

《様式B》

<b>研究テーマ</b>	「ローズクリスタ 70 を活用したメタボリックシンドローム予防改善食品の開発」
<b>研究責任者</b>	所属機関名 岐阜大学応用生物科学部 官職又は役職 シニア教授・教授 氏 名 長岡 利 メールアドレス : nagaoka.satoshi.d8@f.gifu-u.ac.jp
<b>共同研究者</b>	所属機関名 (株) 東洋発酵・ 官職又は役職 研究開発部・主席研究員 氏 名 岡田利孝

(令和2年度募集) 第33回 助成研究 完了報告書

上記様式記載後

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要 (1, 000字程度)

※産業技術として実用化の可能性や特許出願 (予定も含む) の有無についてもご記載ください。

【目的】

肥満は、心血管疾患、高血圧、Ⅱ型糖尿病および慢性疾患や癌の増加に大きく影響を与えている。その中で、心血管疾患は毎年、世界の死因の第1位である。この現状を改善するため、我々は食品由来成分の抗肥満作用について研究を行っている。バラには健康維持・向上に寄与する機能性の発揮が期待される多様なポリフェノールが含まれているが、バラポリフェノールの研究は極めて少ない。ROSE CRYSTA®-70 はバラ花びらから抽出したポリフェノールを濃縮した機能性素材であるが、肥満に対する影響は未検討である。そこで、食餌性肥満マウスを用いて、バラポリフェノール (ROSE CRYSTA®-70) の肥満に対する影響評価及び作用機構解明を本研究の目的とする。

【方法】

<実験> : C57BL/6J 系 C57BL/6J 系雄マウスに高脂肪食 (Control 群)、高脂肪食+0.25% ROSE CRYSTA®-70 (0.25%ROSE CRYSTA 群) を 35 日間摂取させ、体重増加量、食餌摂取量、肝臓重量、血清トリグリセリド濃度、血清コレステロール濃度、脂肪組織 (精巣上体、腎臓周囲、皮下、腸間膜) 重量を測定した。肝臓及び糞中脂質は Folch 法により抽出し、市販のキットで測定した。肝臓組織および脂肪組織の総 RNA を回収し、また、0.25%ROSE CRYSTA®-70 の効果を Real-time PCR と Western blot を用いて評価するために、肝臓および白色脂肪組織 (WAT) の脂質代謝関連遺伝子の mRNA レベルを測定した。

## 【結果】

0.25%ROSE CRYSTA 群は Control 群と比較して、体重、体重増加量、肝臓重量、脂肪組織重量（精巣上体、腎臓周囲、皮下、腸間膜）、血清コレステロール及び肝臓トリグリセリドは有意に低下した。0.25%ROSE CRYSTA 群は Control 群より糞中トリグリセリドは有意に上昇した。肝臓の Stearoyl-CoA desaturase-1 (*Scd-1*)、Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (*Hmgcr*) 及び Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 1 (*Acat1*) の mRNA は、0.25%ROSE CRYSTA 群で Control 群より有意に低下した、Hormone-sensitive lipase (*Hsl*) mRNA は 0.25%ROSE CRYSTA 群で Control 群より有意に上昇した。脂肪組織 Adipose triglyceride lipase (*Atgl*)、HSL、Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (*Ppar $\gamma$* )、Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase (*Acox*) の mRNA は 0.25%ROSE CRYSTA 群で Control 群より有意に上昇した。肝臓組織 SCD-1 のタンパク質レベルは 0.25%ROSE CRYSTA 群では Control 群より有意に低下した。脂肪組織 HSL、ACOX1、ATGL のタンパク質レベルは 0.25%ROSE CRYSTA 群では Control 群より有意に上昇した。

今後は、ローズクリスタ 70 に含まれる種々のポリフェノールを定量し、個々のポリフェノールの脂質代謝改善機能への寄与を評価し、機能性表示食品などとしての製品化を目指すことが期待できる。

## [特許関係]

今回の上記の成果以外のローズクリスタ 70 関連成果で、以下の特許を取得した。

整理番号 : GI-H29-26

出願番号 : 特願 2017-238375

出願日 : 平成 29 年 12 月 13 日

登録日 : 令和 4 年 2 月 15 日

特許番号 : 第 7024965 号

発明の名称 : HepG2 細胞における LDLR 遺伝子の

発現促進剤の製造方法

## 2. 実施内容および成果の説明 (A 4 で、5 ページ以内)

### 【目的】

肥満は、心血管疾患、高血圧、II型糖尿病および慢性疾患や癌の増加に大きく影響を与えている。その中で、心血管疾患は毎年、世界の死因の第1位である。この現状を改善するため、我々は食品由来成分の抗肥満作用について研究を行っている。バラには健康維持・向上に寄与する機能性の発揮が期待される多様なポリフェノールが含まれているが、バラポリフェノールの研究は極めて少ない。ROSE CRYSTA®-70 はバラ花びらから抽出したポリフェノールを濃縮した機能性素材であるが、肥満に対する影響は未検討である。そこで、食餌性肥満マウスを用いて、バラポリフェノール (ROSE CRYSTA®-70) の肥満に対する影響評価及び作用機構解明を本研究の目的とする。

### 【方法】

〈実験1〉 C57BL/6J 系雄マウスに高脂肪食 (Control 群)、高脂肪食+0.25%ROSE CRYSTA®-70 (0.25%ROSE CRYSTA 群)、高脂肪食+0.5%ROSE CRYSTA®-70 (0.5%ROSE CRYSTA 群)、高脂肪食+1%ROSE CRYSTA®-70 (1%ROSE CRYSTA 群) を 35 日間摂取させ、体重増加量、食餌摂取量、肝臓重量、血清トリグリセリド濃度、血清コレステロール濃度、脂肪組織 (精巣上体、腎臓周囲、皮下、腸間膜) 重量を測定した。肝臓脂質は Folch 法により抽出し、市販のキットで測定した。

〈実験2〉 C57BL/6J 系雄マウスに高脂肪食 (Control 群)、高脂肪食+0.25%ROSE CRYSTA®-70 (0.25%ROSE CRYSTA 群) を 35 日間摂取させ、体重増加量、食餌摂取量、肝臓重量、血清トリグリセリド濃度、血清コレステロール濃度、脂肪組織 (精巣上体、腎臓周囲、皮下、腸間膜) 重量を測定した。肝臓及び糞中脂質は Folch 法により抽出し、市販のキットで測定した。肝臓組織および脂肪組織の総 RNA を回収し、脂質代謝関連遺伝子 mRNA 発現量は Real-time PCR により測定した。

### 【結果】

〈実験1〉 0.25%、0.5%、1.0% ROSE CRYSTA 群は Control 群より体重が有意に低下した、食事摂取量は 1.0% ROSE CRYSTA 群では Control 群より有意に上昇した。肝臓重量は 0.5%、1.0% ROSE CRYSTA 群では Control 群より有意に上昇した (表1)。

[表 1]

	Control	0.25% ROSE CRYSTA®-70	0.5% ROSE CRYSTA®-70	1.0% ROSE CRYSTA®-70
Body weight gain (g/35days)	28.34±0.73 b	26.08±0.58 a	25.92±0.28 a	25.39±0.61 a
Food intake (g/35days)	83.34±5.63 a	74.54±3.63 a	82.26±6.14 a	111.11±6.56 b
Liver weight (g/100 g body weight)	3.35±0.05 a	3.5±0.08 a	3.88±0.05 b	3.93±0.16 b
Serum Triglyceride (mg/dL)	41.12±9.34 a	41.12±8.77 a	48.41±8.81 a	93.99±38.84 a
Serum Cholesterol (mg/dL)	108.23±2.98 ab	112.21±2.63 ab	123.05±2.21 b	101.51±6.36 a

脂肪組織重量 (精巣上体、腸間膜、腎周囲、皮下脂肪組織) は 0.25%、0.5%、1.0% ROSE CRYSTA 群では Control 群より有意に低下した (表2)。

[表 2]

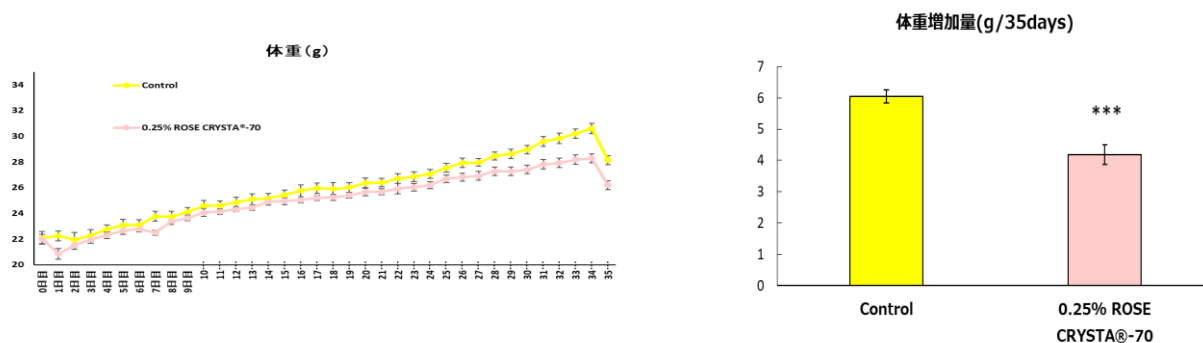
	Control	0.25% ROSE CRYSTA®-70	0.5% ROSE CRYSTA®-70	1.0% ROSE CRYSTA®-70
Epididymal WAT (g/100g body weight)	2.95±0.4 b	1.67±0.32 a	1.68±0.05 a	0.86±0.04 a
Mesenteric WAT (g/100g body weight)	0.96±0.11 c	0.51±0.06 ab	0.59±0.07 b	0.23±0.06 a
Perirenal WAT (g/100g body weight)	1.2±0.19 b	0.48±0.11 a	0.52±0.08 a	0.18±0.02 a
Subcutaneous WAT (g/100g body weight)	0.83±0.08 b	0.44±0.05 a	0.13±0.01 a	0.34±0.05 a
Total WAT (g/100g body weight)	5.95±0.71 b	3.1±0.52 a	3.28±0.17 a	1.62±0.14 a

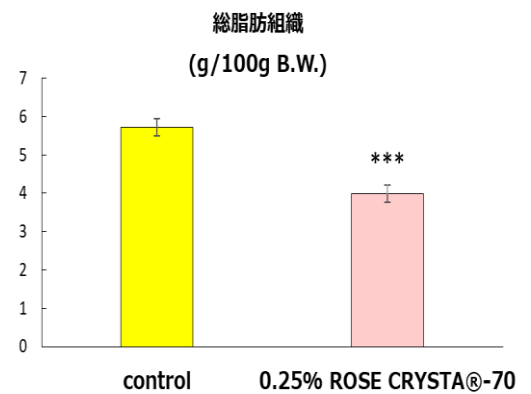
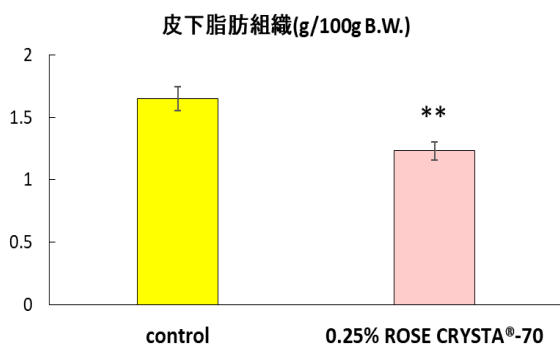
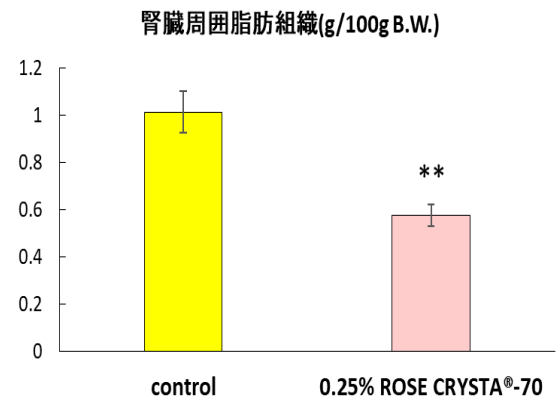
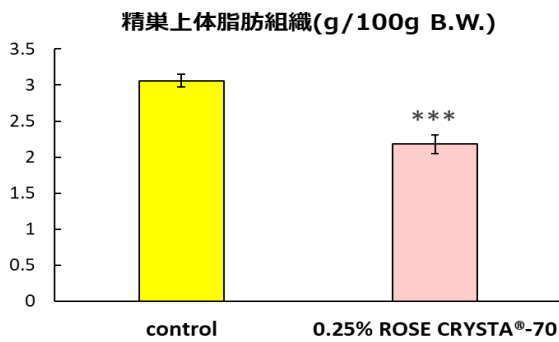
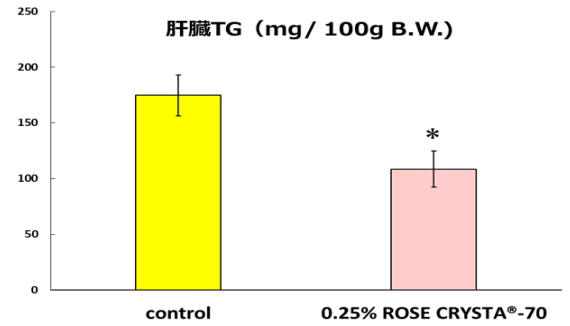
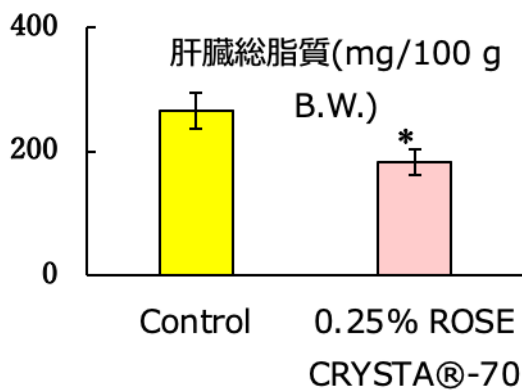
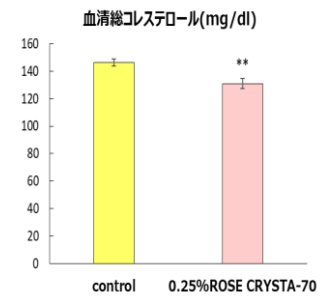
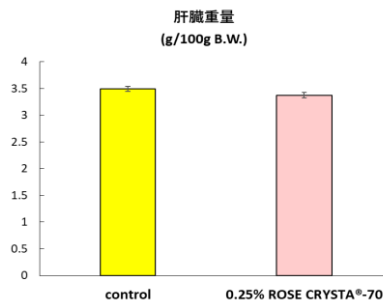
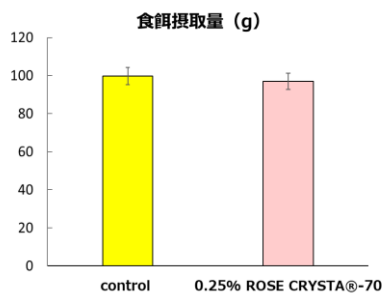
肝臓の総脂質及びトリグリセリドは 0.5% ROSE CRYSTA®-70 群、1.0% ROSE CRYSTA®-70 群において有意に減少し、肝臓コレステロールは 0.25% ROSE CRYSTA®-70 群、0.5% ROSE CRYSTA®-70 群、1.0% ROSE CRYSTA®-70 群において有意に減少した（表 3）。

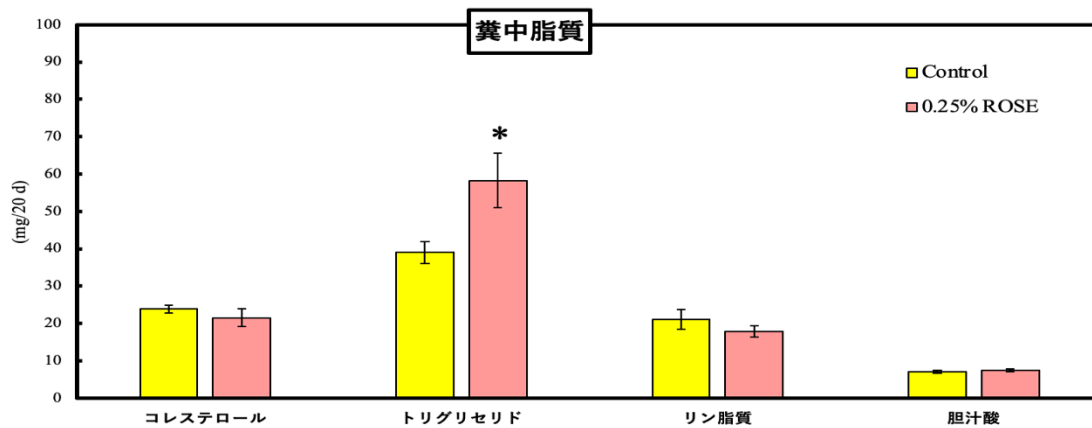
[表 3]

	Control	0.25% ROSE CRYSTA®-70	0.5% ROSE CRYSTA®-70	1.0% ROSE CRYSTA®-70
(mg/g Liver)				
Total lipid	69.14±5.46 b	57.54±4.86 ab	42.54±0.96 a	41.9±3.63 a
Triglyceride	31.92±3.8 b	27.69±4.28 b	12.97±1.54 a	12.06±3.31 a
Cholesterol	7.35±1.31 b	3.23±0.7 a	3.73±1.12 ab	1.96±0.51 a
Phospholipid	29.43±7 a	27.01±1.65 a	25.84±1.61 a	27.88±1.08 a
(mg/100 g B.W.)				
Total lipid	247.08±9.3 b	201.74±19.25 ab	165.1±5.43 a	162.47±9.06 a
Triglyceride	106.27±11.53 b	97.56±16.63 b	50.48±5.86 a	45.89±10.05 a
Cholesterol	24.42±4.03 b	10.1±3.13 a	14.58±4.03 ab	7.5±1.67 a
Phospholipid	99.78±24.43 a	94.08±5.02 a	100.03±5.03 a	109.09±3.95 a

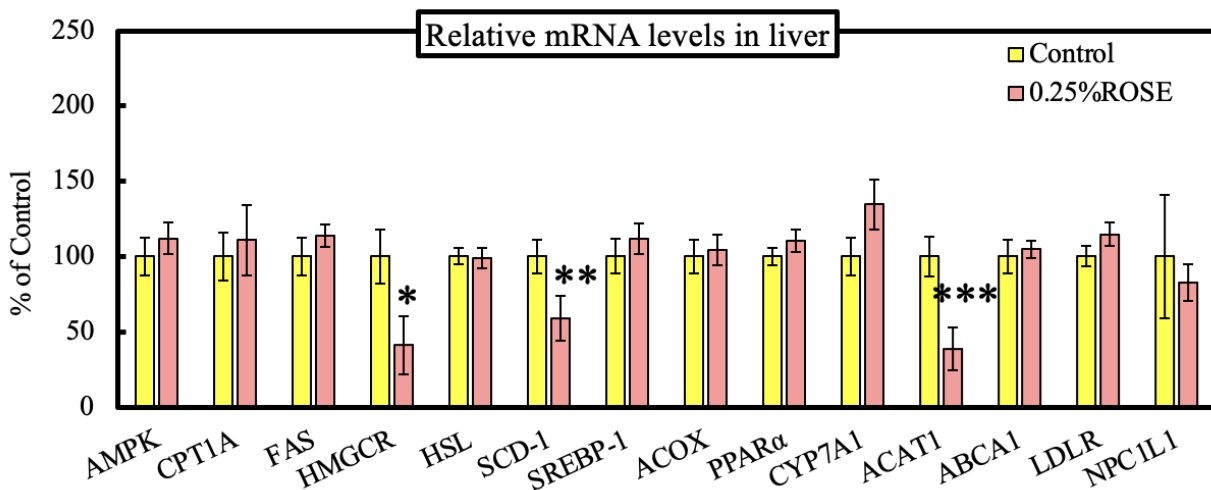
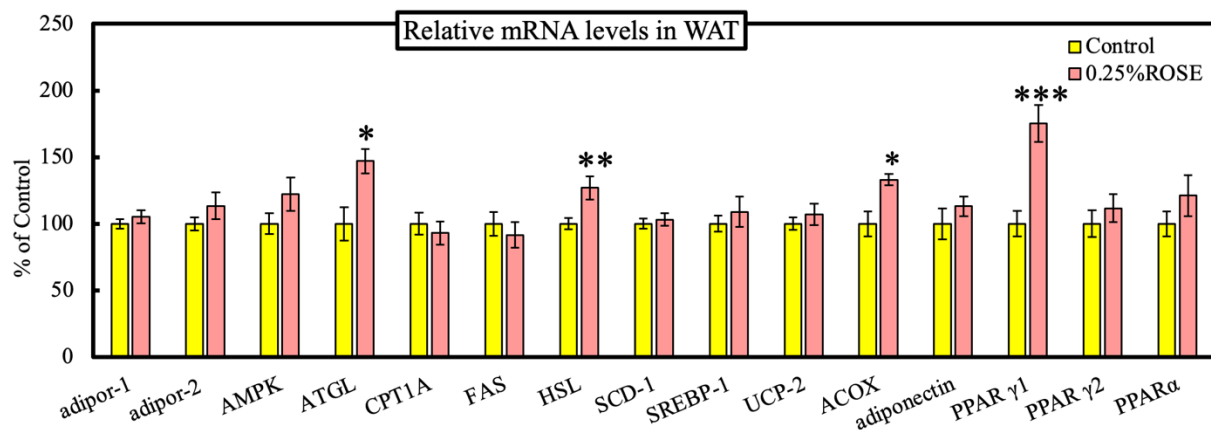
〈実験 2〉 0.25%ROSE CRYSTA 群は Control 群と比較して、体重、体重増加量、肝臓重量、脂肪組織重量（精巣上体、腎臓周囲、皮下、腸間膜）、血清コレステロール及び肝臓総脂質、肝臓トリグリセリド（TG）は有意に低下した。0.25%ROSE CRYSTA 群は Control 群より糞中トリグリセリドは有意に上昇した。







Liver (肝臓) の Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1)、Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (HMGCR) 及び Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 1 (ACAT1) の mRNA は、0.25% ROSE CRYSTA 群で Control 群より有意に低下した、Hormone-sensitive lipase (HSL) mRNA は 0.25% ROSE CRYSTA 群で Control 群より有意に上昇した。WAT (脂肪組織) の Adipose triglyceride lipase (ATGL)、HSL、Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ )、Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase (ACOX) の mRNA は 0.25% ROSE CRYSTA 群で Control 群より有意に上昇した。mRNA は relative mRNA levels で表示した。



以上により、糞中トリグリセリドの上昇は ROSE CRYSTA®-70 が食餌脂肪吸収を抑制する効果があることを示している。ROSE CRYSTA®-70 は脂肪分解系 HSL 及び ATGL の mRNA 発現量を上昇させ、脂肪分解を促進する。ROSE CRYSTA®-70 は脂肪合成系 SCD-1 の mRNA 及びタンパク質発現量を低下させ、脂肪合成を抑制する。よって、ROSE CRYSTA®-70 は、食餌脂肪の吸収抑制、脂肪分解促進及び脂肪合成の抑制作用により、抗肥満作用を発揮することを明らかにした。