

財団法人日中医学協会
2007年度共同研究等助成金—中国人研究者・技術者招聘—報告書

2008年 3月 14日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った中国人研究者・技術者招聘について報告いたします。

添付資料： 研究報告書

受給者氏名： 島田達生 

所属機関名： 大分大学

所属部署： 医学部看護学科 職名： 教授
〒879-5593

所在地： 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1

電話： 097-586-5032 内線： 5032

1. 助成金額： 960,000 円

2. 研究テーマ

肥満モデル動物における神経性調節

3. 成果の概要 (100字程度)

KKAyマウスは高血糖を伴う肥満モデル動物である。対比マウスとしてC57BLマウスを使用した。水群と赤ワイン群に分けて、2週間飼育した。KKAyマウスにおいて、赤ワインは褐色脂肪組織を活性させ、白色脂肪細胞の肥大を抑え、脂肪肝をも改善させていた。免疫組織化学研究は赤ワインが交感神経終末に強く働いていることを暗示した。

4. 被招聘者

氏名：王海平 職名：准教授（副教授）
所属機関：河北北方学院 部署：医学部組織発生学講座

5. 滞在日程概要 (日付、主な活動・工程等)

平成19年5月～6月 : 大分大学医学部来日
動物実験の開始、試料作製
7月～8月 : 光学顕微鏡観察、電子顕微鏡観察
9月 : 一時帰国。博士論文を発表。河北北方学院医学部副教授に就任
10月～11月 : 動物実験再開。試料作製
12月～平成20年3月 : 免疫組織化学手法を取り入れた研究法を実施
3月28日 : 第113回日本解剖学会総会（大分）、ポスター発表

肥満モデル動物における神経性調節—赤ワインが脂肪組織に与える影響—

研究者氏名 王 海平
中国所属機関 河北北方学院
日本研究機関 大分大学医学部看護学科健康科学
指導責任者 教授 島田 達生
共同研究者名 千葉政一, 藤本佳菜子, 川里浩明,
安田愛子, 外菌英樹

要旨

肥満糖尿病モデル動物である KKAY マウスを使って、赤ワインが脂肪組織に与える影響を形態学的に調べた。肩甲骨間と胸大動脈の周囲の脂肪組織（褐色と白色）および腎臓周の脂肪組織（白色）を採取した。赤ワイン群の褐色脂肪組織(BAT)は水群に比べて、小型の脂肪滴を有し、エオジン好性の褐色脂肪細胞 (BAC) から構成されていた。電子顕微鏡観察によって、赤ワイン群の BAC はクリスタが発達したミトコンドリアを多数有していた。さらに免疫組織化学的研究は BAT が UCP-I 抗体や TH 抗体に強い陽性反応を示した。これらの所見は赤ワインが交感神経を刺激し、BAT を活性化させ、その結果、熱産生機能が亢進状態にあることを暗示した。一方、赤ワイン群における白色脂肪組織 (WAT) は水群の WAT に比べて、明らかに小型の白色脂肪細胞からなっていた。特にこのことは、内蔵脂肪において顕著であった。本実験から赤ワインの飲用は交感神経を刺激し、肥満や生活習慣病の予防にもつながることが推察される。

Key Words 褐色脂肪組織, 白色脂肪組織, 交感神経, 肥満モデル動物, 赤ワイン

緒言:

近年、社会的な問題として注目されているメタボリックシンドロームの病態は、肥満特に腹腔内の脂肪が蓄積する内蔵脂肪型肥満がその上流に位置している。ヒトを含む哺乳動物は、形態機能も異なる 2 種類の脂肪組織、白色脂肪組織(WAT)と褐色脂肪組織(BAT)を有している。一般に、脂肪組織といえば WAT を指しており、肥満になると大量の中性脂肪を蓄えているのが WAT である。一方、BAT は、小型脂肪滴と多くのミトコンドリアを有する細胞からなり、積極的に熱を産生し、体温の調節を行っている^{1,2)}。

今日、この BAT の熱産生が体温調節のみならず広くエネルギー消費の自立的調節に関与しており、その機能低下が肥満の一因になりうる^{3,4)}。さらに BAT は交感神経刺激によって活性化されるといわれている¹⁾。

先に、著者らは、赤ワインが BAT を活性化し、白色脂肪細胞の肥大を抑えていることを、UCP-I 抗体を用いた光学顕微鏡研究に加えて、透過電子顕微鏡と走査電子顕微鏡観察で明らかにした⁵⁾。本研究は、肥満モデル動物である KKAY マウスを使って、赤ワインが脂肪組織に与える効果を形態学的に調べる。また、uncoupling protein I(UCP-I)抗体と交感神経を同定するための tyrosin hydroxylase 抗体を使って、免疫組織化学的研究も併せて行う。

対象と方法:

生後 6 週齢の雄性肥満モデルマウス (KKAY マウス)、体重 26 g、と同週齢の対照動物 C57Black マウス、体重 22 g、各 8 匹総計 16 匹を 13 日間飼育した。飼料は固形飼料 (CE:日本クレア) を使用した。

KKAy マウスと C57BL マウスの 2 群をさらに、飲料水の違いにより、水群と赤ワイン群に分けた。赤ワインはマスカットベリーA（三和酒類）の 14%アルコール濃度のものを自由摂取させた。

ネンブタール深麻酔下で、マウスの肩甲骨間の皮下脂肪組織および脂肪組織を含む胸大動脈と腎臓を切り出し、光学顕微鏡（光顕）用、透過電子顕微鏡（TEM）用および走査電子顕微鏡（SEM）用試料を作製した。光顕用パラフィン切片を作製し、通常のヘマトキシリン・エオシン染色に加えて、uncoupling protein（UCP-I）抗体および tyrosine hydroxylase（TH）抗体を用いて免疫染色した。TEM 用には、厚さ約 70nm の超薄切片を作製し、ウランと鉛で二重染色した。SEM 用には、腎周囲の脂肪組織を凍結乾燥後に金蒸着した。

結果：

1. マウスの体重増加量と血糖値

13 日間飼育した 4 群の実験において、以下の結果が得られた。マウスの体重増加量は I 群（C57BL・水）では約 0.8 g、II 群（KKAy・水）は 10.3 g、III 群（KKAy・赤ワイン）は 8.45 g であった。赤ワイン摂取は明らかに体重の増加を抑えていた。

2. 脂肪組織の光学顕微鏡所見

1) 褐色脂肪組織（BAT）

8 週齢 C57BL マウスの肩甲骨間と胸大動脈の周囲に BAT が存在していた。それは光顕レベルでエオシン好性で小型の多胞性の脂肪滴を有する褐色脂肪細胞（WAC）から構成されていた（図 1a）。TEM レベルにおいて、WAC は小型脂肪滴の間にクリスタの発達したミトコンドリアを多数有していた（図 2a）。免疫組織化学的に、BAT は UCP-1 抗体と TH 抗体に対して強い陽性反応を示した。

KKAy・水群の BAT は、肩甲骨間と胸大動脈周囲の間で、大きな差異はなかった。BAC は対照群のそれよりもエオシンに対して染色性が低く、より大きな脂肪滴を有していた（図 1b）。KKAy・赤ワイン群の BAT は、エオシン好性で、小型の脂肪滴をもつ細胞によって構成されていた（図 1c）。CUP-1 抗体や TH 抗体に対する反応は水群よりも赤ワイン群の BAT において強かった。

2) 白色脂肪組織（WAT）

腎周囲の WAT はそれぞれの実験群で異なった様相を呈した。白色脂肪細胞（WAC）は、単一の大型脂肪滴を有し、核が辺縁にあることで容易に同定される。

KKAy・水群の WAT は、C57BL・水群のそれよりもはるかに大きな脂肪滴を有する細胞からなっていた（図 2a,b）。また、小型の再生された細胞もみられた。KKAy・赤ワイン群の WAT は、C57・水群よりもやや大きい細胞からなっていたが、KKAy・水群よりも明らかに脂肪細胞は小型であった（図 2c）。細胞の大きさは、C57 が 40-50 μm 、KKAy・水群が 80-100 μm 、KKAy・赤ワイン群が 60-80 μm であった。

3. 脂肪組織の電子顕微鏡所見

1) 透過電子顕微鏡所見

対象（正常）マウス（C57BL）の褐色脂肪細胞（WAC）は、細胞の中央に円形の核を有し、その細胞質は比較的小型（8 μm ~10 μm ）の脂肪滴とクリスタの発達したミトコンドリアによって占められていた。

KKAy・水群の WAC は、正常マウスのそれらに比べて、大型であり、核は辺縁に位置していた。細胞質はより大型（10 μm ~20 μm ）の脂肪滴によって占められ、ミトコンドリアは少なかった（図 3a）。KKAy・赤ワイン群の WAC は対象に近い像を呈し、脂肪滴は KKAy・水群よりも小型（8 μm ~12 μm ）で、ミトコンドリアも多かった（図 3b）。

2) 走査電子顕微鏡所見

走査電子顕微鏡は白色脂肪組織（WAT）を立体的に捉えることを可能にした。白色脂肪細胞（WAC）は球形であった。実験群の WAC の大きさはかなり異なっていた。C57BL マウスの WAC は約 50 μm であり、KKAy・水群の WAC は 100 μm で、かなり C57BL マウスのそれらよりも大きかった。KKAy・赤ワイン群の WAC は水

群よりも明らかに小型で約 60 μm 、対象に近い大きさの細胞もみられた。

考察：

KKAy マウスは肥満かつ糖尿病モデル動物として、一方、C57BL マウスは正常モデル動物として広く使われている。KKAy マウスは皮下脂肪のみならず、内臓脂肪も肉眼的に豊富にみられた。顕微鏡レベルに於いても、KKAy マウスの白色脂肪細胞は皮下のみならず内臓においても C57BL マウスのそれらよりも大型であった。一方、KKAy・水群の褐色脂肪細胞 (BAC) は C57BL マウスのそれらよりも大型で、より大きな脂肪滴で占められ、ミトコンドリアは明らかに少なかった。BAC 内のミトコンドリアに特異的な UCP-1 も少なかったことから、KKAy マウスの褐色脂肪組織 (BAT) は熱産生機能が低下していることが結論づけられた。

一般に、冬眠動物やヒトの新生児では、寒さが交感神経を刺激し、BAT を活性化し、熱産生が亢進する¹⁾。また、アルコールが BAT を活性化させるという報告がある²⁾。しかしながら、大量のアルコールや白ワインの 14 日間飲用は、C57BL マウスの BAT の機能低下をもたらし、白色脂肪細胞を肥大させた。一方、赤ワインは BAT を活性化し、白色脂肪細胞の肥大をおさえていた³⁾。今回の肥満モデル動物 KKAy を使った実験において、赤ワイン群の BAC は脂肪滴が小型化し、数多くのミトコンドリアを有していた。UCP-1 抗体に対しても強い陽性反応を示した。このような形態所見は、赤ワインが肥満動物においても BAT を活性化させることを物語っている。TH 抗体に対しても強い陽性反応を示したことは、赤ワインが交感神経を刺激し、その結果 BAT を活性化させたことが推察される。また、体重増加が抑えられ、白色脂肪細胞も小型化していた。

今回の赤ワインの飲用は大量であったため、今後、1 日の赤ワインの飲用量を減らし、長期間の実験を行う予定である。

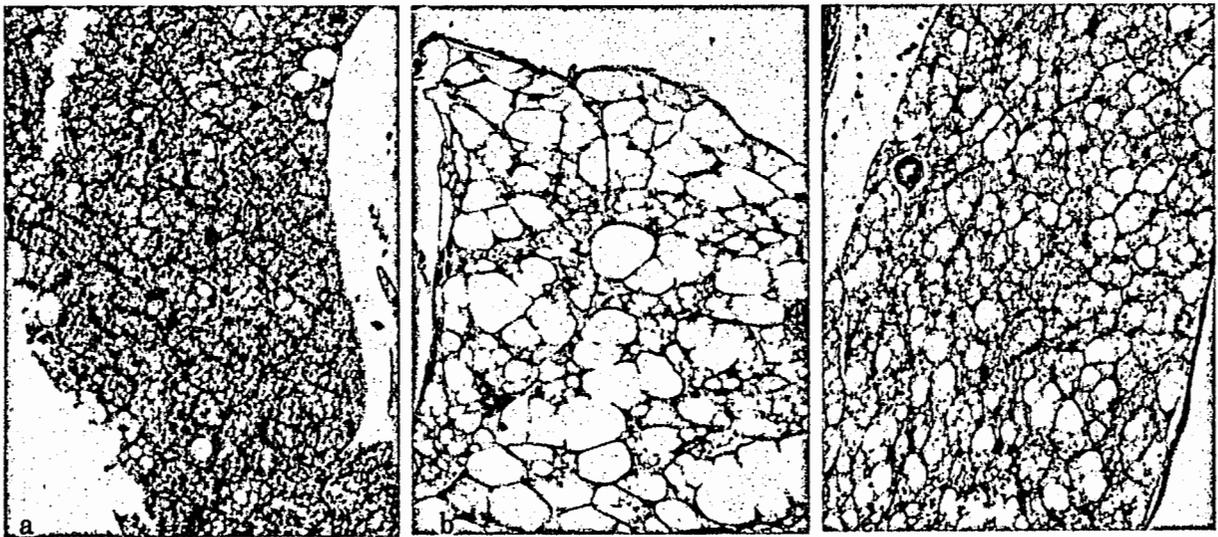


図 1 胸大動脈周囲の褐色脂肪組織

a : C57BL マウス

b : KKAy・水群

c : KKAy・赤ワイン群

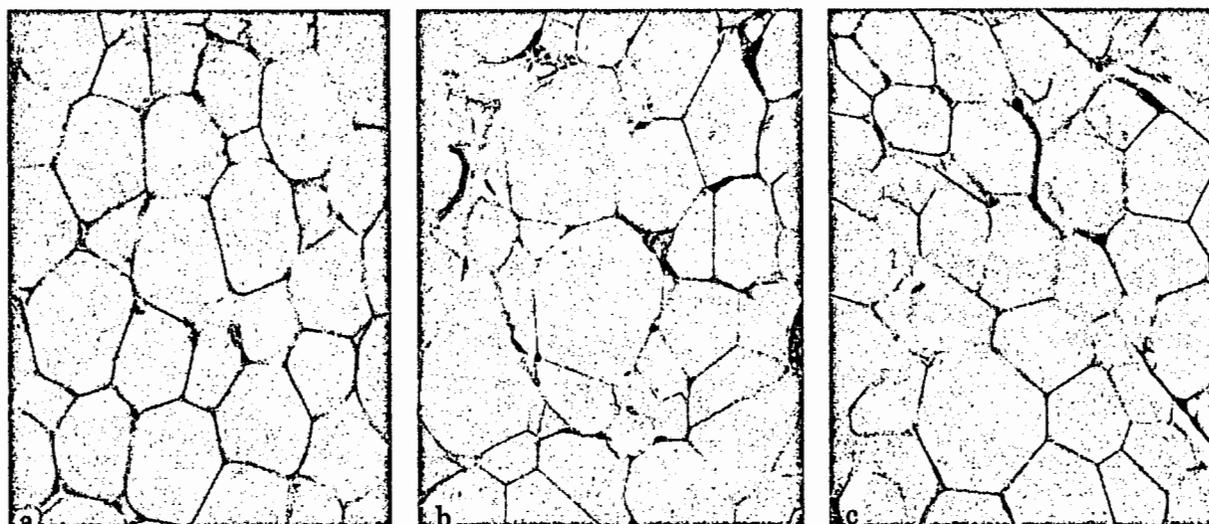


図2 腎周囲の白色脂肪組織

a : C57BL マウス

b : KKAY・水群

c : KKAY・赤ワイン群

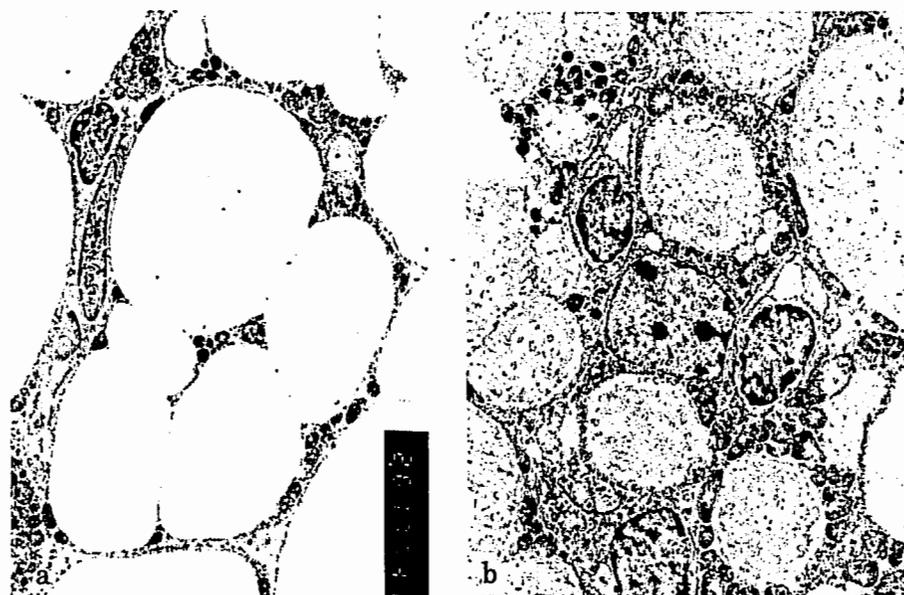


図3 KKAY マウス月の褐色脂肪細胞の透過電顕像

×2,000

a : KKAY・水群

b : KKAY・赤ワイン群

参考文献 :

1. Smith R.E. and Horwitz B.A.:Brown fat and Thermogenesis , phsiological Reviews. 49:330-408,1969
2. Juliet M.H. : The distribution of brown adipose tissue in the human. J.Anat. 112:35-39,1972
3. 野田幸子, 入江由希子, 木村和弘, 斉藤昌之:エネルギー代謝と褐色脂肪細胞. Pharma Medica 20:61-67,2002
4. 斉藤昌之:褐色脂肪細胞とメタボリックシンドローム. 実験医学, 25 : 61-67, 2007
5. 飯盛光葉, 千葉政一, 鹿子木和寛, 外菌英樹, 吉松博信, 島田達生:赤ワインによる褐色脂肪組織の活性, 形態学的研究, 肥満研究 12 : 199-205, 2006
6. Huttunen P .and Koetelainen:hong-term alcohol consumption and brown adipose tissue in man. Eur.J.Appl.physiol.60 :418-424,1990

作成日 : 2008年3月14日