濃度を上昇させることを明らかにした。健診受診者の血液を用いて、血漿中のアディポネクチン濃度とメタボリック症候群関連指標との関連性を検討することにより、アディポネクチン濃度が内臓脂肪面積、BMI、腹囲、血清中性脂肪濃度、アラニンアミノ転移酵素（ALT）、血漿インスリン濃度と有意な負の相関を示すことを明らかにした。標準的で鋭敏な中間バイオマーカーを選定し、評価試験の測定項目に加えることによって、食品中の関与成分の有効性の評価が標準化され、短期間でかつ客観的な評価が可能になると考えられた。

A. 研究目的

現行の特定保健用食品の表示制度では、関与成分と保健の用途がそれぞれ単一であることが原則であるため、複数の関与成分が混在したり、複数の生理作用をもたらす成分が含まれている場合には、一部の成分や一部の生理作用だけが考慮の対象になり、他は無視されるという矛盾がある。本来、食品は複数の機能性成分が含まれる複雑系として存在しているので、目的とする保健の用途に対する食品の有効性を、食品全体として評価するシステムが構築されることが望ましい。食品の最終評価指標は健康の維持増進と疾病リスクを低減させることであり、中間評価指標についても、より短期的な臨床検査指標をバイオマーカーとして選択できることが望ましい。そこで、本研究では、保健の用途ごとに中間評価指標として利用できる標的バイオマーカーの探索と考案を行うこ

とを目的とした。

B. 研究方法

メタボリック症候群の発症リスクの中で、鍵となる代謝変化として血糖と内臓脂肪蓄積を取り上げ、それぞれ、短期的かつ初期的な変化をモニターできる血液指標を、種々の肥満/糖尿病発症モデルラット（OLETFラット、GKラット、高脂肪食誘発インスリン抵抗性肥満ラット、薬剤誘発性糖尿病ラット）を用いて血球遺伝子のマイクロアレイ解析および血漿生理活性成分の分析により検索した。有用性が推定された血液指標について、健診受診者の血液を用いて、代謝性疾患のリスクを特異的に反映できる指標としての妥当性を検討した。また、当該血液指標の生理的な意義を、脂肪細胞（NIH 3T3-L1）を用いたモデル実験によって検討し、メタボリック症候群関連疾患の発症プロセスにおける

その血液指標の位置づけを確認した。

倫理面への配慮

動物を用いる研究については、静岡県立大学

実験動物利用倫理規定に従って行った。また、臨床研究は、静岡県立大学倫理委員会の承認を受けて行った。

### C. 研究結果

種々の肥満/糖尿病発症モデルラットにおける血球遺伝子のマイクロアレイ解析により、血糖上昇に起因する独自の変化を示す血液指標として、S100タンパク質、IL-1 $\beta$ 、IL-6などの炎症性サイトカインの血球における遺伝子発現量が有用である可能性を明らかにした。次に、健診受診者の血液を用いて、血漿中のIL-1 $\beta$ 濃度およびIL-6濃度とメタボリック症候群関連指標との関連性を検討し、これらの炎症性発現が抑制されることを明らかにした。それゆえ、血球サイトカイン遺伝子の発現量は、血糖上昇に起因する炎症およびインスリン抵抗性のリスクを評価するための短期的な血液指標として有用であることが示唆された。

内臓脂肪の蓄積に由来する脂質代謝・エネルギー代謝の変化と関連する指標の中では、血漿アディポネクチン濃度が注目された。内臓脂肪の蓄積に影響を与えるモデル食品成分としてエピガロカテキンガレート (EGCG) を用い、脂肪細胞における作用機序の検討により、EGCGが生理的な濃度では、前駆細胞の分化促進を介してアディポネクチンの遺伝子発現を増大させ、脂肪細胞のインスリン感受性を高めることを明らかにした。

### D. 考察

糖尿病自然発症モデルラットにおいても、EGCGの投与が血中アディポネクチン濃度を上昇させることを明らかにした。健診受診者の血液を用いて、血漿中のアディポネクチン濃度とメタボリック症候群関連指標との関連性を検討することにより、アディポネクチン濃度が内臓脂肪面積、BMI、腹囲、血清中性脂肪濃度、アラニンアミノ転移酵素 (ALT)、血漿インスリン濃度と有意な負の相関を示すことを明らかにした。それゆえ、血漿アディポネクチン濃度

は、内臓脂肪の蓄積に由来する脂質代謝・エネルギー代謝の変化を評価するための鋭敏な血液指標として有用であることが示唆された。

### E. 結論

メタボリック症候群に関連した保健の用途の妥当性を、個別の食品について評価する場合には、保健の用途ごとに、本研究で示したような標準的で鋭敏な中間バイオマーカーを選定し、評価試験の測定項目に加えることによって、食品中の関与成分の有効性の評価が標準化され、短期間でかつ客観的な評価が可能になると考えられた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) 加瀬澤信彦、遠山和成、島田昌也、望月和樹、合田敏尚 (2007) : 人間ドック男性受診者におけるCTスキャン腹部皮下および内臓脂肪面積の増減と生活習慣の関連性。人間ドック 22 (3) : 42-49

1. Goda, T., Kajiya, Y., Suruga, K., Tagami, H. and Livesey, G. (2006) Availability, fermentability and energy value of resistant maltodextrin: modeling of short-term indirect calorimetry measurements in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 83: 1321-1330

2. Mochizuki, K., Suruga, K., Fukami, H., Kiso, Y., Takase, S. and Goda, T. (2006) : Selectivity of fatty acid ligands for PPAR  $\alpha$  which correlates both with binding to cis-element and DNA binding-independent transactivity in Caco-2 cells. *Life Sci.*

3. Murakami, K., Sasaki, S., Takahashi, Y., Uenishi, K., Yamasaki, M., Hayabuchi, H., Goda, T., Oka, J., Baba, K., Ohki, K., Kohri, T., Watanabe, R. and Sugiyama, Y. (2007): Nutrient and food intake in relation to serum leptin concentration among young Japanese women. *Nutrition* 23: 461-468
4. Murakami, K., Sasaki, S., Takahashi, Y., Uenishi, K., Yamasaki, M., Hayabuchi, H., Goda, T., Oka, J., Baba, K., Ohki, K., Kohri, T., Muramatsu, K., and Furuki, M. (2007): Hardness of the habitual diet in relation to body mass index and waist circumference in free-living Japanese women aged 18-22 years. *Am. J. Clin. Nutr.* 86: 206-213
5. Goda, T., Suruga, K., Komori, A., Kuranuki, S., Mochizuki, K., Makita, Y. and Kumazawa, T. (2007): Effects of miglitol, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, on glycaemic status and histopathological changes in islets in non-obese, non-insulin-dependent diabetic Goto-Kakizaki rats. *Br. J. Nutr.* 98: 702-710
6. Honma, K., Mochizuki, K. and Goda, T. (2007): Carbohydrate/fat ratio in the diet alters histone acetylation on the sucrase-isomaltase gene and its expression in mouse small intestine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 357: 1124-1129
7. Mitsui, T., Kasezawa, N. and Goda, T. (2007): Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults. *Nutrition Res.* 27: 395-399
8. Shimada, M., Mochizuki, K. and Goda, T. (2007): Dietary supplementation with epigallocatechin gallate elevates the levels of circulating adiponectin in non-obese type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 71: 2079-2082
9. Murakami, K., Sasaki, S., Takahashi, Y., Uenishi, K., Yamasaki, M., Hayabuchi, H., Goda, T., Oka, J., Baba, K., Ohki, K., Kohri, T., Watanabe, R. and Sugiyama, Y. (2008): Misreporting of dietary energy, protein, potassium, and sodium in relation to body mass index in young Japanese women. *Eur. J. Clin. Nutr.* 62: 111-118
10. Honma, K., Mochizuki, K. and Goda, T. (2008): Acute induction of histone acetylation on the jejunal sucrase-isomaltase gene by dietary fructose. *Br. J. Nutr.* in press