

エピガロカテキンガレート (EGCG) による摂食抑制に関する研究

石 黒 真理子, 滝 澤 麻 紀, 藤 野 佳 穂, 大 貫 里 沙,
後 藤 由 里 香, 久 保 静 香, 神 山 伸, 曾 根 英 行
(新潟県立大・健康栄養*)

Epigallocatechin gallate (EGCG) does not directly act as a modulator of food intake

Mariko ISHIGURO¹, Aki TAKIZAWA¹, Kaho FUJINO, Risa ONUKI, Yurika GOTO,
Shizuka KUBO, Shin KAMIYAMA² and Hideyuki SONE²

Department of Health and Nutrition, University of Niigata Prefecture

(¹ authors who equally contributed to this work; ² corresponding authors)

Summary

Epigallocatechin gallate (EGCG) is one of the catechin (natural polyphenols) that is present in green tea, and has many biological functions. Some studies reported that EGCG suppresses food intake and decreases the body weight of mice and rats. However, there is no data regarding the effects of EGCG on the hypothalamic feeding center. We investigated whether EGCG could modulate the gene expression of feeding-regulatory peptides in the hypothalamus. In addition, we examined how EGCG affects peripheral secretion of these peptides. C57BL/6j mice were divided into two groups: one group was injected intraperitoneally with 200 µg of EGCG daily for 9 days, and the other group was injected with saline. The body weight and food intake were measured every day. On the last day of the experiment, blood, epididymal white adipose tissue (EWAT), brown adipose tissue (BAT), and hypothalamus were collected. Concentrations of insulin, leptin, ghrelin, and GLP-1 in plasma were determined using EIA. The mRNA expression levels of NPY and POMC in the hypothalamus, leptin in EWAT, and uncoupling proteins (UCP-1, -2, and -3) in BAT were measured using real-time RT-PCR.

Food intake was significantly reduced by EGCG Day 1-3 onwards, but the body weight of the EGCG group was not different from that of the control group. Leptin concentration in plasma was significantly decreased by EGCG, but there were no differences in plasma concentrations of insulin, ghrelin, and GLP-1 between the groups. Also, mRNA levels of NPY and leptin increased 2-fold and decreased by one third, respectively, in the EGCG group. The mRNA levels of POMC and UCPs were not altered by EGCG. These results suggest that EGCG can suppress satiety and stimulate appetite. The suppression of feeding by EGCG observed in this study may be caused by the toxicity of EGCG, especially the toxicity resulting from its antibacterial action mediated by free radicals.

カテキン類は緑茶のポリフェノール成分として広く認識されており、構造の違いからエピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、エピガロカテキンガレート (EGCG) の4種類が存在する。カテキン類は抗酸化性や抗菌性といったポリフェノール類に共通する機能性を有し、なかでもEGCGはエピカテキンの8番目の炭素に没食子酸がエステル結合した構造をしており、多くのフェノール性水酸基を有するため最も強い抗酸化作用を示す。EGCGの生体への影響については古くから精力的に研究されており、抗がん作用、抗ウイルス作用、抗アレルギー作用、血圧上昇抑制作用、動脈硬化抑制作用、脂質代謝改善作用な

ど多くの薬理作用が報告されている¹⁾。生活習慣病との関連が深い摂食に関する研究では、2000年にYungらがラットを用いた検討で、過剰量のEGCGの腹腔投与による摂食量と体重の減少を観察しており、その主因としてASTやγ-GTPの変動を示唆している²⁾。また、2005年にはKlausらがマウスを用いた検討で、過剰量のEGCGの長期経口投与によって摂食量の変化を伴わない体重の減少を観察しており、その主因として生体内代謝の亢進、褐色脂肪組織及び肝臓での脱共役タンパク質 (UCPs) の遺伝子発現量の上昇を報告している³⁾。しかし、それ以後の摂食とEGCGに関する研究は極僅かであり、特に摂食中

*所在地：新潟市東区海老ヶ瀬471 (〒950-8680)

枢である視床下部における EGCG の効果については全く検討されていない。

摂食は、種々の因子が拮抗的に作用することで調節されている。末梢組織由来の摂食調節因子には摂食抑制物質であるグルコース、レプチン、インスリン、コレシストキニン (CCK)、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)、ペプチド YY (PYY) などが挙げられる。グレリンは唯一の末梢由来の摂食亢進物質である。摂食中枢である視床下部ではニューロペプチド Y (NPY)、アグーチ関連タンパク質 (AgRP) が摂食亢進、プロオピオメラノコルチン (POMC)、コカイン・アンフェタミン調節転写産物 (CART)、オレキシン、ネスファチンが摂食抑制に関与している⁴⁾。EGCG の生体内での作用機作には、核内での遺伝子発現の調節と細胞表面の受容体を介した脱顆粒反応による調節の2つの経路が考えられる。すなわち、EGCG は核内もしくは細胞表面で作用することが推察されるが、前者では標的細胞への EGCG の蓄積が必要となる。

本来、ポリフェノールはアク (灰汁) の構成成分であり、植物が捕食者から自己防衛のために産生する物質である。そのため EGCG は、哺乳類動物にとっては生体内には存在しない生体異物であり、肝臓での薬物代謝系を介して体外へ排出されるものと考えられる。事実、EGCG の生体内動態を観察した研究では、腹腔および経口投与された EGCG は速やかにグルクロン酸抱合され、尿中および胆汁を介し腸管へ排泄されることが示唆されている。そのため、大過剰の EGCG を投与しない限り臓器への蓄積は認められないものと考えられ、そうした傾向を推察する報告もある⁵⁾。その一方で、培養細胞を用いた実験では EGCG は細胞膜を通過して細胞内へと移行し、核内まで到達することが報告されており、転写因子もしくはその補因子として遺伝子発現に関与することが示唆されている⁶⁾。

細胞表面における EGCG の作用に関しては、近年になり EGCG の細胞膜受容体 (67 kDa ラミニンレセプター: 67LR) が同定され、EGCG の細胞内情報伝達経路が解明されつつある⁷⁾。この受容体は癌化された細胞で高頻度に発現するが、脳及び末梢での正常組織にも発現している⁸⁾。また、EGCG はヒトがん細胞においてミオシン軽鎖のリン酸化を抑制することが報告されている⁹⁾。ミオシン軽鎖のリン酸化は、分泌顆粒の細胞膜近傍への移動や細胞膜への融合に関与することが知られている¹⁰⁾。そのため、EGCG はこれらの経路を介し分泌顆粒のエクソサイトーシスを抑制するものと考えられる⁹⁾。

本研究では、摂食調節に関する EGCG の末梢及び視床下部での作用とその機序の解明を目的として、血中 EGCG 含量の経時的変化を測定し、生体内での EGCG の作用経路について検討した。さらに、血糖値および摂食調節ペプチドホルモンの血中濃度と視床下部を含めた各産生臓器での遺伝子発現量の変化について検討を行った。

実験方法

1. 実験動物および飼育環境

実験動物には C57BL/6j マウス、雄、8 週齢 (日本クレア株式会社) を用いた。実験動物は、室温 $22 \pm 4^\circ\text{C}$ 、湿度 $30 \pm 5\%$ 、12 時間の暗明サイクルに維持された動物室で飼育した。5 日間の予備飼育後、実験動物を対照群と EGCG 群に分け、実験飼育を開始した。飼料にはラット・マウス飼育繁殖用飼料 CE-2 (日本クレア株式会社) を与え、飼料および水は自由摂取とした。EGCG 群には $200 \mu\text{g}/\text{day}$ の EGCG を腹腔投与した。対照群には同量の生理食塩水を腹腔投与した。EGCG の投与量は、体重による換算でヒトが日常的に摂取可能な範囲であった¹¹⁾。本実験は新潟県立大学動物実験委員会及び倫理委員会の承認を得た後、適切に実施された。

2. 摂食量測定と試料調整

24 時間あたりの摂食量を毎日測定した。摂食量は、測定日による誤差を解消するため連続した 3 日間の結果を平均して算出した。

実験飼育終了後、断頭により血液を採取し遠心分離により血漿を得た。その後、白色脂肪 (精巣上体周囲脂肪)、褐色脂肪、視床下部を採取した。血漿及び各組織は、摂食調節ペプチドホルモンの血漿濃度及び各組織での発現量を測定するまで -80°C で保存した。

また、EGCG の体内動態を検討するため C57BL/6j マウスに $1000 \mu\text{g}$ の EGCG を腹腔投与した後、5 分、10 分、20 分、40 分、1 時間、4 時間、24 時間後に血液を採取した。遠心分離により血漿を分取した後、EGCG 含量の測定まで -80°C で保存した。

3. EGCG の定量

EGCG は HPLC 分析法で定量した。血漿は既報に基づき以下のような前処理を施した¹²⁾。即ち、血漿 $100 \mu\text{L}$ にアセトニトリル (和光純薬) $100 \mu\text{L}$ と酢酸エチル (和光純薬) $600 \mu\text{L}$ を加えて攪拌し、遠心分離 ($13,000 \text{ rpm}$, 4°C , 15 分) 後に上清を回収した。上清は窒素ガスを噴霧しながら 70°C で乾固させ、 $50 \mu\text{L}$ の 10% アセトニトリルに再溶解した後、測定試料とした。

HPLC 装置は L-7405 型 UV 検出器を付属した日立製 HPLC、カラムはジーエルサイエンス社製 Inertsil ODS-3 分析カラム (逆相カラム $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$) を使用した。分離用溶媒としてアセトニトリル: テトラヒドロフラン: リン酸二水素カリウム ($\text{pH } 3.0$) = $7:7:86$ を使用し、 $1 \text{ mL}/\text{min}$ の流速で溶出した¹³⁾。EGCG の標準試薬で検量線を作成し、エピカテキンを内部標準物質として定量した。

4. 血糖値及び摂食調節ペプチドホルモン濃度測定

血糖値は、採血後直ちに市販の測定キット (アボットジャパン株式会社) を用いて測定した。血漿インスリン、

レプチン、GLP-1、グレリン濃度の測定は、酵素免疫測定法による市販測定キット（レビス インスリン-マウス、レビス レプチン-マウス、レビス GLP-1 (Active)-マウス（以上、株式会社シバヤギ）、Rat ghrelin EIA kit（ベルテンファーマ））を用いて測定した

5. 摂食調節ペプチドの遺伝子発現量測定

遺伝子発現量はリアルタイム RT-PCR 法により測定した。各組織から Trizol 試薬 (Invitrogen) を用いた方法により Total RNA を調製し、SuperScript™ III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen) を用いた逆転写反応により相補的 DNA を合成した。この相補的 DNA を鋳型として Piko-Real 装置 (Thermo Scientific) を用いたリアルタイム PCR により転写産物量を定量した。PCR 反応は SYBR® Premix Ex Taq™ II (TAKARA) を用い、95℃ で 30 秒熱変性を行った後、95℃ 5 秒間 -60℃ 30 秒間の 40 サイクルで行った。プライマーには以下の配列のオリゴ DNA を使用した。それぞれの遺伝子発現量は、β-アクトチンの転写産物量に対する相対量として表した。

Leptin: F-GACATTTTCACACACGCAGTCG,
R-AGCCCAGGAATGAAGTCCAA;
UCP-1: F-GCAGATATCATCACCTTCCCG,
R-CCTGGCCTTCACCTTGGAT;
UCP-2: F-AACAGTTCTACACCAAGGGC,
R-AGCATGGTAAGGGCACAGTG;
UCP-3: F-TGCTGAGATGGTGACCTACG,
R-GCGTTCATGTATCGGGTCTT;
NPY: F-TGTTTGGGCATTCTGGCTGAGG,
R-TTCTGGGGCGTGTTTTCTGTGCT;
POMC: F-CGGCCCAGGAACAGCAGCAGT,
R-GGGCCCGTCGCTCTTCTCC;
β-actin: F-CTTGGGTATGGAATCCTGTGG,
R-GTACTTGCGCTCAGGAGGAG.

6. 統計学的解析

全ての測定値は、平均値 ± 標準誤差 (SEM) で示した。測定値の集計および解析には、Stat View J-5.0 を用いた。検定は対応のない t 検定あるいは一元配置分散分析を用いて行い、全ての検定において有意水準は p 値 < 0.05 とした。

結果と考察

実験期間中の各群の体重の変化を図 1 に示した。体重は、対照群と EGCG 群の間で有意差は認められず、実験期間を通じて EGCG による影響は観察されなかった。実験期間中の摂食量の変化は図 2 に示した。摂食量は、1 - 3 日目において対照群 (3.1 ± 0.1 g/day) に対し EGCG 群 (2.7 ± 0.1 g/day) で有意な低値を示した (p < 0.05)。4 - 6 日目でも対照群の 3.0 ± 0.1 g/day に対し EGCG 群で 2.6 ±

0.2 g/day (p < 0.05) と有意に低下しており、7 - 9 日目には対照群の 3.0 ± 0.1 g/day に対し EGCG 群で 2.2 ± 0.2 g/day と 70% 程度まで減少した (p < 0.001)。これまでの報告では、ラット及びマウスを用いた実験で EGCG による体重の減少が報告されている^{2,3)}。しかし、これらの実験では本研究とは異なり、EGCG の投与期間が長期間に渡る、もしくは体重比で 10 倍以上といった過剰量の EGCG が投与されている。一方、本研究における結果では、投与後 1 - 3 日目という早い時期から EGCG による摂食量の低下が認められ、この現象は実験期間の経過と共に強くなる傾向にあった。したがって、本研究における実験条件でも長期的に EGCG を投与すれば体重減少がみられるものと推察される。

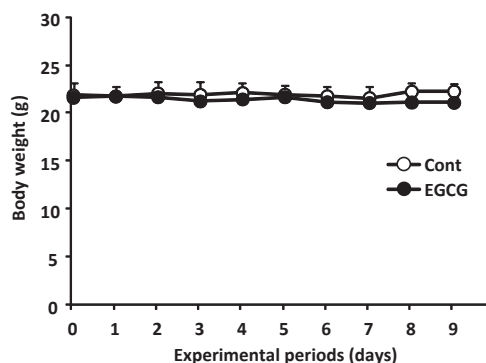


Fig. 1 Effect of EGCG on body weight in mice. Mice were injected intraperitoneally (ip) with 200 μg EGCG or saline daily for 9 days. Data are expressed as mean ± SEM (n = 6).

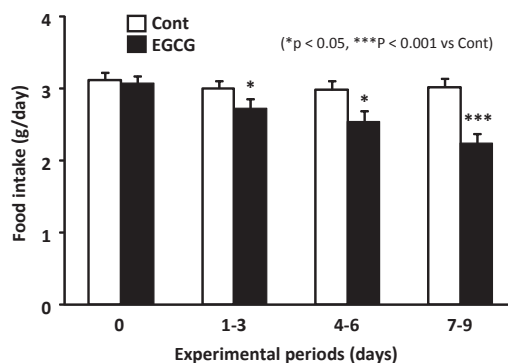


Fig. 2 Effect of EGCG on food intake in mice. Intraperitoneal (ip) injections of EGCG were same as described above. Food intakes were calculated as 3-day average. Data are expressed as mean ± SEM (n = 6).

また摂食量の結果から、EGCG は腹腔投与することでマウスの摂食を抑制することが示された。この結果は、これまでのラットの報告と一致するものである²⁾。先にも述べた通り、EGCG は生体内において 2 つの機序で作用することが推察される。つまり、核内で転写因子もしくはその補因子として遺伝子発現を調節する経路と、細胞表面で膜受容体に結合し、分泌顆粒のエクソサイトーシスを調節する経路である。前者であれば EGCG の標的臓器への蓄積が必要となり、後者であれば血中濃度の変動が重要となる。したがって、EGCG の作用経路を明らかにするために、

EGCG の体内動態について検討を行った。

血漿中 EGCG 含量の経時的变化を図 3 に示した。血漿中の EGCG 含量は 0 分後（投与前）では検出限界以下であった。しかし、EGCG 投与 5 分後には $0.73 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ まで急激に増加し、10 分後にはピークに達した ($0.78 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$)。これらの結果は、腹腔へ投与された EGCG が速やかに血中へ移行することを示している。その後、血漿中の EGCG 含量は時間経過と共に減少し、1 時間後にはピーク時の 18% まで低下した ($0.14 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$)。4 時間後、24 時間後には EGCG は検出されなかった。腹腔投与による血中 EGCG 含量の半減期は経時的变化の曲線から約 35 分と算出され、EGCG が比較的速やかに血中から消失することが示された。これまでの EGCG の体内動態の研究では、尾静脈投与された EGCG は 10 分後にピークに達した後、肝臓において大部分がグルクロン酸抱合型に変換され、急速に減少することが報告されている^{5,14)}。グルクロン酸抱合された EGCG は尿中および胆汁を介し体外へ排泄される。そのため、EGCG の臓器への蓄積には過剰量の EGCG の投与が必要と考察されている。事実、本実験においても EGCG 投与 1 時間後と 4 時間後の肝臓、白色脂肪、褐色脂肪、視床下部の EGCG 含量を測定したが、いずれの臓器においても検出限界以下であった（データ未掲載）。これらの結果から判断すると、EGCG の作用はグルクロン酸抱合を受けるまでの比較的短時間のうちに起こるか、もしくは細胞内へ移行した僅かな EGCG によって惹起されるものと推察される。

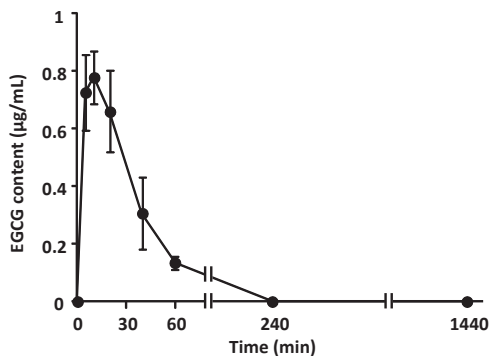


Fig. 3 Time course of changes in plasma EGCG after ip injection of EGCG in mice. Blood samples were collected from tail vein at 0, 5, 10, 20, 40, 60, 240, 1440 min after 1000 µg EGCG injection. Data are expressed as mean ± SEM (n = 3).

摂食調節ペプチドホルモンの血漿中濃度の結果を図 4 に示した。インスリン濃度、GLP-1 濃度、グレリン濃度については対照群と EGCG 群で差は認められなかった。また、血糖値についても対照群と EGCG 群とで同程度であった（データ未掲載）。しかし、レプチン濃度は対照群に対し EGCG 群で有意な低値を示した。摂食抑制物質であるインスリン、レプチン、GLP-1 は末梢由来の摂食調節ペプチドホルモンである。インスリンは膵β細胞から分泌され、視床下部において摂食促進物質である NPY を含有する NPY ニューロンを抑制し摂食抑制性に作用する⁴⁾。

レプチンと GLP-1 はそれぞれ白色脂肪細胞と小腸下部から分泌され、視床下部において摂食抑制物質の前駆体である POMC を含有する POMC ニューロンを活性化し、摂食抑制性に作用する⁴⁾。本実験におけるレプチン濃度の減少は、EGCG が摂食抑制ではなく亢進性に作用する可能性を示している。Klaus らの研究においても我々と同様に血中レプチン濃度の減少を認めているが、その原因として EGCG 投与による精巣周囲脂肪の減少を挙げている³⁾。Klaus らの実験では、EGCG として 0.1% カフェインを含有した緑茶抽出物を使用しているが、カフェインはノルアドレナリン分泌を促進し、エネルギー消費を増加させることが示唆されており¹⁵⁾、これが精巣周囲脂肪の減少に寄与したものと考察している。一方、本研究では解剖時に精巣周囲脂肪に目立った変化が認められなかったことから、レプチン濃度の減少は脂肪量の減少に起因するものではなく、EGCG による直接的もしくは二次的な作用を介した分泌抑制によるものと考えられる。

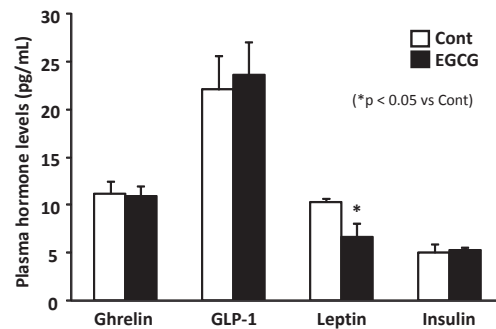


Fig. 4 Effect of EGCG on plasma hormones in mice. Ip injections of EGCG were same as described above. Blood samples were collected at 4 h after ip injection of EGCG on the last day of experiment. Data are expressed as mean ± SEM (n = 6).

次に、摂食中枢である視床下部における摂食調節タンパク質 (NPY, POMC) の遺伝子発現量を測定した。加えて、これまでの報告で EGCG によって遺伝子発現量に変化が認められた末梢組織での摂食調節タンパク質 (レプチン) とエネルギー代謝関連タンパク質 (UCP-1, -2, -3) についても併せて検討した^{2,3)}。視床下部及び白色脂肪、褐色脂肪における摂食調節タンパク質の遺伝子発現量の結果を図 5 に示した。視床下部における POMC と褐色脂肪における UCP-1, -2, -3 の発現量に EGCG による変化は認められなかった。UCP-1 の遺伝子発現はアドレナリン刺激によって増加する。EGCG は、カテコールアミン異化酵素の阻害剤としてアドレナリンによる作用を増強するが、UCP-1 の発現に変化が認められなかったことから、この酵素阻害を介した影響はほとんどなかったものと考えられる。しかし、視床下部における NPY の発現量は対照群に対し EGCG 群で有意に増加した。さらに、白色脂肪におけるレプチンの発現量は EGCG 群で有意な低下を示した。NPY は視床下部弓状核 (ARC) に存在し、摂食亢進およびエネルギー消費抑制の方向に作用する¹⁶⁾。つまり、摂

食調節ペプチドホルモンの結果と同様に、遺伝子発現量の結果からも EGCG が摂食亢進作用を持つことが強く示唆され、EGCG による摂食抑制の現象とは矛盾する結果となった。カテキン類は活性酸素を産生し、強い抗菌作用を示すことから、EGCG による摂食抑制は、生体内において産生されるフリーラジカル等による二次的な作用である可能性が考えられる。事実、EGCG による活性酸素種の産生とそれを介した DNA の酸化障害や EGCG の腹腔投与による肝細胞のネクロシスが報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾。一方、視床下部において NPY は絶食に対して他の摂食調節タンパク質よりも鋭敏に反応し、その発現量を増加させることから²⁰⁾、NPY の発現量の増加は EGCG の腹腔投与による摂食抑制に応答した副次的な結果であることも考えられる。これらの可能性については、対照群と EGCG 群の摂食量をペアフィーディングもしくは強制給餌によって人為的に調整することで検討することができるものと考えられる。

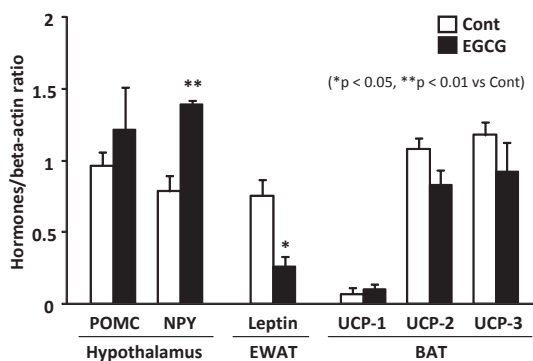


Fig. 5 Effect of EGCG on the mRNA expression of feeding regulatory peptides in mice. The mRNA expression of feeding regulatory peptide was normalized relative to the mRNA expression of beta-actin in each sample. Data are expressed as mean \pm SEM (n = 3).

本研究では、EGCG による摂食抑制作用とその作用部位について検討した。その結果、EGCG は腹腔投与によって比較的低濃度であっても摂食抑制を示したが、その作用は EGCG によって産生されるフリーラジカル等による毒性の結果であることが推察される。一方、EGCG は摂食抑制物質であるレプチンの分泌と遺伝子発現量を抑制し、さらに視床下部の摂食亢進ホルモンである NPY の遺伝子発現量を増加させた。これは、EGCG による摂食抑制によって摂食促進系が活性化されたためと考えられる。今後は、EGCG が毒性を示さない投与量と投与方法を確定し、摂食調節系における EGCG の作用機序について検討することが必要と考えられる。

参考文献

- 1) 村松 敬一郎, 伊勢村 護, 山本 万里, 小国 伊太郎, 杉山 公男 (2002) 茶の機能. 学会出版センター: 1-426
- 2) Kao YH, Hiipakka RA, Liao S. (2000) Modulation of

- endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinol* 141(3): 980-987
- 3) Klaus S, Pültz S, Thöne-Reineke C, Wolfram S. (2005) Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. *Int J Obes* 29(6): 615-623
- 4) Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. (2008) Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 18(2): 158-168
- 5) Lambert JD, Lee MJ, Lu H, Meng X, Hong JJ, Seril DN, Sturgill MG, Yang CS. (2003) Epigallocatechin-3-gallate is absorbed but extensively glucuronidated following oral administration to mice. *J Nutr* 133(12): 4172-4177
- 6) Bae JY, Kanamune J, Han DW, Matsumura K, Hyon SH. (2009) Reversible regulation of cell cycle-related genes by epigallocatechin gallate for hibernation of neonatal human tarsal fibroblasts. *Cell Transplant* 18(4): 459-469
- 7) Tachibana H, Koga K, Fujimura Y, Yamada K. (2004) A receptor for green tea polyphenol EGCG. *Nat Struct Mol Biol* 11(4): 380-381
- 8) Ménard S, Castronovo V, Tagliabue E, Sobel ME. (1997) *J cell Biochem* 67(2): 155-165
- 9) Fujimura Y, Umeda D, Kiyohara Y, Sunada Y, Yamada K, Tachibana H. (2006) *Biochem Biophys Res Commun* 348(2): 524-531
- 10) Revera J (2002) Molecular adapters in Fc(epsilon)RI signaling and the allergic response. *Curr Opin Immunol* 14(6): 688-693
- 11) 倉田正治, 櫻井隆郎 (2012) ガスクロマトグラフィー/質量分析法による茶飲料中カテキン類 8 種の一斉分析. *分析化学* 61(1): 63-68
- 12) Nakagawa K, Miyazawa T (1997) Absorption and distribution of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 43(6): 678-684
- 13) Analysis of Catechins. GL Sciences Inc. (InertSearch for LC): Data No. LA238-0000
- 14) Piskula MK, Terao J. (1997) Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues. *J Nutr* 128(7): 1172-1178
- 15) Kovacs EM, Lejeune MP, Nijs I, Westerterp-Plantenga MS. (2004) Effects of green tea on weight maintenance after body-weight loss. *Br J Nutr* 91(3): 431-437
- 16) Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR, Kuijper JL, Foster D, Lasser G, Prunkard DE, Porte D Jr, Woods SC, Seeley RJ, Weigle DS. (1996) Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels

- and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes* 45(4) 531-535
- 17) Furukawa A, Oikawa S, Murata M, Hiraku Y, Kawanishi S. (2003) (-)-Epigallocatechin gallate causes oxidative damage to isolated and cellular DNA. *Biochem Pharmacol.*; 66(9) 1769-1778
- 18) Oikawa S, Furukawa A, Asada H, Hirakawa K, Kawanishi S. (2003) Catechins induce oxidative damage to cellular and isolated DNA through the generation of reactive oxygen species. *Free Radic Res.* 37(8): 881-890
- 19) Goodin MG, Bray BJ, Rosengren RJ. (2006) Sex- and strain-dependent effects of epigallocatechin gallate (EGCG) and epicatechin gallate (ECG) in the mouse. *Food Chem Toxicol.* 44(9): 1496-1504
- 20) 樋口宗史, 椎谷友博, 村瀬真一 (2011) siRNA ベクターを用いた視床下部での摂食制御の解析 - NPY 系. *日薬理誌* 137: 166-171