

2014年度 博士学位論文

ヒト褐色脂肪組織の体脂肪調節への関与と
黒ショウガ抽出物による活性化に関する研究

松下 真美

目 次

略語一覧

序 章	1
第 1 章 体脂肪と関連血中パラメータに対する褐色脂肪組織の影響	6
1-1. 緒言	6
1-2. 方法	7
1-2-1. 被験者	7
1-2-2. FDG-PET/CT を用いた BAT の検出・評価	7
1-2-3. 体格・体組成の測定と血液検査	8
1-2-4. 統計解析	8
1-3. 結果	9
1-3-1. 被験者の BAT 評価	9
1-3-2. 被験者プロフィール：BAT 検出群と非検出群の比較	10
1-3-3. 体脂肪に対する BAT の影響	10
1-3-4. 血中パラメータに対する BAT の影響	15
1-4. 考察	22

第 2 章 黒ショウガ (*Kaempferia parviflora*) 抽出物摂取による

褐色脂肪組織の活性化とエネルギー消費亢進	24
2-1. 諸言	24
2-2. 方法	26
2-2-1. 被験者	26
2-2-2. 試験カプセル	26
2-2-3. 試験プロトコル	26
2-2-4. 体組成、体脂肪量の測定	27
2-2-5. エネルギー消費量の測定	27
2-2-6. 体表温度の測定	27
2-2-7. 統計解析	27
2-3. 結果	28
2-3-1. 被験者の BAT 評価とプロフィール	28
2-3-2. KPE 摂取後のエネルギー消費量の変化	29
2-3-3. KPE 摂取後の体表温度の変化	32
2-4. 考察	33
総括	35
謝辞	37
参考文献	38

略語一覧

- AFA: abdominal fat area 腹部脂肪面積
- BAT: brown adipose tissue 褐色脂肪組織
- BFM: body fat mass 体脂肪量
- BMI: body mass index 体格指数
- CIT: cold-induced thermogenesis 寒冷誘導熱産生
- CT: computed tomography コンピュータ断層撮影
- DIT: diet-induced thermogenesis 食事誘導熱産生
- FDG: 2-deoxy-2-fluoro-¹⁸F-D-glucopyranose フルデオキシグルコース (¹⁸F)
- HbA1c: hemoglobin A1c ヘモグロビン A1c
- HDL: high density lipoprotein cholesterol HDL コレステロール
- HOMA-IR: homeostasis model of assessment-insulin resistance HOMA-R 指数
- KPE: *Kaempferia parviflora* extract 黒ショウガ抽出物
- LDL: low density lipoprotein cholesterol LDL コレステロール
- NST: non-shivering thermogenesis 非震え熱産生
- PET: positron emission tomography 陽電子放射断層撮影
- PL: placebo プラセボ
- SFA: subcutaneous fat area 皮下脂肪面積
- SUV: standardized uptake value 腫瘍や体組織への FDG 薬剤集積程度を評価する指標
- T-chol: total cholesterol 総コレステロール
- TRP: transient receptor potential
- UCP1: uncoupling protein 1 脱共役タンパク質1
- VFA: visceral fat area 内臓脂肪面積
- WAT: white adipose tissue 白色脂肪組織

序 章

肥満は、欧米諸国をはじめ全世界的に増加の一途をたどり、大きな社会問題となっている¹⁾。わが国でも、若い女性においては痩せという別問題もあるが、20～60歳代男性の肥満者の割合が、十数年間にわたって30%前後と高い割合が続いている²⁾。肥満の内でも特に内臓脂肪型の肥満は、高血圧、耐糖能低下などの異常を誘発しメタボリックシンドロームの主因となるので、その予防・軽減が国家的課題となっている³⁾。

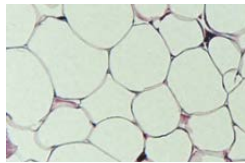
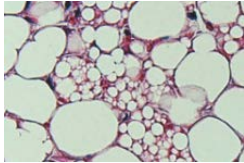
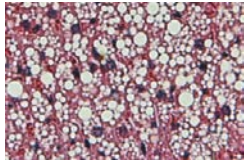
肥満は、食事摂取量が総エネルギー消費量を慢性的に上回ることにより脂肪組織に過剰な中性脂肪が蓄積される状態である。従って、その対策として、食事摂取量を減らすかエネルギー消費量を増やすか、両者を組み合わせるかが基本となる⁴⁾。しかし、これらはライフスタイルの大きな変更を伴うので、社会的および経済的要因によって制約を受け長期間に渡って維持するのが難しいことが多い。特に、交通手段の発達や日常生活の機械化・簡便化、室内でのデスクワークの増加などにより、体を動かす機会が減少し、エネルギー消費が少ないライフスタイルが定着しつつある。

エネルギー消費量は、基礎代謝量(約60%)、身体活動量(約30%)、熱産生(約10%)の3つに大きく分けられる⁵⁾。通常、糖や脂肪などの化学エネルギーが必要に応じてアデノシン 3リン酸(ATP)に合成され、筋肉運動や能動輸送、生合成などに利用された後に熱となり、最終的に熱は体外に放散される。この熱量がエネルギー消費量(代謝量)であり、栄養学分野では便宜的に基礎代謝量と身体活動量に区分して取り扱うのが一般的である。エネルギー消費の側からの肥満対策としては、筋肉運動によって身体活動量を増やすことが強調されるが、それを継続することが容易でないことは上述の通りである。

本研究で注目したのは、エネルギー消費量の内訳の約10%程度を占める熱産生であり、筋肉運動に依存しないため非震え熱産生(non-shivering thermogenesis, NST)と呼ばれる。NSTには、恒温動物が低温環境におかれた時に体温を維持するための寒冷誘導熱産生(cold-induced thermogenesis, CIT)と食事の特異動的作用として昔から知られている食事誘導熱産生(diet-induced thermogenesis, DIT)があり、いずれも温度あるいは食事栄養環境の変化に応じて代謝を適応的に亢進させて熱を産生する反応である。NSTを行う代表的な組織が褐色脂肪組織(brown adipose tissue, BAT)である。哺乳動物には、二種類の脂肪組織、BATと白色脂肪組織(white adipose tissue, WAT)が存在する。WAT中の白色脂肪細胞は、余剰なエネルギーを中性脂肪として単房性の脂肪滴として貯蔵し、飢餓などのエネルギー不足の際に脂肪酸として血中に放出し、全身に供給する。一方、褐色脂肪細胞では、細胞内の中性脂肪から生じた

脂肪酸は細胞内で酸化分解され、生じたエネルギーはミトコンドリア内膜に存在する特殊なタンパク質(uncoupling protein 1, UCP1)によって熱へと変換される。このように、BATはWATとは逆にエネルギーを消費する特殊な機能を持っている^{6,7)}。なお、最近、褐色脂肪細胞は発生学的由来からさらに二つに分類できることが明らかにされた。これらは、古典的褐色脂肪細胞とベージュ(またはブライト)脂肪細胞と呼ばれ、いずれもUCP1による熱産生能を有するが、存在部位や動物分布、環境変化への応答様式などが異なり、ヒト成人ではベージュ脂肪細胞が主とされている⁸⁾(表1)。

表 1. 脂肪細胞の特徴

	白色脂肪細胞	ベージュ脂肪細胞	褐色脂肪細胞
脂肪組織			
形態学的特徴	大型 単房性脂肪滴	混合型	小型 多房性脂肪滴 豊富なミトコンドリア
存在位置	皮下、内臓周囲	皮下、 鎖骨上部、椎体傍部	肩甲骨間(胎児のみ)、 深頸部、腎周囲
代謝特性	血中リポタンパク質から 中性脂肪を合成・貯蔵	脂肪酸をミトコンドリア UCP1で熱に変換	グルコースから中性脂肪 を合成・貯蔵
	遊離脂肪酸として血中 に放出		脂肪酸をミトコンドリア UCP1で熱に変換
生理的役割	過剰のエネルギーを貯蔵し、飢餓などに応じて全身に供給する	長期寒冷刺激などによって誘導され、熱産生・エネルギー消費を行う	寒冷刺激に応じて熱産生・エネルギー消費を行い体温維持に寄与する

UCP1 による BAT 熱産生は、交感神経によって直接支配されており、寒冷暴露などの生理的刺激が加わると褐色脂肪に密に分布する交感神経活動が亢進し、ノルアドレナリン→β アドレナリン受容体→アデニル酸シクラーゼによる cAMP 生成→タンパク質キナーゼ活性化→ホルモン感受性リパーゼ→中性脂肪の加水分解が進行し、脂肪酸が遊離する。この脂肪酸は、酸化分解されて熱産生の基質となると同時に UCP1 を活性化して発熱を引き起こす(図 1)。ノルアドレナリンが白色脂肪に作用すると、同様に脂肪分解が起こるが、ここで生じた脂肪酸は血中に放出され、BAT や筋肉で消費される。このように BAT 熱産生の主なエネルギー基質は脂肪酸であるが、グルコースの利用も UCP1 の活性化と同時に増える。これはオキサロ酢酸を十分に供給してクエン酸回路での脂肪酸・アセチル CoA の円滑な代謝分解を可能にするためであると共に、UCP1 による酸化的リン酸化の脱共役のために ATP 産生が不足するのを嫌氣的解糖によって補うためである⁹⁾。この UCP1 依存性のグルコース利用亢進はインスリン作用には依存せず、BAT 熱産生の代謝指標となるが、これを応用してヒト BAT を検出・評価することが出来る(後述)。

褐色脂肪組織・細胞に関する上記知見の大部分は、マウスやラットなどの小型げっ歯類やハムスターなどの冬眠動物、更には培養細胞を用いた *in vitro* での実験結果に基づいている。一方、ヒトの BAT については、新生児や特殊ながん患者には認められるが、健康な成人では通常の解剖・組織学的手段で検出するのが困難である。従って、成人には BAT は無い、あったとしてもごく微量で生理的役割は無視できるというのが通説であった¹⁰⁾。しかし、Saito らは、がんの画像診断法である陽電子放射断層撮影 (positron emission tomography, PET) を用いて BAT の代謝活性を評価し、健康成人にもかなりの BAT が存在することを明らかにした¹¹⁾。すなわち、健康被験者にフッ素の放射性同位元素 (¹⁸F) でラベルした非代謝性のグルコースである 2-fluoro-2-deoxyglucose (FDG) を投与して全身組織への集積を PET で検出すると、脳や心臓など糖代謝活性の高い部位への生理的集積に加えて頸部や肩部に集積が見られるケースがあり、X-ray computed tomography (CT) との同時撮影によってこれが脂肪組織であることが確認された。この脂肪組織への FDG 集積は室温が高いとほとんど検出されないが、2 時間程度の急性寒冷暴露によって激増するので、寒冷刺激によって活性化された BAT でのグルコース代謝を反映していると考えられる。事実、同部位から採取した脂肪組織中に UCP1 を有する脂肪細胞が多数認められた。同様の知見が海外からも相次いで報告され¹²⁻¹⁴⁾、現在は FDG-PET/CT がヒト BAT を検出・評価する標準的な方法として確立している。

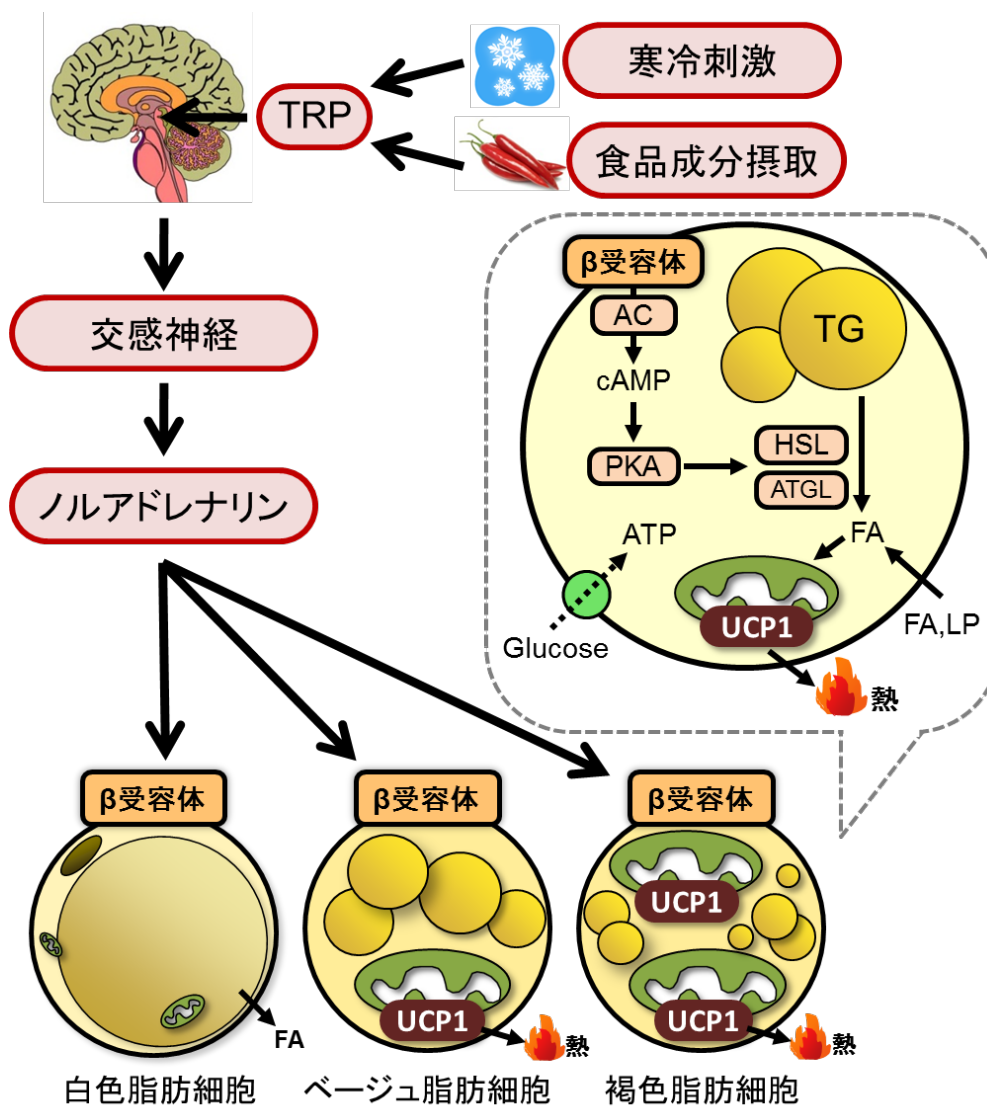


図 1. 褐色脂肪での UCP1 熱産生と交感神経による活性化

AC: アデニル酸シクラーゼ、ATGL: 脂肪細胞特異的トリグリセリドリパーゼ、
 cAMP: 環状 AMP、FA: 脂肪酸、HSL: ホルモン感受性リパーゼ、LP: リポタンパク質、
 PKA: cAMP 依存性タンパク質キナーゼ、TRP: transient receptor potential

その後申請者らのグループは、健常成人を対象に急性寒冷刺激で活性化される BAT を FDG-PET/CT で評価し、1) すべての被験者において温暖条件では FDG 集積は認められない、2) 若年者では半数以上検出されるが加齢とともに減少する、3) 夏季よりも冬季に BAT 量が増える、4) CIT は、BAT 検出者では高いが BAT 非検出者では僅かである、5) BAT 検出者は非検出者に比べて肥満度が低く、特に壮高年者でその差が顕著となる、6) 低活性 BAT 被験者に対して寒冷刺激を数週間継続すると、BAT 活性の上昇に伴い全身のエネルギー消費量が増加し、体脂肪量

が減少することなどを明らかにした^{11, 15-18)}。これらの結果は、乳幼児期にしか BAT は存在しないという定説を覆し、ヒト成人にも BAT が高頻度に存在することを示した。さらに、全身のエネルギー消費や体脂肪量の調節に関与しており、BAT を活性化・増量すれば肥満を軽減・予防できる可能性を示唆している。

このように、BAT 活性と肥満度は密接に関連していると思われるが、両者共に様々な内のおよび外的要因によって変化する。例えば、肥満度は BAT 活性と逆相関するが壮高年者では上昇する。従って、加齢に伴う体脂肪増加(いわゆる中年太り)は BAT 活性の低下ではなく、加齢に伴う他の変化に起因する可能性もある。さらに、肥満は体脂肪増加のみならず様々な内分泌代謝異常を引き起こすが、それらと BAT との関係についても不明な点が多い。また、寒冷刺激が BAT を活性化・増量し、肥満軽減に有効ではあるが、それを日常生活に取り入れることは困難であり現実的ではない。そこで本研究では、健常被験者を対象に、まず肥満度や関連する血中パラメータに対する BAT 活性の影響について他の要因と併せて網羅的解析を行い、肥満や関連する代謝内分泌異常に対する BAT 単独の関与を確定した(第 1 章)。次に、BAT を食品成分によって活性化・増量させて肥満を軽減・予防する試みの一環として、既に体脂肪の減少効果が知られている黒ショウガ(*Kaempferia parviflora*)抽出物に焦点を当てて実験的検討を行い、この抽出物が BAT を活性化してエネルギー消費を高めることを明らかにした(第 2 章)。これらの成果については、以下の通り国際肥満学会連合機関誌と日本栄養・食糧学会学会誌に原著論文として発表済みである。

1. Mami Matsushita, Takeshi Yoneshiro, Sayuri Aita, Toshimitsu Kameya, Hiroki Sugie, Masayuki Saito: Impact of brown adipose tissue on body fatness and glucose metabolism in healthy humans, *International Journal of Obesity*, 38, 812-817, 2014.
2. Mami Matsushita, Takeshi Yoneshiro, Sayuri Aita, Tomoyasu Kamiya, Nobutaka Kusaba, Kazuya Yamaguchi, Kinya Takagaki, Toshimitsu Kameya, Hiroki Sugie, Masayuki Saito: *Kaempferia parviflora* extract increases whole-body energy expenditure in humans: roles of brown adipose tissue, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 61(1), 79-83, 2015.

第 1 章 体脂肪と関連血中パラメータに対する褐色脂肪組織の影響

1-1. 諸言

BAT での熱産生が全身のエネルギー消費に一定の寄与をしており、それによって体脂肪量の調節に関わることは、マウスやラットでの実験結果から確立している。一方、ヒト、特に成人では BAT の役割はもとよりその存在自体に関する知見が限られていたので、エネルギー代謝や肥満との関係については不明のままであった。しかし、FDG-PET/CT により BAT の検出・評価が可能となり、ヒト成人にも BAT が高頻度に存在することが明らかになった¹¹⁾。申請者らのグループは、健康成人を対象に BAT を FDG-PET/CT で評価し、1) 温暖条件では検出できないが寒冷刺激を与えると活性化し検出される、2) 若年者では半数以上検出されるが加齢とともに減少する、3) 夏季よりも冬季に増える、4) BAT 検出者は非検出者に比べて肥満度が低く、特に壮高年者でその差が顕著となる、5) 低活性 BAT 被験者に対して寒冷刺激を数週間継続すると、BAT 活性の上昇に伴い全身のエネルギー消費量が増加し体脂肪量が減少することなどを明らかにした¹⁰⁾。これらの結果は、BAT がマウスなどと同様にヒトでも体脂肪量・肥満度の調節に関与することを示唆している。

類似の研究は、他のグループによってもなされているが、それらの結果は必ずしも一致しているわけではない。特に BAT の検出頻度については、5~90%と報告によって大きく異なっている¹⁰⁾。これは、対象としている被験者の人種、年齢、性別、肥満度などの違いに加えて、FDG-PET/CT 検査の条件の違いに起因するところが多い。例えば、健康者を対象にした申請者らや他のいくつかのグループの報告では、震えが起こらない範囲での積極的な急性寒冷刺激(室温 15~19°C で薄着、あるいは冷水を循環させたウォータージャケット装着など)を 1~2 時間程度行ってから検査し、30~90%と高い頻度で BAT を検出している^{11, 13-15, 19)}。一方、がん検査などを目的とした患者を対象とした臨床報告では、大部分が 10%以下と低い検出率となっている^{12, 20-23)}。この違いは、後者では積極的な寒冷刺激を行っていないため BAT が活性化されず、検出率が過小評価されたためと思われる。また、検査時期も重要で、冬に高い BAT 活性が認められる被験者であっても夏に再検査すると、激減するか全く検出されなくなる¹¹⁾。従って、年齢や肥満度など、BAT に影響すると思われる様々な要因を検討する際には、検査時期を冬季とし、急性の寒冷刺激を与えて最大限に活性化した状態で BAT を評価することが必須である。そこで本研究では、幅広い年齢と肥満度の健康男女を対象に、冬季間(1~3 月)に 2 時間の寒冷刺激を与えて FDG-PET/CT 検査を行うことにより BAT 活性を正確に評価して、肥満関連の身体パラメータへの影響を詳細に解析することとした。

肥満、特に内臓脂肪の過剰蓄積は耐糖能低下、インスリン抵抗性、脂質代謝異常、高血圧など、いわゆるメタボリックシンドロームと言われる異常を引き起こす³⁾。BAT と肥満との関係を考えると、その 2 次的結果として BAT が糖や脂質代謝に対しても影響することは十分に予想できる。事実、寒冷暴露や β -アドレナリンの刺激によって BAT を活性化し肥満を軽減すると、耐糖能やインスリン感受性が大幅に改善することがげっ歯類では繰り返し報告されている^{24, 25)}。更に最近、肥満とは独立に BAT が耐糖能やインスリン感受性に関わる可能性がマウスで示された。Nishio らは、ヒト iPS 細胞から作成した褐色脂肪細胞をマウスに移植すると、体脂肪量はほとんど変化することなく耐糖能が改善することを報告している²⁶⁾。Stanford らも肥満マウスに BAT 組織片を移植して同様の効果を確認している²⁷⁾。そこで、本研究ではヒトの糖や脂質代謝への BAT の関与を明らかにするために、関連する血中パラメータに及ぼす BAT や肥満度の影響について詳細に解析した。

1-2. 方法

1-2-1. 被験者

20～72 歳の日常生活を支障なく過ごしている健康な男女 260 名(男性 184 名、女性 76 名)を被験者とした。すべての被験者は、研究の目的と方法について十分な説明を受け、同意をした上で本研究に参加した。本研究は、天使大学研究倫理委員会の承認を得て行った。

1-2-2. FDG-PET/CT を用いた BAT の検出・評価

FDG-PET/CT 検査は、既に報告した方法¹¹⁾にしたがって、冬季間(2007 年～2013 年の 12 月～3 月)に行った。被験者は、6～12 時間の絶食後、LSI 札幌クリニック(札幌市東区)にて一般的な健康診断を受け、採血を行った。その後、寒冷刺激を受けるために、室温 19°C に保たれた部屋に移動し、T シャツと短パンのみの薄着となり氷ブロックに足裏を間歇的に付けた状態で椅子に座って安静を保った。このような寒冷刺激を 1 時間続けた後に、¹⁸F-FDG (1.66-5.18MBq/kg) を静脈注射し、さらに寒冷刺激を継続した。¹⁸F-FDG 注射の 1 時間後、24°C の部屋で PET/CT システム(Aquiduo; 東芝メディカルシステム、栃木)を用いて約 30 分間の全身スキャンを行った。PET と CT の画像は、VOX-BASE workstation (J-MAC System、札幌)を用いて評価と解析を行った。各部位への FDG 集積、特に肩、頸、傍脊椎部位の脂肪組織への ¹⁸F-FDG 取り込みについて、3 名の放射線医学の専門家が視覚的に評価し、BAT の有無を判断した。さらに、¹⁸F-FDG が全身に均一に分布する(かつ排泄されていない)と仮定したときの組織を 1 とし、それに対する対象組織

の放射濃度が何倍であるかを示した半定量的数値 standardized uptake value (SUV) を次の式によって算出した。SUV = 組織放射能 [Bq/g] ÷ 投与量 [Bq/g 体重]。SUV 算出後に肩の部分の最も高い SUV 値 (SUVmax) を用い、カットオフ値を 2.0 として^{21, 28)}、2.0 以下を BAT 非検出者、2.1 以上を BAT 検出者として評価した。

1-2-3. 体格・体組成の測定と血液検査

FDG-PET/CT 検査同日に、身体測定を行い、体重(kg)を身長(m)の 2 乗で除して体格指数 (body mass index, BMI)を算出した。体脂肪量(body fat mass, BFM)は、生体電気インピーダンス法により体重体組成計(カラダスキャン HBF-361;オムロン、京都)を用いて測定した。腹部脂肪面積(abdominal fat area, AFA)、内臓脂肪面積(visceral fat area, VFA)、皮下脂肪面積(subcutaneous fat area, SFA)は、FDG-PET/CT 検査での CT 画像の L4-L5 の腹部から算出した。

FDG-PET/CT 検査時に採取した血液の分析は、検査施設(SRL、札幌)に外注した。血液検査項目は、グルコース、ヘモグロビン A1c(HbA1c)、インスリン、総コレステロール(T·chol)、HDL コレステロール(HDL)、LDL コレステロール(LDL)、中性脂肪とし、HOMA-IR はグルコース (mg/dl)とインスリン(μU/ml)を乗じ、405 で除して求めた。

1-2-4. 統計解析

Shapiro-Wilk の正規性検定を行ったところ、ほとんどのデータ項目が正規分布ではなかったため、数値は中央値(25 パーセンタイル値、75 パーセンタイル値)で示した。BAT 検出群と非検出群の中央値の比較は Wilcoxon-Mann-Whitney 検定を行い、BAT 検出頻度の差は、性別と年齢に n 数の偏りがあるため、年齢を 4 分位に分け Mantel-Haenszel 検定を行った。BAT 検出・非検出と他の様々な数値との関連を調べるために、単変量と多変量ロジスティック回帰分析を行った。はじめに、各体脂肪パラメータ(BMI、体脂肪量、AFA、VFA、SFA)の中央値未満(0)、中央値以上(1)を従属変数とし、BAT 検出(1)・非検出(0)、年齢、性別(女性 0、男性 1)を独立変数として解析した。その後、血中パラメータ(グルコース、HbA1c、インスリン、HOMA-IR、T·chol、HDL、LDL、中性脂肪)の中央値未満(0)、中央値以上(1)を従属変数として、調整変数である年齢、性別とともに BAT 検出・非検出、体脂肪パラメータを独立変数として調整オッズ比と 95%信頼区間(95%CI)を算出した。これらの解析は、統計解析ソフト IBM SPSS Statistics20(日本 IBM、東京)を用い、有意水準は 5%とした。

1-3. 結果

1-3-1. 被験者の BAT 評価

12月～3月の冬季間に2時間の急性寒冷刺激を行った後、FDG-PET/CT検査を行った被験者は、女性76名、男性184名の合計260名であった。このうち125名(48%)の被験者において鎖骨上領域の脂肪組織にFDG集積が認められた(図2A, B)。鎖骨上領域に加えて約2/3の被験者には、傍脊椎の脂肪組織にもFDG集積が認められた(図2B)。鎖骨上領域は、すべてのBAT検出者でFDG集積が認められたため、鎖骨上領域でのFDG集積を評価しBAT検出(図2A, B)、非検出(図2C)群に被験者を分けて以下の解析を行った。

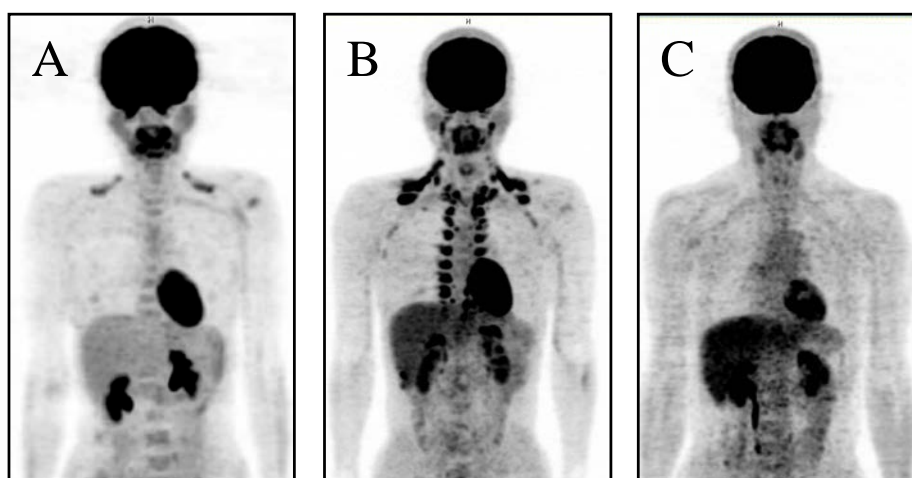


図2. BAT検出者と非検出者の典型的なPET画像

A:34歳女性、鎖骨上領域にFDG集積が認められた、B:24歳男性、鎖骨上領域と傍脊椎部分にFDG集積が認められた、C:43歳男性、FDGの集積は認められなかった

1-3-2. 被験者プロフィール:BAT 検出群と非検出群の比較

表 2 に全被験者 260 名のプロフィールを BAT 検出群と非検出群の比較と併せて示した。BAT 検出率は、男性が 54% (100/184 名) と女性 33% (25/76 名) よりも高い傾向があったが、Mantel-Haenszel 検定を使って年齢を調整して比較すると、性差は認められなかった (オッズ比 1.75、95%CI 0.97-3.17、 $p<0.08$)。BAT 検出群は、非検出群と比較して年齢が 24 歳 (非検出群 33 歳) と若く、BMI は 21.0 (非検出群 22.1)、体脂肪量は 11.3kg (非検出群 14.0kg)、AFA は 125.5 cm² (非検出群 174.9cm²) と肥満関連の数値が低かった。これらは、男女別で見ても同様であった (表 3, 4)。血中パラメータは、全体でみると両群とも正常範囲内にあったが、HbA1c は 5.0% (非検出群 5.2%)、T-chol は 185mg/dl (非検出群 189mg/dl)、LDL は 104mg/dl (非検出群 111mg/dl) と BAT 検出群の方が非検出群より有意に低かった。グルコースは 84mg/dl (非検出群 86mg/dl) で有意ではなかったが同様の傾向がみられた ($p<0.07$) (表 2)。男女別にみると、女性では HbA1c 5.0% (非検出群 5.2%) (表 3)、男性はグルコース 84mg/dl (非検出群 87mg/dl)、HbA1c 5.0% (非検出群 5.2%) (表 4) と BAT 検出群の方が非検出群より有意に低かった。

1-3-3. 体脂肪に対する BAT の影響

上記の結果から、BAT が体脂肪に影響する可能性が示唆されたが、体脂肪の量や分布は BAT のみならず性別、年齢、内分泌状態を含む生物学的因子に依存して多様に変動することは良く知られている。更に BAT 活性そのものも年齢などによって大きく影響を受ける。そこで、これらを考慮して体脂肪に対する BAT と年齢、性別の影響を調べるために、ロジスティック回帰分析を行った。表 5 は、BAT、年齢、性別を独立変数、体脂肪パラメータ (BMI、BFM、AFA、VFA、SFA) を従属変数として解析を行ったものである。単変量解析では、VFA 以外の体脂肪パラメータに BAT が何らかの影響を与えていることが確認された。更に多変量解析を行ったところ、大部分の体脂肪パラメータにおいて BAT が年齢や性別とは独立した影響因子であることが判明した。

表 2. 被験者プロフィール(全体)

		全体		BAT検出群		BAT非検出群		P
N数(女性 男性)		260	(76 184)	125	(25 100)	135	(51 84)	
年齢	(歳)	26	(22 39)	24	(22 31)	33	(24 45)	***
身長	(cm)	170.0	(162.3 175.0)	171.1	(165.0 175.0)	167.4	(160.4 174.6)	*
体重	(kg)	62.3	(54.9 68.1)	60.9	(54.9 67.2)	63.9	(55.0 68.7)	N.S.
BMI	(kg/m ²)	21.6	(20.1 23.5)	21.0	(19.9 22.6)	22.1	(20.4 24.5)	**
体脂肪量	(kg)	12.4	(9.2 16.6)	11.3	(8.6 14.8)	14.0	(10.4 18.2)	***
腹部脂肪面積	(cm ²)	141.8	(89.2 218.8)	125.5	(74.9 179.1)	174.9	(104.7 261.5)	***
内臓脂肪面積	(cm ²)	36.2	(23.4 56.8)	32.3	(21.8 46.2)	40.1	(24.7 75.2)	**
皮下脂肪面積	(cm ²)	99.0	(59.7 160.5)	87.0	(50.5 134.9)	121.7	(72.6 189.0)	***
グルコース	(mg/dl)	85	(81 90)	84	(80 89)	86	(81 91)	N.S.
HbA1c	(%)	5.1	(4.9 5.2)	5.0	(4.9 5.2)	5.2	(4.9 5.4)	***
インスリン	(mU/l)	4.1	(3.0 5.6)	4.2	(3.2 5.7)	4.1	(3.0 5.6)	N.S.
HOMA-IR		0.9	(0.6 1.2)	0.9	(0.6 1.2)	0.9	(0.6 1.2)	N.S.
総コレステロール	(mg/dl)	188	(169 210)	185	(163 208)	189	(175 216)	*
HDL-コレステロール	(mg/dl)	66	(56 76)	66	(56 75)	66	(55 79)	N.S.
LDL-コレステロール	(mg/dl)	107	(89 123)	104	(86 119)	111	(90 128)	*
中性脂肪	(mg/dl)	61	(47 86)	63	(46 88)	58	(47 86)	N.S.

値は、中央値(25 パーセンタイル 75 パーセンタイル)、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001 vs.BAT 非検出群、N.S.:not significant

表 3. 被験者プロフィール(女性)

		女性	BAT検出群	BAT非検出群	P
N数		76	25	51	
年齢	(歳)	31 (25 44)	31 (28 37)	33 (24 49)	N.S.
身長	(cm)	159.2 (155.0 162.7)	157.0 (154.1 162.8)	159.7 (155.0 162.7)	N.S.
体重	(kg)	52.9 (47.5 58.7)	50.7 (45.7 54.1)	54.0 (50.6 59.5)	*
BMI	(kg/m ²)	21.0 (19.1 22.8)	20.4 (18.7 22.0)	21.3 (19.1 23.3)	N.S.
体脂肪量	(kg)	14.8 (11.4 17.5)	12.6 (9.4 15.9)	15.3 (12.1 17.8)	*
腹部脂肪面積	(cm ²)	172.9 (113.6 236.5)	130.4 (93.9 203.4)	190.2 (127.6 288.5)	*
内臓脂肪面積	(cm ²)	32.3 (21.7 51.1)	27.3 (21.6 36.7)	36.9 (23.7 57.4)	*
皮下脂肪面積	(cm ²)	129.1 (91.1 201.3)	104.7 (68.4 164.9)	150.4 (95.3 230.0)	*
グルコース	(mg/dl)	84 (79 89)	83 (79 89)	84 (79 89)	N.S.
HbA1c	(%)	5.1 (4.9 5.4)	5.0 (4.9 5.3)	5.2 (5.0 5.4)	*
インスリン	(mU/l)	4.0 (2.9 5.1)	3.9 (3.1 5.2)	4.0 (2.6 4.8)	N.S.
HOMA-IR		0.8 (0.6 1.1)	0.8 (0.6 1.1)	0.8 (0.5 1.0)	N.S.
総コレステロール	(mg/dl)	193 (175 215)	186 (169 209)	194 (178 221)	N.S.
HDL-コレステロール	(mg/dl)	77 (62 87)	75 (64 87)	78 (60 87)	N.S.
LDL-コレステロール	(mg/dl)	108 (89 125)	100 (91 115)	110 (89 128)	N.S.
中性脂肪	(mg/dl)	55 (43 80)	53 (42 74)	55 (43 82)	N.S.

値は、中央値(25 パーセンタイル 75 パーセンタイル)、*P<0.05 vs.BAT 非検出群、N.S.: not significant

表 4 被験者プロフィール(男性)

		男性	BAT検出群		BAT非検出群		P
N数		184	100		84		
年齢	(歳)	24 (22 35)	23 (21 27)	30 (23 43)			***
身長	(cm)	172.6 (169.0 176.0)	172.7 (169.1 176.0)	172.5 (169.0 176.0)			N.S.
体重	(kg)	65.5 (60.6 71.4)	64.0 (58.9 68.4)	67.8 (63.3 73.4)			**
BMI	(kg/m ²)	21.8 (20.4 23.8)	21.1 (20.1 22.9)	22.5 (20.8 24.7)			***
体脂肪量	(kg)	11.6 (8.6 15.6)	10.7 (8.4 14.2)	12.6 (9.1 18.2)			*
腹部脂肪面積	(cm ²)	133.9 (77.6 208.7)	114.4 (68.1 166.5)	157.9 (90.9 244.9)			**
内臓脂肪面積	(cm ²)	38.2 (24.0 62.7)	35.5 (22.5 48.7)	42.6 (27.7 83.6)			**
皮下脂肪面積	(cm ²)	89.0 (51.7 142.2)	80.8 (48.2 122.8)	100.4 (59.8 161.5)			*
グルコース	(mg/dl)	86 (81 91)	84 (80 89)	87 (83 92)			**
HbA1c	(%)	5.1 (4.9 5.2)	5.0 (4.9 5.2)	5.2 (4.9 5.2)			*
インスリン	(mU/l)	4.4 (3.2 5.9)	4.4 (3.2 5.9)	4.4 (3.1 6.0)			N.S.
HOMA-IR		0.9 (0.7 1.3)	0.9 (0.6 1.2)	0.9 (0.7 1.3)			N.S.
総コレステロール	(mg/dl)	186 (166 207)	183 (162 205)	189 (170 211)			N.S.
HDL-コレステロール	(mg/dl)	63 (54 71)	64 (56 73)	62 (52 70)			N.S.
LDL-コレステロール	(mg/dl)	107 (89 122)	104 (86 120)	113 (91 129)			N.S.
中性脂肪	(mg/dl)	65 (50 90)	67 (50 90)	62 (50 89)			N.S.

値は、中央値(25 パーセンタイル 75 パーセンタイル)、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001 vs.BAT 非検出群、N.S.:not significant

表 5. 体脂肪パラメータに関連する因子(全体)

	単変量		多変量	
	OR (95%CI)		OR (95%CI)	
BMI				
BAT	0.69 (0.48-0.98)	*	0.41 (0.25-0.66)	***
年齢	1.00 (1.00-1.01)		1.01 (1.00-1.02)	
性別	1.14 (0.85-1.52)		1.54 (0.93-2.55)	
体脂肪量 (BFM)				
BAT	0.60 (0.42-0.87)	**	0.49 (0.29-0.80)	**
年齢	1.01 (1.00-1.02)	*	1.04 (1.03-1.06)	***
性別	0.74 (0.55-0.99)	*	0.34 (0.20-0.58)	***
腹部脂肪面積 (AFA)				
BAT	0.59 (0.41-0.85)	**	0.40 (0.24-0.67)	***
年齢	1.01 (1.00-1.02)	*	1.04 (1.02-1.05)	***
性別	0.82 (0.61-1.10)		0.44 (0.26-0.75)	**
内臓脂肪面積 (VFA)				
BAT	0.80 (0.56-1.14)		0.49 (0.30-0.79)	**
年齢	1.01 (1.00-1.02)	*	1.02 (1.01-1.03)	**
性別	1.15 (0.86-1.54)		1.04 (0.63-1.71)	
皮下脂肪面積 (SFA)				
BAT	0.65 (0.46-0.94)	*	0.56 (0.34-0.93)	*
年齢	1.01 (1.00-1.01)		1.04 (1.02-1.05)	***
性別	0.75 (0.56-1.01)		0.36 (0.21-0.61)	***

値は、オッズ比(95%信頼区間)。*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

1-3-4. 血中パラメータに対するBATの影響

次に、血中パラメータに対する体脂肪とBATの影響を明らかにするために、血中パラメータを従属変数、年齢、性別、BAT、体脂肪パラメータを独立変数として、ロジスティック回帰分析を行った(表 6A-D)。単変量解析では、BMI以外の体脂肪パラメータ(表 6B-D)でHbA1c、インスリンとの有意な関連を示した。また、VFA(表 6C)では今回解析したすべての血中パラメータ、SFA(表 6D)ではHOMA-IR、中性脂肪との関連が示された。しかし、BAT(表 6A-D)ではどの血中パラメータとも関連が認められなかった。多変量解析においては、体脂肪パラメータ(表 6A-D)はインスリンとの関連が認められた。VFA(表 6C)では、今回解析したすべての血中パラメータ、BMI(表 6A)ではグルコース、T-chol、LDL、BFM(表 6B)、SFA(表 6D)では、HOMA-IR、HDL、中性脂肪との関連が確認された。一方、BATでは、どの体組成パラメータ(表 6A-D)と共に解析した時もHbA1cとの関連が認められた。BFM(表 6B)またはSFA(表 6D)と共に解析した時には、グルコースとの関連も確認された。

女性で同様に解析を行うと(表 7A-D)、単変量解析ではVFA(表 7C)とHbA1cの関連のみ確認され、BAT(表 7A-D)ではどの血中パラメータとも関連が認められなかった。多変量解析で体脂肪パラメータは(表 7A-D)、インスリン、HOMA-IRとの関連が確認され、BMI(表 7A)はT-chol、HDL、LDL、BFMまたはSFA(表 7B, D)はHDL、VFA(表 7C)は中性脂肪とも関連が認められた。BATでは、どの体脂肪パラメータ(表 7A-D)と共に解析した時でもHbA1cとの関連が確認された。

男性で同様に解析を行うと(表 8A-D)、単変量解析ではVFAまたはSFA(表 8C, D)でインスリンと、VFA(表 8C)では今回解析したすべての血中パラメータとの関係が認められた。しかし、BAT(表 8A-D)ではどの血中パラメータとも関連が認められなかった。多変量解析でBFM、VFA、SFA(表 8B-D)はインスリン、HOMA-IR、HDL、中性脂肪、BMI(表 8B)はT-chol、LDL、VFA(表 8C)はT-chol以外の血中パラメータとの関連が確認された。BAT(表 8A-D)では、どの体組成パラメータと共に解析した時でもグルコースとの関連が確認された。BFM、VFAまたはSFA(表 8B-D)と共に解析した時はHbA1c、LDLとの関連が確認された。また、BFM(表 8B)と共に解析した時にはHDLとの関連も確認された。

表 6A. 血中パラメータに対する BAT と BMI の影響(全体)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.87 (0.61-1.23)	0.68 (0.41-1.14)
BMI	1.01 (0.99-1.02)	0.94 (0.89-0.98) **
HbA1c		
BAT	0.76 (0.53-1.08)	0.56 (0.34-0.94) *
BMI	1.01 (1.00-1.02)	0.96 (0.91-1.00)
インスリン		
BAT	1.08 (0.76-1.55)	0.74 (0.45-1.24)
BMI	1.01 (1.00-1.02)	1.05 (1.00-1.10) *
HOMA-IR		
BAT	1.02 (0.71-1.45)	0.76 (0.46-1.27)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	1.03 (0.98-1.08)
総コレステロール		
BAT	0.85 (0.60-1.21)	0.82 (0.49-1.37)
BMI	1.01 (0.99-1.02)	0.95 (0.90-1.00) *
HDLコレステロール		
BAT	1.00 (0.70-1.42)	1.41 (0.84-2.35)
BMI	1.00 (0.99-1.01)	0.97 (0.93-1.02)
LDLコレステロール		
BAT	0.85 (0.60-1.21)	0.77 (0.46-1.29)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	0.93 (0.89-0.98) **
中性脂肪		
BAT	1.21 (0.85-1.73)	1.17 (0.71-1.95)
BMI	1.00 (0.99-1.01)	0.97 (0.92-1.01)

年齢、性別調整済み、*P<0.05、**P<0.01

表 6B. 血中パラメータに対する BAT と BFM の影響(全体)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.87 (0.61-1.23)	0.56 (0.35-0.91) *
BFM	1.02 (1.00-1.03)	1.00 (0.96-1.05)
HbA1c		
BAT	0.76 (0.53-1.08)	0.50 (0.30-0.81) **
BFM	1.02 (1.00-1.04) *	1.00 (0.95-1.05)
インスリン		
BAT	1.08 (0.76-1.55)	0.77 (0.47-1.28)
BFM	1.02 (1.00-1.04) *	1.12 (1.06-1.18) ***
HOMA-IR		
BAT	1.02 (0.71-1.45)	0.75 (0.45-1.23)
BFM	1.02 (1.00-1.03)	1.10 (1.04-1.16) ***
総コレステロール		
BAT	0.85 (0.60-1.21)	0.70 (0.43-1.13)
BFM	1.02 (1.00-1.03)	0.99 (0.95-1.04)
HDLコレステロール		
BAT	1.00 (0.70-1.42)	1.43 (0.87-2.37)
BFM	0.99 (0.97-1.01)	0.91 (0.87-0.96) **
LDLコレステロール		
BAT	0.85(0.60-1.21)	0.63(0.39-1.03)
BFM	1.01(1.00-1.03)	0.99(0.95-1.04)
中性脂肪		
BAT	1.21 (0.85-1.73)	0.99 (0.61-1.61)
BFM	1.01 (1.00-1.03)	1.05 (1.00-1.10) *

年齢、性別調整済み、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

表 6C. 血中パラメータに対する BAT と VFA の影響(全体)

	単変量		多変量	
	OR (95%CI)		OR (95%CI)	
グルコース				
BAT	0.87 (0.61-1.23)		0.64 (0.39-1.04)	
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.02 (1.01-1.04)	***
HbA1c				
BAT	0.76 (0.53-1.08)		0.53 (0.32-0.87)	*
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.02 (1.00-1.03)	*
インスリン				
BAT	1.08 (0.76-1.55)		1.12 (0.67-1.88)	
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.04 (1.02-1.05)	***
HOMA-IR				
BAT	1.02 (0.71-1.45)		1.03 (0.62-1.71)	
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.03 (1.02-1.05)	***
総コレステロール				
BAT	0.85 (0.60-1.21)		0.74 (0.45-1.21)	
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.01 (1.00-1.03)	*
HDLコレステロール				
BAT	1.00 (0.70-1.42)		1.05 (0.62-1.77)	
VFA	0.99 (0.99-1.00)	*	0.96 (0.95-0.98)	***
LDLコレステロール				
BAT	0.85 (0.60-1.21)		0.67 (0.41-1.11)	
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.02 (1.01-1.03)	**
中性脂肪				
BAT	1.21 (0.85-1.73)		1.28 (0.77-2.15)	
VFA	1.01 (1.00-1.01)	**	1.04 (1.02-1.05)	***

年齢、性別調整済み、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

表 6D. 血中パラメータに対する BAT と SFA の影響(全体)

	単変量		多変量	
	OR (95%CI)		OR (95%CI)	
グルコース				
BAT	0.87 (0.61-1.23)		0.56 (0.34-0.91)	*
SFA	1.00 (1.00-1.00)		1.00 (1.00-1.00)	
HbA1c				
BAT	0.76 (0.53-1.08)		0.49 (0.30-0.80)	**
SFA	1.00 (1.00-1.00)	*	1.00 (1.00-1.00)	
インスリン				
BAT	1.08 (0.76-1.55)		0.86 (0.52-1.41)	
SFA	1.00 (1.00-1.00)	*	1.01 (1.00-1.01)	***
HOMA-IR				
BAT	1.02 (0.71-1.45)		0.82 (0.50-1.34)	
SFA	1.00 (1.00-1.00)	*	1.01 (1.00-1.01)	**
総コレステロール				
BAT	0.85 (0.60-1.21)		0.69 (0.43-1.13)	
SFA	1.00 (1.00-1.00)		1.00 (1.00-1.00)	
HDLコレステロール				
BAT	1.00 (0.70-1.42)		1.39 (0.85-2.29)	
SFA	1.00 (1.00-1.00)		0.99 (0.99-1.00)	**
LDLコレステロール				
BAT	0.85 (0.60-1.21)		0.62 (0.38-1.01)	
SFA	1.00 (1.00-1.00)		1.00 (1.00-1.00)	
中性脂肪				
BAT	1.21 (0.85-1.73)		1.03 (0.63-1.68)	
SFA	1.00 (1.00-1.00)	*	1.01 (1.00-1.01)	**

年齢、性別調整済み、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

表 7A. 血中パラメータに対する BAT と BMI の影響(女性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.77 (0.30-1.97)
BMI	1.01 (0.99-1.03)	0.96 (0.89-1.04)
HbA1c		
BAT	0.67 (0.30-1.48)	0.36 (0.13-0.98) *
BMI	1.02 (0.99-1.04)	0.92 (0.85-1.00)
インスリン		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.66 (0.25-1.74)
BMI	1.01 (0.98-1.03)	1.11 (1.02-1.20) *
HOMA-IR		
BAT	0.79 (0.36-1.73)	0.56 (0.21-1.47)
BMI	1.00 (0.98-1.03)	1.09 (1.01-1.18) *
総コレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.93 (0.34-2.50)
BMI	1.00 (0.98-1.02)	0.89 (0.81-0.96) **
HDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	1.09 (0.41-2.90)
BMI	1.00 (0.98-1.02)	0.89 (0.82-0.97) **
LDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.94 (0.35-2.53)
BMI	1.00 (0.98-1.02)	0.89 (0.82-0.97) **
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	0.86 (0.34-2.22)
BMI	1.00 (0.98-1.02)	0.96 (0.89-1.03)

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01

表 8A. 血中パラメータに対する BAT と BFM の影響(女性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.68 (0.27-1.69)
BFM	1.01 (0.98-1.04)	0.99 (0.91-1.07)
HbA1c		
BAT	0.67 (0.30-1.48)	0.30 (0.11-0.80) *
BFM	1.02 (0.99-1.06)	0.95 (0.87-1.03)
インスリン		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.86 (0.33-2.24)
BFM	1.01 (0.98-1.04)	1.14 (1.04-1.25) **
HOMA-IR		
BAT	0.79 (0.36-1.73)	0.69 (0.27-1.80)
BFM	1.01 (0.98-1.04)	1.13 (1.03-1.23) **
総コレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.66 (0.26-1.66)
BFM	1.01 (0.98-1.04)	0.94 (0.87-1.02)
HDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.78 (0.30-2.08)
BFM	0.99 (0.96-1.02)	0.86 (0.79-0.95) **
LDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.67 (0.27-1.70)
BFM	1.01 (0.98-1.04)	0.94 (0.86-1.02)
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	0.77 (0.31-1.90)
BFM	1.01 (0.98-1.04)	0.97 (0.90-1.05)

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01

表 7C. 血中パラメータに対する BAT と VFA の影響(女性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.83 (0.32-2.12)
VFA	1.01 (1.00-1.02)	1.03 (0.99-1.06)
HbA1c		
BAT	0.67 (0.30-1.48)	0.34 (0.13-0.92) *
VFA	1.01 (1.00-1.03) *	1.02 (0.98-1.05)
インスリン		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	1.36 (0.50-3.67)
VFA	1.01 (0.99-1.02)	1.06 (1.02-1.10) **
HOMA-IR		
BAT	0.79 (0.36-1.73)	1.13 (0.41-3.10)
VFA	1.01 (1.00-1.02)	1.07 (1.02-1.11) **
総コレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.76 (0.30-1.95)
VFA	1.01 (1.00-1.02)	1.02 (0.99-1.05)
HDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.63 (0.24-1.63)
VFA	1.00 (0.99-1.01)	0.97 (0.94-1.01)
LDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.82 (0.32-2.11)
VFA	1.01 (1.00-1.02)	1.03 (0.99-1.07)
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	1.00 (0.39-2.60)
VFA	1.01 (1.00-1.02)	1.04 (1.00-1.08) *

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01

表 7D. 血中パラメータに対する BAT と SFA の影響(女性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.71 (0.29-1.76)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (1.00-1.01)
HbA1c		
BAT	0.67 (0.30-1.48)	0.31 (0.12-0.81) *
SFA	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (0.99-1.01)
インスリン		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.99 (0.38-2.58)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.01 (1.00-1.02) *
HOMA-IR		
BAT	0.79 (0.36-1.73)	0.80 (0.30-2.10)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.01 (1.00-1.02) **
総コレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.66 (0.26-1.64)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (0.99-1.01)
HDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.69 (0.26-1.80)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	0.99 (0.98-1.00) *
LDLコレステロール		
BAT	0.92 (0.42-2.02)	0.67 (0.27-1.66)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (0.99-1.01)
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	0.79 (0.32-1.95)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (1.00-1.01)

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01

表 8A. 血中パラメータに対する BAT と BMI の影響(男性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.69 (0.47-1.04)	0.50 (0.27-0.91) *
BMI	1.00 (0.99-1.02)	0.96 (0.91-1.01)
HbA1c		
BAT	0.79 (0.53-1.17)	0.62 (0.34-1.13)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	0.96 (0.91-1.01)
インスリン		
BAT	1.04 (0.70-1.55)	0.84 (0.46-1.53)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	1.02 (0.98-1.08)
HOMA-IR		
BAT	1.00 (0.67-1.49)	0.84 (0.47-1.53)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	1.02 (0.97-1.07)
総コレステロール		
BAT	0.90 (0.61-1.34)	0.86 (0.47-1.56)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	0.95 (0.90-1.00) *
HDLコレステロール		
BAT	1.30 (0.88-1.94)	1.74 (0.97-3.15)
BMI	1.00 (0.99-1.01)	0.98 (0.93-1.03)
LDLコレステロール		
BAT	0.83 (0.56-1.24)	0.72 (0.39-1.33)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	0.95 (0.90-1.00) *
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	1.13 (0.62-2.05)
BMI	1.00 (0.99-1.02)	0.99 (0.94-1.03)

年齢調整済み、*P<0.05

表 8B. 血中パラメータに対する BAT と BFM の影響(男性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.69 (0.47-1.04)	0.36 (0.21-0.62) ***
BFM	1.02 (1.00-1.04)	1.03 (0.97-1.09)
HbA1c		
BAT	0.79 (0.53-1.17)	0.48 (0.28-0.81) **
BFM	1.02 (0.99-1.04)	1.01 (0.96-1.07)
インスリン		
BAT	1.04 (0.70-1.55)	0.77 (0.45-1.32)
BFM	1.02 (1.00-1.04)	1.12 (1.05-1.20) **
HOMA-IR		
BAT	1.00 (0.67-1.49)	0.75 (0.44-1.29)
BFM	1.02 (0.99-1.04)	1.11 (1.04-1.19) **
総コレステロール		
BAT	0.90 (0.61-1.34)	0.63 (0.37-1.05)
BFM	1.01 (0.99-1.04)	1.00 (0.95-1.06)
HDLコレステロール		
BAT	1.30 (0.88-1.94)	1.97 (1.15-3.38) *
BFM	0.99 (0.97-1.01)	0.90 (0.84-0.96) **
LDLコレステロール		
BAT	0.83 (0.56-1.24)	0.48 (0.29-0.82) **
BFM	1.01 (0.99-1.04)	1.01 (0.99-1.04)
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	0.84 (0.49-1.43)
BFM	1.02 (1.00-1.04)	1.09 (1.02-1.16) **

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

表 8C. 血中パラメータに対する BAT と VFA の影響(男性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.69 (0.47-1.04)	0.39 (0.23-0.67) **
VFA	1.01 (1.00-1.01) **	1.02 (1.00-1.03) **
HbA1c		
BAT	0.79 (0.53-1.17)	0.49 (0.29-0.82) **
VFA	1.01 (1.00-1.01) *	1.01 (1.00-1.03) *
インスリン		
BAT	1.04 (0.70-1.55)	1.11 (0.65-1.88)
VFA	1.01 (1.00-1.01) *	1.03 (1.02-1.05) ***
HOMA-IR		
BAT	1.00 (0.67-1.49)	1.04 (0.62-1.75)
VFA	1.01 (1.00-1.01) *	1.03 (1.01-1.04) ***
総コレステロール		
BAT	0.90 (0.61-1.34)	0.63 (0.38-1.05)
VFA	1.01 (1.00-1.01) *	1.01 (1.00-1.02)
HDLコレステロール		
BAT	1.30 (0.88-1.94)	1.43 (0.84-2.43)
VFA	0.99 (0.99-1.00) *	0.97 (0.95-0.98) ***
LDLコレステロール		
BAT	0.83 (0.56-1.24)	0.51 (0.30-0.87) *
VFA	1.01 (1.00-1.01) *	1.02 (1.00-1.03) *
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	1.09 (0.64-1.85)
VFA	1.01 (1.00-1.01) *	1.03 (1.02-1.05) ***

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

表 8D. 血中パラメータに対する BAT と SFA の影響(男性)

	単変量	多変量
	OR (95%CI)	OR (95%CI)
グルコース		
BAT	0.69 (0.47-1.04)	0.38 (0.23-0.65) ***
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (1.00-1.00)
HbA1c		
BAT	0.79 (0.53-1.17)	0.47 (0.28-0.80) **
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (1.00-1.01)
インスリン		
BAT	1.04 (0.70-1.55)	0.93 (0.55-1.56)
SFA	1.00 (1.00-1.01) *	1.01 (1.00-1.01) **
HOMA-IR		
BAT	1.00 (0.67-1.49)	0.89 (0.53-1.49)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.01 (1.00-1.01) **
総コレステロール		
BAT	0.90 (0.61-1.34)	0.61 (0.37-1.01)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (1.00-1.01)
HDLコレステロール		
BAT	1.30 (0.88-1.94)	1.67 (1.00-2.79)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	0.99 (0.99-1.00) **
LDLコレステロール		
BAT	0.83 (0.56-1.24)	0.50 (0.30-0.85) *
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.00 (1.00-1.01)
中性脂肪		
BAT	1.11 (0.75-1.64)	0.97 (0.57-1.62)
SFA	1.00 (1.00-1.00)	1.01 (1.00-1.01) *

年齢調整済み、*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001

1-4. 考察

BAT がそのエネルギー消費活性によって体脂肪量の調節に寄与しうることは、マウスなどの実験動物のみならずヒト臨床データからも示唆されてきた。例えば、がん診断を目的とした FDG-PET/CT 検査において BAT 検出者の方が、BMI が低いとの臨床研究成績が多数報告されている^{12, 20-23)}。しかし、これらの検査では積極的な寒冷刺激を行っていないために、BAT 活性が過小評価されているのが一般的である。さらに、検査時期(季節)によって BAT 活性が大きく変動し冬に最大となることも考慮されていないため、各被験者の BAT の評価が極めて不正確となっている。これらを考慮して本研究では、最大の BAT 活性を評価するために、積極的な寒冷刺激を与えてからの FDG-PET/CT 検査を 12 月下旬から 3 月上旬にかけて冬期間のみで行った。その結果、被験者の半数以上で BAT が検出され、他に行われている臨床研究よりもはるかに高い検出率となった。また、臨床研究では男性よりも女性の方が、検出率が高いとされているが^{12, 23)}、本研究ではそのような男女差も認められなかった。

その上で BAT 検出群を非検出群と比較すると、年齢が若く BMI や VFA などの体脂肪パラメータが低いことが判明した。これらの結果は、既に報告されている少数の健常者を対象にした成績や多数の患者での臨床研究成績と同様である。更に、ロジスティック回帰分析により BAT が年齢などとは独立して BMI、体脂肪量、腹部脂肪面積などに影響を与えることが明らかとなった。これらの結果から、マウスなどと同様に健常成人でも体脂肪量の調節に BAT が寄与しており、BAT 活性の低下が肥満誘発の一因となりうることが示唆された。

本研究では、更に糖や脂肪代謝に対する BAT の関与を検討するために、関連する血中パラメータに及ぼす BAT の影響も解析した。本研究の被験者は全て健常成人だったので、グルコースや HbA1c、中性脂肪など、測定したパラメータは全体で見ると正常範囲内にあったが、BAT 検出群では HbA1c や T-chol、LDL が非検出群よりも低いことが判明した。また、グルコースも有意ではないが同様の傾向がみられた。これらのパラメータは肥満度や年齢など様々な要因によって影響されることはよく知られている。実際本研究においても、体脂肪パラメータが HbA1c、インスリン、中性脂肪など多くのパラメータと有意に相関することが確認された。そこで、これらの影響を考慮して詳細な多変量解析を行ったところ、性別、年齢、体脂肪で調整した後でも、BAT が HbA1c に対して独立して関連することが示された。さらに、グルコースについても BFM または SFA で調整した場合に同様に関連することが判明した。性差を考慮して男女別にも解析したが、同様の傾向が認められた。これらの結果は、BAT 活性に対して BMI や年齢とは独立に血中グルコースも影響因子であるとの臨床研究報告^{12, 21, 23, 29)}とも良く符合しており、BAT が体脂肪だけではなく、グルコースの

代謝調節にも一定の役割を担っている可能性を示している。この考えは、BAT 検出者に寒冷刺激を与えると、全身のグルコース利用やインスリン感受性が増加するというごく最近の報告³⁰⁾とも良く一致している。

BAT が全身のグルコース代謝やインスリン感受性に影響するメカニズムについては不明であるが、いくつかの可能性が考えられる。まず、BAT も WAT や骨格筋などと同様にインスリン感受性組織であるので³¹⁾、BAT 自身でのインスリン作用が亢進しグルコース利用が増えるのかもしれない。しかし、寒冷刺激による BAT の活性化は、交感神経の β 作用に依存しており、インスリンの関与は少ない。事実、本研究のように絶食して寒冷刺激を行うと血中インスリン濃度は極めて低値となり、WAT や骨格筋など他のインスリン感受性組織での糖利用は低く抑制されたままである。さらに、BAT の組織総量やグルコース利用量が WAT や骨格筋、脳などに比べてはるかに少ないことと考え併せると、BAT 自身のグルコース利用が全身の糖代謝や血中グルコース濃度の調節に直接寄与しているとは考え難い。

別の可能性として、BAT が全身レベルでグルコース代謝に影響を与える何らかの因子を合成分泌している可能性が考えられる。実際に、WAT からはレプチンやアディポネクチンなど多くのアディポカインが分泌され、脳や肝臓、骨格筋、血管など多くの全身組織に作用して多彩な生理反応を引き起こすことはよく知られている。BAT でも血管内皮増殖因子や神経成長因子をはじめとして多くのサイトカインや成長因子が合成・分泌されている³²⁾。その中でも耐糖能改善効果がある線維芽細胞増殖因子 21 (FGF21) が、ヒト褐色またはベージュ脂肪細胞から分泌されること³³⁾や血中 FGF21 レベルが寒冷刺激で上昇すること³⁴⁾が見出されて、その役割が注目されている。また、Stanford らは、インターロイキン 6 (IL-6) が BAT で合成されること、及び IL-6 欠損マウスの BAT を移植しても糖代謝改善効果は弱いことなどを根拠に、IL-6 の重要性を主張している²⁷⁾。他にも未同定の BAT 因子が存在する可能性もあり、今後の研究の進展が期待できよう。

以上のように本研究で、健常成人において寒冷刺激により活性化される BAT が、その熱産生活性によって体脂肪量の調節に関わっていることが示された。さらに、全身糖代謝に対しても BAT が体脂肪の多少とは独立に影響を及ぼしている可能性が示された。これらの結果は、BAT の機能低下が肥満や糖代謝異常の一因となることを示唆しており、今後、そのメカニズム解明と併せて BAT を活性化する方法開発が、肥満やメタボリックシンドローム対策の一つとして有効と思われる。

第2章 黒ショウガ (*Kaempferia parviflora*) 抽出物摂取による 褐色脂肪組織の活性化とエネルギー消費亢進

2-1. 緒言

第1章では、ヒト BAT が体脂肪量や糖代謝の調節に関わっており、その機能低下や退縮が肥満やメタボリックシンドロームの一因となる可能性を示した。もしそうであるなら、BAT を再活性化、増量すれば肥満を予防・改善できるはずである。実際に、マウスなどの小動物では、寒冷暴露を長期間続けると、BAT が増加すると同時に、通常は白色である脂肪組織内に UCP1 を発現する褐色様のベージュ脂肪細胞が多数出現し、エネルギー消費が継続的に増加して体脂肪が減少することが確認されている⁷⁾。ヒトにおいても、毎日数時間の寒冷暴露を続けると、程度は弱いものの BAT がリクルートされエネルギー消費が増え、それに応じて体脂肪量が減少する¹⁷⁾。このように、寒冷暴露が BAT を活性化し増量させる最も効果的かつ生理的な刺激であるが、これを肥満予防・軽減のために日常的に実行するのは困難と言わざるを得ない。

一方、エネルギー消費を増やして体脂肪を減らすとされている様々な植物由来物質が知られており、その一部は特定保健用食品あるいはサプリメントとして広く出回っている。代表的なのは緑茶中に含まれるカテキン類であり、肝臓での脂肪合成を抑制すると共に脂肪分解・酸化を促進し、エネルギー消費を増やして体脂肪蓄積を抑制するとされているが、その効果の一部に BAT が関与する可能性が示された³⁵⁾。また、トウガラシに含まれるカプサイシンの抗肥満効果もよく知られている³⁶⁾。カプサイシンは、外因性発熱物質として体温生理学領域の研究などにも汎用されてきたが、これを、マウスやラットに経口摂取させると、数時間にわたって交感神経の活動亢進^{37, 38)}、UCP1 の増加³⁹⁾、BAT 熱産生の亢進⁴⁰⁾、全身エネルギー消費の増加などが起こり^{41, 42)}、更に長期間投与すると体重や体脂肪量の減少をもたらす⁴³⁾。ヒトでも、辛味の少ないカプサイシン類似体であるカプシノイドを摂取すると、BAT が活性化されてエネルギー消費が増え、数週間後には脂肪酸酸化分解が亢進し内臓脂肪が減少することが確認された^{44, 45)}。このカプサイシンやカプシノイドの効果は、感覚神経終末に存在する温度受容体 transient receptor potential (TRP) への直接作用に基づいており⁴⁶⁾、上述の寒冷刺激効果と同様の TRP→感覚神経→脳・視床下部→交感神経→BAT というメカニズムによっている⁴⁵⁾。TRP を活性化する食品成分は、他にもショウガのショウガオール、ニンニクのアリシン、ミントのメントール、ワサビやカラシのアリルイソチオシアネートなどが知られており、一部については BAT の活性化と体脂肪減少効果が認められている^{47, 48)}。

黒ショウガ (*Kaempferia parviflora*) は、タイやラオスでクラチャイダム (Krachai Dam) と呼ばれるショウガ科の植物で黒ウコンとも呼ばれるが、春ウコン (姜黄)、秋ウコン (ターメリック) といった

一般的なウコンとは異なり、根茎切断面は鮮やかな紫色をしている(図 3)。黒ショウガは、古来より日常的に摂取されている伝統食品であり、滋養強壯、精力増進、血糖値の低減、体力回復、循環器系の改善、消化器系の改善などの効果があるとされている⁴⁹⁻⁵¹⁾。最近、黒ショウガのアルコール抽出物(*Kaempferia parviflora* extract, KPE)が、体脂肪減少効果があるとの動物実験結果が相次いで報告された。例えば、自然発症肥満性2型糖尿病モデルマウスにKPE混合餌を8週間摂取させると、対照餌に比べて摂餌量は変わらないのに体重増加、体脂肪の蓄積、耐糖能異常が抑制されるという^{52, 53)}。Yoshinoらは高脂肪KPE混合餌を摂取させたマウスでは、BATでのUCP1発現やエネルギー消費量、尿中ノルアドレナリン排泄量が増加することを見出した⁵⁴⁾。さらに、軽度の肥満男性にKPEを12週間継続摂取させると、脂肪燃焼が亢進し体脂肪が低下するとの報告もある⁵⁵⁾。これらの結果は、KPE中の何らかの成分がBATを活性化しエネルギー消費を増やして体脂肪を減らす効果を有することを示唆している。そこで、この考えを検証するために本研究では、健常成人を対象として、KPEカプセル(図3)を経口摂取させた後のエネルギー消費の変化を観察し、FDG-PET/CTで評価したBAT活性との関係を解析した。



図 3. 黒ショウガ(*Kaempferia parviflora*)とKPE試験カプセル

2-2. 方法

2-2-1. 被験者

日常生活を支障なく過ごしている 21～29 歳の青年男子 23 名を被験者とした。すべての被験者は、研究の目的と方法について十分な説明を受け、同意をした上で本研究に参加した。はじめに、一般的な健康診断を受けた後、「第 1 章 1-2-2. FDG-PET/CT を用いた BAT の検出・評価」と同様の方法により FDG-PET/CT 検査を行い、BAT 非検出群 9 名、BAT 検出群 14 名に分けた。その後、日を改めて代謝測定を行ったが、被験者の都合により実験に参加できなくなった者が 3 名おり、BAT 非検出者 8 名、検出者 12 名の合計 20 名の結果を解析した。本研究は、天使大学研究倫理委員会の承認を得て、冬季間(2012 年～2014 年の 12 月～3 月)に行った。

2-2-2. 試験カプセル

KPE は、島田らが報告している方法⁵³⁾で、東洋新薬株式会社(鳥栖)によって作成された。黒ショウガは、タイやラオスから購入し、乾燥させた根茎を小さく粉碎し、60%エタノールに数時間浸漬した。このエタノール抽出物を濾過した後、同量(w/w)のデキストリン(松谷化学工業株式会社、伊丹)を添加し、噴霧乾燥により乾燥させた。

KPE の化学組成を食品分析センターにて分析した結果、タンパク質 5.2g(ケルダール法)、脂質 5.1g(酸分解法)、炭水化物 85.1g(計算法)、灰分 2.0g(直接灰化法)、水分 2.6g(常圧加熱乾燥法)であった。HPLC 分析による主な特徴的な成分は、3,5,7,4'-tetramethoxyflavone (2.16%)、5,7-dimethoxyflavone (4.07%)、3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (4.25%) で、ショウガ (*Zingiberaceae*) の代表的な辛味成分である 6-gingerol、6-shogaol は検出されなかった。

試験カプセルは、100mg の KPE をプルランカプセル(カプスゲル・ジャパン株式会社、相模原)に入れて作成した(図 3A)。また対照となるプラセボカプセル(PL)は KPE の代わりにデキストリン 100mg を入れた(図 3B)。

2-2-3. 試験プロトコル

FDG-PET/CT を受けてから 4 週間以内に、無作為化、一重盲検、クロスオーバー試験で行った。被験者は、試験時刻に合わせて前日から 12 時間の絶食とした。当日午前中の試験時刻に天使大学検査室に来て、検査着に着替え、体組成測定を行い、温度データロガーを体に張り付けた。室温 27℃にてベッドで 30 分以上の座位安静とし、その後仰臥位で専用フードを使用して約 30 分間安静時エネルギー消費量を測定した。KPE か PL いずれかのカプセルを 100ml の水で摂取し、

摂取 30 分ごとのエネルギー消費量が測定できるように休憩をはさみ、摂取 90 分後まで測定した。1～2 週間のウォッシュアウト期間を置き、別な日に違うカプセルを摂取して同様に測定した。

2-2-4. 体組成、体脂肪量の測定

BMI は、体重(kg)を身長(m)の 2 乗で除して求めた。体脂肪量は、生体電気インピーダンス法により体重体組成計(カラダスキャン HBF-361;オムロン、京都)を用いて測定した。除脂肪体重(FFM)は、体重(kg)と体脂肪量(kg)の差として算出した。

2-2-5. エネルギー消費量の測定

全身のエネルギー消費量を間接的測定法である呼気ガス測定装置(ポータブルガスモニター AR-1, O2 郎;アルコシステム、東京)を用いて測定した。仰臥位にて専用フードを使用して呼気ガス中の酸素と二酸化炭素濃度を 1 分毎に測定し、吸引空気中の濃度の差と換気量からエネルギー消費量を継続的に算出した。約 30 分間計測して値が安定した最後の 10 分間の平均値をベースライン値とした。その後、ベッド上で座位にて試験カプセルを水 100ml で摂取し、そのまま 10 分間座位を続けた後、再び仰臥位にてエネルギー消費量を 20 分間測定し最後の 10 分間の平均値を摂取後 30 分のエネルギー消費量とした。その後 10 分間の座位休憩と 20 分間の測定を繰り返し、摂取後 60 分、90 分のエネルギー消費量を算出した。酸素と二酸化炭素濃度から簡易式に基づき呼吸商(respiratory quotient, RQ)を算出した。

2-2-6. 体表温度の測定

皮膚温度の測定には、小円盤状の温度データロガー(サーモクロン SL タイプ;KN ラボラトリーズ、大阪)を使用した。これを、Yoneshiro¹⁶⁾と同様に BAT の近傍部位として右鎖骨上部、これと右乳頭との中間の胸部(BAT 遠位部位)の 2 箇所の皮膚にサージカルテープで固定し連続測定した(図 4A-C①②)。これらをエネルギー消費量の測定に従って、ベースライン値、食後 30 分から 90 分まで 30 分毎の値を測定した。

2-2-7. 統計解析

数値は、平均値±標準誤差で示した。BAT 非検出群と BAT 検出群の体組成等の比較には *t* 検定を用いた。ベースライン値からの変化と BAT との関連については、3 元配置反復測定分散分析を行い、有意差が検出された場合は下位検定として、Tukey の HSD 検定による多重比較を行う

た。また、エネルギー消費量や除脂肪体重当たりのエネルギー消費量の時間曲線下面積の比較は、KPE 摂取 BAT 検出群を対照として Dunnett 検定を行った。これらはいずれも、統計解析ソフト IBM SPSS Statistics20(日本 IBM、東京)を用いて行い、統計学的有意水準を $p < 0.05$ とした。

2-3. 結果

2-3-1. 被験者の BAT 評価とプロフィール

エネルギー消費量の測定前に行った 2 時間の寒冷暴露後の FDG-PET/CT 検査では、12 名に鎖骨上部及び胸椎近傍の脂肪組織に鮮明な FDG の取り込みが見られた。鎖骨上部の取り込みを定量化したところ、SUVmax の平均は 8.5 ± 1.2 (2.1~16.3)であった(図 4B)。一方、残りの 8 名は、これらの部位のみならず他の部位の脂肪組織でもバックグラウンド以上の FDG 取り込みは見られなかった(図 4A)。これらの結果に基づき前者を BAT 検出群、後者を非検出群とし、年齢、身長、体重、BMI、体脂肪率、除脂肪体重を比較したところ、年齢以外に有意な差はなかった(表 9)。BAT 非検出群の年齢が検出群に比べて高いことは、第1章での結果と同じである。

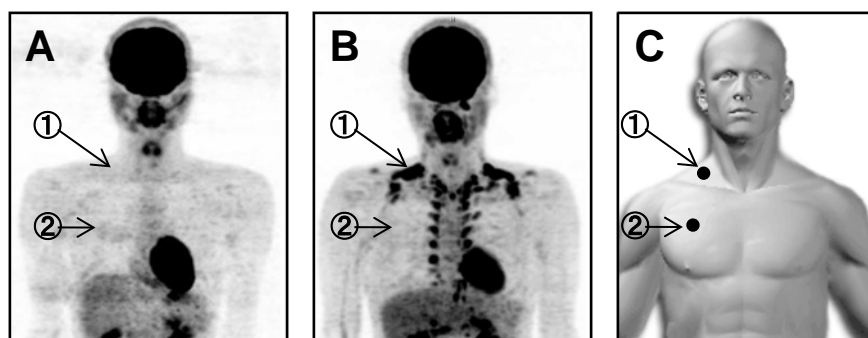


図 4. BAT 検出者と非検出者の PET 画像と温度データロガー装着箇所

A:BAT 非検出者、B:BAT 検出者、C:温度データロガー装着箇所、①右鎖骨上部(BAT の近傍部位)、②胸部(BAT 遠位部位)

表 9.被験者のプロフィール

		BAT検出群 (n = 12)	BAT非検出群(n = 8)	P
年齢	(歳)	22.9±0.4 (21-25)	25.9±0.7 (21-29)	0.010
身長	(cm)	174.8±1.1 (168.0-183.5)	173.8±1.3 (163.0-182.0)	N.S.
体重	(kg)	63.3±1.1 (56.1-74.6)	66.1±1.6 (59.0-77.5)	N.S.
BMI	(kg/m ²)	20.7±0.2 (19.4-23.3)	21.9±0.5 (19.5-25.9)	N.S.
体脂肪率	(%)	14.5±0.6 (19.4-23.3)	17.2±1.2 (11.7-25.5)	N.S.
除脂肪体重	(kg)	54±0.8 (48.7-61.0)	54.5±0.9 (48.8-61.1)	N.S.
KPE摂取前REE	(kcal/d)	1450±44 (1198-1695)	1532±53 (1380-1813)	N.S.
PL摂取前REE	(kcal/d)	1457±44 (1200-1711)	1512±62 (1306-1766)	N.S.

平均値±標準誤差(最小値 - 最大値)。対応のないStudent's *t* 検定(検出群vs非検出群)。

統計学的有意水準は、 $p < 0.05$ とした。N.S.: not significant。REE:安静時代謝量

2-3-2. KPE 摂取後のエネルギー消費量の変化

被験者に前日から実験直前までの12時間絶食させた後、室温27°Cにて仰臥位となり、KPEを摂取する前のベースラインとなるエネルギー消費量を呼気ガス分析法によって測定した。KPE 摂取前 BAT 検出群は1450±44kcal/d、非検出群は1532±53kcal/d、PL 摂取前 BAT 検出群は1457±44kcal/d、非検出群は1512±62kcal/dで、KPEとPLの各2群間で有意な差はなく(表9)、KPE 摂取前 BAT 検出群を対象として各群との比較を行っても有意な差はなかった(図5)。

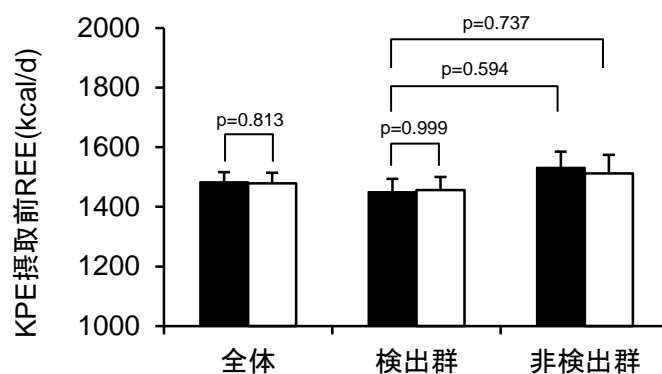


図 5. KPE または PL カプセル摂取前 REE(安静時代謝量)の比較

■は KPE 摂取、□は PL 摂取。各カプセルを摂取する前の REE で KPE 摂取 BAT 検出群を対象として Dunnett 検定を行った。全体の比較には、対応のない Student's *t* 検定を行った。統計学的有意水準は、 $p < 0.05$ とした。

BAT 検出群では、KPE を摂取するとエネルギー消費量が 30 分後から 90 分後までベースラインよりも高い値を示し、60 分後に最大 $84 \pm 11 \text{kcal/d}$ 増加した。一方、PL 摂取では、ゆるやかな上昇が見られ、90 分後に $34 \pm 25 \text{kcal/d}$ の増加が見られたが、いずれの時間帯でもベースライン値との有意差は認められなかった(図 6A)。一方、BAT 非検出群においては、KPE 摂取後または PL 摂取後のいずれもベースラインからの有意な差は認められなかった(図 6B)。同様の結果は、除脂肪体重あたりのエネルギー消費量でも認められた(図 6D, E)。

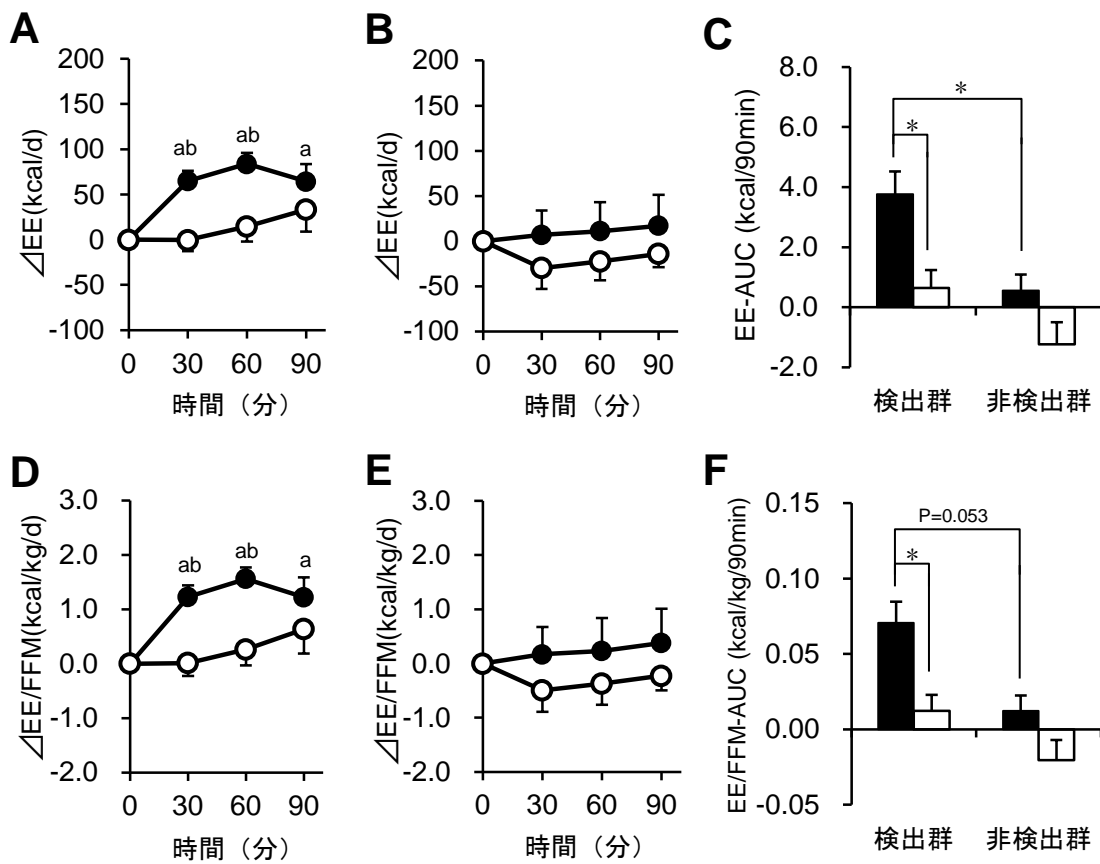


図 6. KPE および PL 摂取によるエネルギー消費量・除脂肪体重当たりのエネルギー消費量・時間曲線化面積の変化

A, D: BAT 検出群 (n=12)、B, E: BAT 非検出群 (n=8)。●、■: KPE 摂取、

○、□: PL 摂取。EE: エネルギー消費量、FFM: 除脂肪体重、AUC: 時間曲線下面積。

a: $P < 0.05$ (vs 0 分)、b: $P < 0.05$ (vs PL)、*: $P < 0.05$ (vs BAT 検出群 KPE)

エネルギー消費量に対する影響について、試験カプセル(KPE と PL)と経過時間(0、30、60、90 分)を被験者内因子、BAT(検出群と非検出群)を被験者間因子として分散分析を行った。3 要因での交互作用は認められず、試験カプセルの効果($p=0.013$)、時間×試験カプセルの交互作用($p=0.026$)、BAT の効果($p=0.025$)が認められた。交互作用の下位検定として多重比較を行うとベースラインとの比較では、BAT 検出群 KPE の 30 分($p=0.011$)と 60 分($p<0.001$)と 90 分($p=0.011$)で有意な差があった。KPE と PL の比較では、BAT 検出群の 30 分($p=0.010$)と 60 分($p=0.005$)で有意な差があった(図 6A-B)。除脂肪体重あたりのエネルギー消費量でも同様の結果となった(図 6D-E)。

90 分間の KPE 摂取および PL 摂取におけるエネルギー消費量の時間曲線下面積を算出し、BAT 検出群 KPE 摂取を対象として BAT 検出群 PL 摂取、BAT 非検出群 KPE 摂取と比較した。BAT 検出群 KPE 摂取($3.8\pm 0.5\text{kcal}/90\text{min}$)は、BAT 非検出群 KPE 摂取($0.5\pm 1.5\text{kcal}/90\text{min}$)より有意に高く($p=0.044$)、BAT 検出群 PL 摂取($0.7\pm 0.7\text{kcal}/90\text{min}$)との比較でも有意に高かった($p=0.028$) (図 6C)。除脂肪体重あたりのエネルギー消費量についても算出したが、BAT 検出群の KPE($0.7\pm 0.1\text{kcal}/\text{kg}/90\text{min}$)と PL($0.1\pm 0.1\text{kcal}/\text{kg}/90\text{min}$)の比較で有意な差が確認された($p=0.021$)ものの、BAT 非検出群の KPE($0.1\pm 0.3\text{kcal}/\text{kg}/90\text{min}$)との比較では有意水準には達しなかった($p=0.053$) (図 6F)。

なお、呼吸商については、試験カプセルが KPE か PL、BAT が検出群か非検出群、いずれの場合でも、摂取後 90 分まで有意な変化は認められなかった。(図 7A, B)。

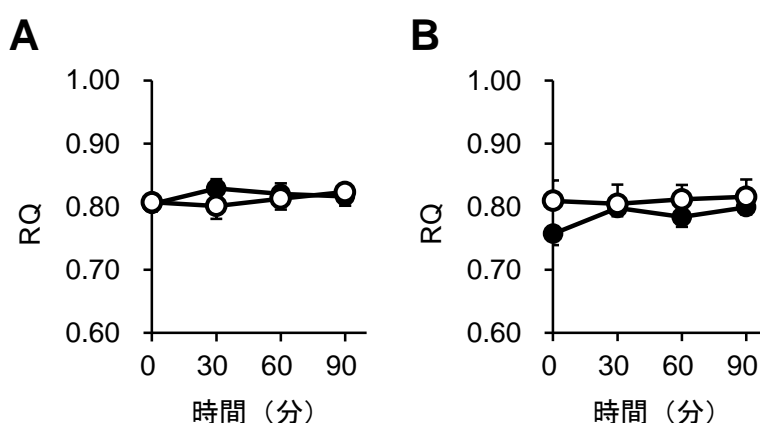


図 7. KPE および PL 摂取による呼吸商(RQ)の変化

A: BAT 検出群(n=12)、B: BAT 非検出群(n=8)。●:KPE 摂取、○:PL 摂取。

2-3-3. KPE 摂取後の体表温度の変化

Yoneshiro らは、寒冷刺激を与えた時の体表温度の変化を、BAT 近傍の鎖骨上部(図 4 の①)と離れた胸部(図 4 の②)で比較し、前者の方が低下の程度は少ないことを見出し、活性化した BAT による発熱が皮膚温度の変化として検出できる可能性を示した¹⁶⁾。そこで、本試験でもエネルギー消費量の測定と並行して両部位の皮膚温度の変化を追跡した。図 8 にまとめたように、BAT 検出群と非検出群、いずれの部位においても KPE や PL を摂取しても 90 分まで特段の変化は認められなかった。なお、BAT 非検出群に KPE を投与すると胸部の皮膚温度が高くなる傾向が見られたが、30 分後を除いて有意な変化ではなかった。

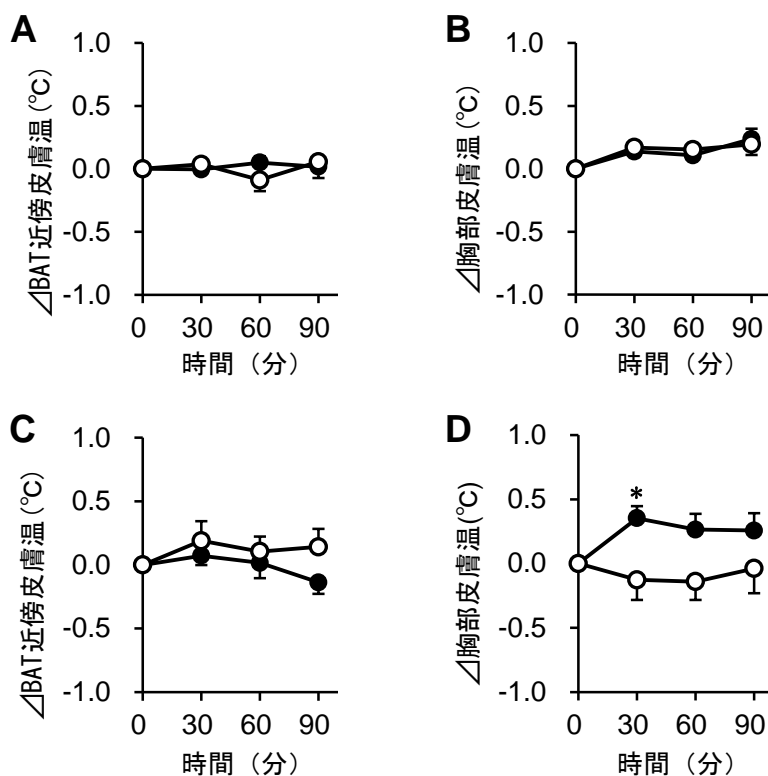


図 8. KPE および PL 摂取による皮膚温度の変化

A、B:BAT 検出群 (n=12)、C、D:BAT 非検出群 (n=8)。●:KPE 摂取、○:PL 摂取

*:P<0.05(vs PL)

2-4. 考察

本試験では、マウスやヒトでエネルギー消費亢進効果が報告されている KPE について、BAT が関与する可能性を検証するために、健常成人を対象として KPE カプセルを経口摂取させた後のエネルギー消費の変化を観察し、プラセボカプセル摂取後の変化と比較しながら BAT 活性との関係を解析した。その結果、BAT 活性が高く FDG-PET/CT で検出できる被験者では KPE 摂取後 90 分に渡ってエネルギー消費量が増加するが、BAT 非検出者では有意な変化が見られないことが明らかとなった。同一被験者にプラセボを摂取させた場合には、エネルギー消費量はほとんど変化しなかったため、この効果は KPE に特異的であり、かつ BAT 活性に依存していると言える。従って、KPE はヒト BAT を活性化して全身のエネルギー消費を増やす効果があると結論できる。この結論は、KPE を摂取させたマウスでは BAT の UCP1 発現が上昇しエネルギー消費量が増えるとの報告とよく一致している。従って、既に報告されている KPE の長期間摂取による体脂肪の減少効果には、BAT がある程度寄与していると思われる。

本研究では、BAT の熱産生を反映すると思われる皮膚温度の変化についても測定した。しかし、KPE 摂取による BAT 依存性の温度上昇は認められなかった。これは、寒冷刺激の場合と比べて KPE による BAT 活性化の程度が少ないので、近傍の温度変化としては検出できなかったためと思われる。

KPE が BAT を活性化するメカニズムについては、断片的な知見に基づく推論の域に留まっているが、以下のようないくつかの可能性が考えられる。まず、カプサイシンなどの香辛料成分と同様に TRP への作用が想定されよう⁴⁷⁾。しかし、本研究で使用した KPE は、ポリメトキシフラボン化合物が多量に含まれているが、バニロイド化合物など TRP を活性化する既知成分は検出されなかった。しかし、TRP には多くのサブタイプが存在するので、KPE 中の未同定成分がいずれかの TRP を活性化する可能性は残っており、今後の検索が必要である。

KPE の何らかの成分が胃腸管から吸収され血中に移行した後、BAT に直接作用する可能性もある。事実、Okabe らは KPE 中いくつかの成分が、3T3-L1 脂肪細胞におけるホルモン感受性リパーゼを活性化することを示している⁵⁶⁾。さらに、KPE 中の主要なポリメトキシフラボノイドである 5,7-dimethoxyflavone が、cAMP の分解酵素であるホスホジエステラーゼに対して強力な阻害作用を示すことが報告されている⁵⁷⁾。序章で記載したように、cAMP は、交感神経によるホルモン感受性リパーゼの活性化とそれに続く UCP1 による BAT 熱産生に直接関わる細胞内情報伝達分子である。従って、KPE の BAT を介した熱産生効果は、褐色脂肪細胞のホスホジエステラーゼ阻害に起因する可能性も考えられる。この可能性を検証するには、KPE 中の候補成分の血中動態

を解明するなど、さらなる研究が必要である。

以上のように、体脂肪減少効果がある KPE を単回経口摂取すると、BAT の活性化を介して全身のエネルギー消費量が増加することが判明した。同様の急性効果はカプサイシンなどいくつかの香辛料成分でも知られており、しかもそれらを長期間繰返し摂取すると BAT がリクルートされ体脂肪が減少することも明らかにされている。従って、KPE は BAT の活性化・リクルートによる肥満対策の一つとして、日常生活に取り入れやすく有用であると思われる。

総括

BAT は熱産生を行う特異的な脂肪組織であり、寒冷環境下での体温維持やエネルギー消費の調節に関わっており、その機能低下が肥満の一因になることは、実験動物で確立されている。ヒトの BAT は、乳幼児期にしかないと言われていたが、近年、FDG-PET/CT によって検出・評価できるようになり、成人でも寒冷刺激によって活性化される BAT が存在し、全身エネルギー消費の調節に寄与していることが明らかになってきた。

本論文の第1章では、成人における BAT の生理的・病理的役割、特に肥満や関連代謝パラメータとの関係を明らかにするために、以下のように、幅広い年齢と肥満度の健常男女を対象に、厳密にコントロールされた条件のもとに FDG-PET/CT 検査を行うことにより BAT 活性を正確に評価して、肥満度や血中成分との関係を解析した。

20～72 歳の健康な男女 260 名を対象として、冬季に 2 時間の寒冷刺激を与えてから FDG-PET/CT 検査を行い、BAT の最大活性を評価し、その結果に基づき BAT 検出群と非検出群に分けた。BAT 検出群は、非検出群と比較して年齢が若く、体脂肪関連パラメータ (BMI、体脂肪量、AFA) が低かった。血中成分は、全体で見ると両群とも正常範囲内にあったが、HbA1c、T-chol、LDL が BAT 検出群で非検出群より有意に低かった。グルコースについても有意ではなかったが同様の傾向がみられた。また、これらの違いは程度の差はあるが男女ともに認められた。この結果は、BAT が体脂肪に影響する可能性を示唆するが、体脂肪の量や分布は BAT のみならず性別、年齢、内分泌状態を含む生物学的因子に依存して多様に変動するし、さらに BAT 活性そのものも年齢などによって大きく影響を受ける。そこで、これらを考慮して体脂肪に対する BAT と年齢、性別の影響を調べるために、ロジスティック回帰分析を行ったところ、大部分の肥満関連パラメータにおいて年齢や性別に加えて BAT が独立した影響因子であることが判明した。

更に、血中成分に及ぼす BAT や肥満度の影響も解析したところ、体脂肪関連パラメータがインスリン、中性脂肪などと有意に相関することが確認された。そこで、体脂肪のみならず性別や年齢の影響を調整して解析を行ったところ、BAT が HbA1c とグルコースに対して独立した影響因子となることが明らかになった。これらの結果は、BAT が体脂肪だけではなく、グルコースの代謝調節にも一定の役割を担っている可能性を示しており、その機能低下や退縮が肥満やメタボリックシンドロームの一因となる可能性を示唆している。

上記の結論が正しければ、BAT を再活性化、増量すれば肥満を予防・改善できるはずである。事実、寒冷刺激やある種の香辛料成分の摂取を長期間続けると、BAT がリクルートされ、エネルギー

一消費も増えて体脂肪が減少することが知られている。そこで本論文の第2章では、他の食品成分として、タイヤラオスで日常的に摂取されており肥満軽減や糖代謝改善効果が知られているショウガ科の植物である黒ショウガに着目して、そのアルコール抽出物(KPE)のBATへの影響を検討した。21~29歳の健常男性20名を被験者として、寒冷刺激によって活性化されるBATを評価し、BAT検出群(12名)と非検出群(8名)に分けた。KPEカプセルを経口摂取させたところ、BAT検出群ではエネルギー消費量が90分にわたって上昇したが、プラセボカプセル摂取では有意な変化は認められなかった。一方、BAT非検出群では、いずれのカプセル摂取においてもエネルギー消費はほとんど変化しなかった。この結果は、KPEのエネルギー消費亢進がBAT活性に依存する、すなわちKPEはBATを活性化して全身のエネルギー消費を増やすことを示しており、これが体脂肪減少の一因である可能性を示唆している。

このように本論文での研究により、健常成人において寒冷刺激によって活性化されるBATが、その熱産生活性によって体脂肪量の調節に関わっていることが示された。同時に、全身糖代謝に対してもBATが体脂肪量とは独立に影響を及ぼしている可能性が示された。さらに、KPEがBATを活性化して全身のエネルギー消費を増やすことが示され、この食品成分の肥満軽減効果のメカニズムの一端が明らかになった。これらの結果は、肥満や糖代謝異常の予防・改善においてBATに焦点を当てた対策の有用性を示唆している。

謝 辞

本研究を遂行するに際しまして、終始御指導いただきました天使大学大学院 看護栄養学研究科 大久保岩男教授、北海道大学 斉藤昌之名誉教授に心より深く感謝申し上げます。また、本論文を御校閲して下さり、御助言をいただきました天使大学大学院 看護栄養学研究科 武蔵学教授に心より御礼申し上げます。

そして、本研究に御協力いただきました被験者の皆様、北海道大学大学院 獣医学研究科 米代武司博士、函館短期大学 食物栄養学科 会田さゆり准教授に深く感謝と御礼申し上げます。さらに、FDG-PET/CT を実施していただきました LSI 札幌クリニック 杉江広紀理事長、放射線科 亀谷俊満氏を始めスタッフの皆様、並びに KPE および PL カプセルを供与して下さった株式会社 東洋新薬に御礼申し上げます。

参考文献

1. World Health Organization : Obesity and over weight : WHO Fact Sheet, No,311, 2013, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
2. 厚生労働省:平成 24 年国民健康・栄養調査結果の概要, 2014, (<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/0000032813.pdf>)
3. 松澤佑次、島本和明、益崎裕章、他: 総論, メタボリックシンドローム - 病院解明と予防・治療の最新戦略 -, 日本臨牀, 64(増刊 8), 9-34, 2006.
4. 日本肥満学会: 肥満症治療のガイドライン 2006, 肥満研究, 12(臨時増刊号), 2006.
5. 田中茂穂: 身体活動とエネルギー代謝, 身体活動・運動と生活習慣病 - 運動生理学と最新の予防・治療 -, 日本臨牀, 67(増刊 2), 11-15, 2009.
6. Cannon B, Nedergaard J: Brown adipose tissue: function and physiological significance, *Physiol Rev*, 84, 277-359, 2004.
7. 斉藤昌之: 褐色脂肪とは, ここまでわかった燃える褐色脂肪の不思議, 斉藤昌之, 大野秀樹編, 9-29, 有限会社ナップ, 2013.
8. Kajimura S, Saito M: A new era in brown adipose tissue biology: molecular control of brown fat development and energy homeostasis, *Annu Rev Physiol*, 76, 225-249, 2014.
9. Inokuma K, Ogura-Okamatsu Y, Toda C, et al: Uncoupling protein 1 is necessary for norepinephrine-induced glucose utilization in brown adipose tissue, *Diabetes*, 54, 1385-1391, 2005.
10. 米代武司、斉藤昌之: ヒトの褐色脂肪とその機能, ここまでわかった燃える褐色脂肪の不思議, 斉藤昌之, 大野秀樹編, 101-125, 有限会社ナップ, 2013.
11. Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, et al: High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity, *Diabetes*, 58, 1526-1531, 2009.
12. Cypess AM, Lehman S, Williams G, et al: Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans, *N Engl J Med*, 360, 1509-1517, 2009.
13. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, et al: Functional brown adipose tissue in healthy

- adults, *N Engl J Med*, 360,1518-1525, 2009.
14. van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommelrig JW, Smulders NM, et al: Cold-activated brown adipose tissue in healthy men, *N Engl J Med*, 360, 1500-1508, 2009.
 15. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, et al: Age-related decrease in cold-activated brown adipose tissue and accumulation of body fat in healthy humans, *Obesity*, 19, 1755-1760, 2011.
 16. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, et al: Brown adipose tissue, whole-body energy expenditure, and thermogenesis in healthy adult men, *Obesity*, 19, 13-16, 2011.
 17. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, et al: Recruited brown adipose tissue as an anti-obesity agent in humans, *J Clin Invest*, 123, 3404-3408, 2013.
 18. Saito M: Brown adipose tissue as a regulator of energy expenditure and body fat in humans, *Diabetes Metab J*, 37(1), 22-29, 2013.
 19. Ouellet V, Labbé SM, Blondin DP, et al: Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans, *J Clin Invest*, 122(2):545-552, 2012.
 20. Au-Yong IT, Thorn N, Ganatra R, et al: Brown adipose tissue and seasonal variation in humans, *Diabetes*, 58, 2583-2587, 2009.
 21. Lee P, Greenfield JR, Ho KK, et al: A critical appraisal of the prevalence and metabolic significance of brown adipose tissue in adult humans, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 299, E601-E606, 2010.
 22. Huang YC, Chen TB, Hsu CC, et al: The relationship between brown adipose tissue activity and neoplastic status: an ¹⁸F-FDG PET/CT study in the tropics, *Lipids Health Dis*, 10, 238, 2011.
 23. Ouellet V, Routhier-Labadie A, Bellemare W, et al: Outdoor temperature, age, sex, body mass index, and diabetic status determine the prevalence, mass, and glucose-uptake activity of ¹⁸F-FDG-detected BAT in humans, *J Clin Endocrinol Metab*, 96, 192-199, 2011.
 24. Vallerand AL, Pesusse F, Bukowiecki LJ: Cold exposure potentiates the effect of insulin on in vivo glucose uptake, *Am J Physiol*, 253, E179-R186, 1987.
 25. Gasparetti AL, de Souza CT, Pereira-da-Silva M, et al: Cold exposure induces

- tissue-specific modulation of the insulin-signalling pathway in *Rattus norvegicus*, *J Physiol*, 552, 149-162, 2003.
26. Nishio M, Yoneshiro T, Nakahara M, et al: Production of functional classical brown adipocytes from human pluripotent stem cells using specific hemopoietin cocktail without gene transfer, *Cell Metab*, 16, 394-406, 2012.
 27. Stanford KI, Middelbeek RJW, Townsend KL, et al: Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity, *J Clin Invest*, 123, 215-223, 2013.
 28. Pfannenbergen C, Werner MK, Ripkens S, et al: Impact of age on the relationships of brown adipose tissue with sex and adiposity in humans, *Diabetes*, 59, 1789-1793, 2010.
 29. Persichetti A, Sculto R, Rea S, et al: Prevalence, mass, and glucose-uptake activity of 18F-FDG-detected brown adipose in humans living in a temperate zone of Italy, *PLoS One*, 8, e63391, 2013.
 30. Chondronikola M, Volpi E, Børsheim E, et al: Brown adipose tissue improves whole body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans, *Diabetes*, 63(12), 4089-4099, 2014.
 31. Orava J, Nuutila P, Lidell ME, et al: Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin, *Cell Metab*, 14, 272-279, 2011.
 32. Villarroya J, Cereijo R, Villarroya F: An endocrine role for brown adipose tissue? *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 305, E567-E572, 2013.
 33. Lee P, Werner CD, Kebebew E, Celi FS: Functional thermogenic beige adipogenesis is inducible in human neck fat, *Int J Obes*, 38(2), 170-176, 2014.
 34. Lee P, Brychta RJ, Linderman J, et al: Mild cold exposure modulates fibroblast growth factor 21 (FGF21) diurnal rhythm in humans: relationship between FGF21 levels, lipolysis, and cold-induced thermogenesis, *J Clin Endocrinol Metab*, 98, E98-E102, 2013.
 35. Yoneshiro T, Matsushita M, Tone H, et al: Recruitment of brown adipose tissue after daily ingestion of catechin in men, *3rd International Conference on Recent Advances and Controversies in Measuring Energy Metabolism. Abstract*, p.40, 2014.
 36. Snitker S, Fujishima Y, Shen H, et al: Effects of novel capsinoid treatment on

- fatness and energy metabolism in humans: possible pharmacogenetic implications. *Am J Clin Nutr*, 89:45-50, 2009.
37. Watanabe T, Kawada T, Kurosawa M, et al: Adrenal sympathetic efferent nerve and catecholamine secretion excitation caused by capsaicin in rats, *Am J Physiol*, 255,E23-E27, 1988.
 38. Ono K, Tsukamoto-Yasui M, Hara-Kimura Y, et al: Intragastric administration of capsiate, a transient receptor potential channel agonist, triggers thermogenic sympathetic responses, *J Appl Physiol*, 110(3), 789-798, 2011.
 39. Masuda Y, Haramizu S, Oki K, et al: Upregulation of uncoupling proteins by oral administration of capsiate, a nonpungent capsaicin analog, *J Appl Physiol*, 95(6),2408-2015, 2003.
 40. Kawabata F, Inoue N, Masamoto Y, et al: Non-pungent capsaicin analogs (capsinoids) increase metabolic rate and enhance thermogenesis via gastrointestinal TRPV1 in mice, *Biosci Biotechnol Biochem*, 73(12), 2690-2697, 2009.
 41. Kawada T, Watanabe T, Takaishi T, et al: Capsaicin-induced beta-adrenergic action on energy metabolism in rats: influence of capsaicin on oxygen consumption, the respiratory quotient, and substrate utilization, *Proc Soc Exp Biol Med*, 183, 250-256, 1986.
 42. Kobayashi A, Osaka T, Namba Y, et al: Capsaicin activates heat loss and heat production simultaneously and independently in rats, *Am J Physiol*, 275, R92-R98, 1988.
 43. Kawada T, Hagihara I, Ishihara K: Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet, *J Nutr*, 116, 1272-1278, 1986.
 44. Yoneshiro T, Aita S, Kawai Y, et al: Non-pungent capsaicin analogs (capsinoids) increase energy expenditure through the activation of brown adipose tissue in humans, *Am J Clin Nutr*, 95, 845-850, 2012.
 45. Saito M, Yoneshiro T: Capsinoids and related food ingredients activating brown fat thermogenesis and reducing body fat in humans, *Curr Opin Lipidol*, 24, 71-77, 2013.
 46. 富永真琴: 温度受容の分子機構—TRP チャネル温度センサー—, *日本薬理学雑誌*, 124, 219-227, 2004.

47. Yoneshiro T, Saito M: Transient receptor potential activated brown fat thermogenesis as a target of food ingredients for obesity management, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 16(6), 625-631, 2013.
48. Sugita J, Yoneshiro T, Hatano T, et al: Grains of paradise (*Aframomum melegueta*) extract activates brown adipose tissue and increases whole-body energy expenditure in men, *Br J Nutr*, 110 (4), 733-738, 2013.
49. Yenjai C, Prasanphen K, Daodee S, et al: Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*, *Fitoterapia*, 75, 89-92, 2004.
50. Rujjanawate C, Kanjanapothi D, Amornlerdpison D, et al: Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*, *J Ethnopharmacol*, 102, 120-122, 2005.
51. Kusirisin W, Srichairatanakool S, Lertrakarnnon P, et al: Antioxidative activity, polyphenolic content and anti-glycation effect of some Thai medicinal plants traditionally used in diabetic patients, *Med Chem*, 5, 139-147, 2009.
52. Akase T, Shimada T, Terabayashi S, et al: Anti-obesity effects of *Kaempferia parviflora* in spontaneously obese type II diabetic mice, *J Nat Med*, 65, 73-80, 2011.
53. Shimada T, Horikawa T, Ikeya Y, et al: Preventive effect of *Kaempferia parviflora* ethyl acetate extract and its major components polymethoxyflavonoid on metabolic diseases, *Fitoterapia*, 82, 1272-1278, 2011.
54. Yoshino S, Kim M, Awa R, Kuwahara H, Kano Y, Kawada T: *Kaempferia parviflora* extract increases energy consumption through activation of BAT in mice, *Food Sci Nutr*, 2(6), 634-637, 2014.
55. 吉野進、阿波里佳、桑原浩誠: ブラックジンジャー抽出物による脂肪燃焼亢進作用, 第67回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, p.241, 2013.
56. Okabe Y, Shimada T, Horikawa T, et al: Suppression of adipocyte hypertrophy by polymethoxyflavonoids isolated from *Kaempferia parviflora*, *Phytomedicine*, 21(6), 800-806, 2014.
57. Temkitthawon P, Hinds TR, Beavo JA, et al: *Kaempferia parviflora*, a plant used in traditional medicine to enhance sexual performance contains large amounts of low affinity PDE5 inhibitors, *J Ethnopharmacol*, 137, 1437-1441, 2011.