

米麦主要成分である炭水化物の構成が糖代謝に与える影響の検討

地方独立行政法人 神奈川県立産業技術総合研究所 食品機能性評価グループ
嶋田 耕育

1. 研究の目的と背景

2015年度の日本人の食事摂取基準では日本人の食事のタンパク質 (P)—脂肪 (F)—炭水化物 (C) のエネルギー比率 (PFC 比率) は 16.5 : 25 : 57.5 が理想的であるとしている (図 1 参照)。しかし摂取する炭水化物の構成比, 例えば単糖 (グルコース), 二糖 (スクロース), 多糖 (デンプン) について理想的な摂取配分は明記されていない。炭水化物に関する研究例として炭水化物摂取が急性の血糖上昇, インスリンスパイク応答の要因として取り上げられることも多く, 肥満と関連づけられた研究が多い。このような肥満と関連づけられた炭水化物の研究例として問題視されている『炭水化物』は主に単糖類, あるいは二糖類であり, これら少糖類は我々が古来より主食として摂取しているデンプン等の多糖類とはその形状, 代謝経路が大きく異なっている。食品成分としてのデンプンはグルコースの重合体からなる多糖類であり, 直接のエネルギー源として使用される際には吸収可能なグルコースにまで分解することが必要となる。したがって, 多糖類の摂取は単糖・二糖の摂取と異なり吸収可能になるまで時間的な差が発生することから, 血糖の上昇等の緩和や, 急激な血糖上昇による障害は単糖・二糖などの少糖類と比較し発生しにくいと考えられる。さらには脳などのグルコース要求性の高い器官に対しても何らかの影響を及ぼす可能性が考えられる。以上のように多糖類は期待されうる多くの機能性が想定されるにもかかわらず, その機能性について詳細に検討された

例は少なく, また, 病的状態下ではない健康状態下での代謝機能への影響について検討された基礎的知見はない。本研究提案は, 実験動物であるマウスを用いて飼料成分中の摂取炭水化物比率 (二糖 / 多糖比率) を変化させ, 短期間の代謝応答を中心に多糖類摂取の生体における代謝機能への影響を検証することを目的とする。

2. 研究の方法

2-1. 動物飼育

本研究はナノ医療イノベーションセンターでの実験動物委員会の承認を受け実施した。実験動物は5週齢のC57BL/6N 雄性マウスを日本チャールス・リバー株式会社より購入し, 1週間にわたり飼育室での環境馴化をした後, 本実験に供した。飼育室内の温度は 21℃前後, 湿度は 50% 前後を維持し, AM8:00-PM20:00 を明周期とした。飼育期間中の飼料及び水は自由摂取・摂水とし隔日で飼料交換及び体重・摂餌量測定を実施した。

2-2. 飼料組成

本試験で使用した飼料組成について表 1 に明記する。本試験では精製飼料である AIN93G を基盤とし, 少糖比率の異なる 2 種類の飼料を用意した。飼料中の PFC バランスは現代食に近い割合となるように脂肪比率をエネルギー比率で 25% に設定した。タンパク質, 炭水化物比率はそれぞれエネルギー比率で 20%(P)55%(C) に設定した。一般的に精製飼料である AIN93G には重量あたり 10% の二糖類スクロースを含んでいる。10% のスクロースを含む飼料と 10% のスクロースを多糖類として配合されているコーンスターチで置換した飼料の 2 種類を本試験では使用した。置換したコーンスターチの α β 比率は通常配合されている割合と同じに設定した。

2-3. 経口グルコース負荷試験

本試験において適宜, 経口グルコース負荷試験による糖代謝を測定した。糖負荷試験の前日 PM17 時よりマウスを絶食ケージに移動させ, 翌日 AM9 時まで 16 時間の絶食を行った。試験開始前に 0 分値として血糖値を Glucocard™ (arkray) にて計測し, 糖液を経口ゾンデにて 2g Glucose / kgBW の濃度で経口投与した。投与後, 15, 30, 60, 90, 120 分の血糖値を経時測定した。

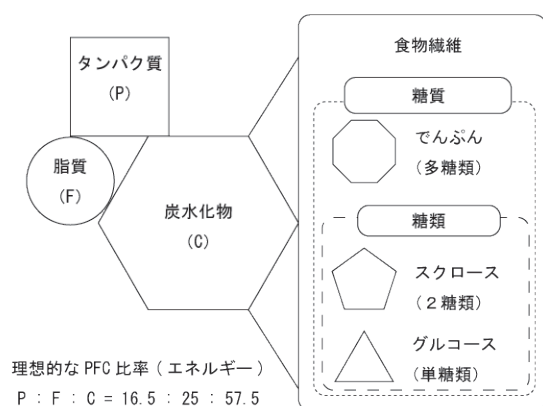


図 1. Ideal 3 key nutrient intake balances and carbohydrate classification.

表 1. 飼料組成

原料名	AIN93G_besed_FAT25kcal% 10% Sucrose	AIN93G_besed_FAT25kcal% no Sucrose
シスチン	0.32	0.32
重酒石酸コリン	0.25	0.25
AIN-93 ビタミン混合	1	1
AIN-93 ミネラル混合	3.5	3.5
セルロースパウダー	5	5
カゼイン	21.5	21.5
コーン油	10.6	10.6
α コーンスターチ	15.65	18.98
β コーンスターチ	32.18	38.85
スクロース	10	0
合計	100 g	100 g

2-4. 呼気ガス分析・活動量計測

呼気ガス分析は動物用エネルギー代謝測定システム [ARCO-2000] (有限会社アルコシステム) を用いて測定した。呼気ガス測定時の飼料・床敷替え及び摂餌量・体重測定を連日実施した。呼気ガスの計測において専用のチャンバーでの測定が必要となるため呼気ガス測定の個体はあらかじめ専用チャンバーでの環境馴化を実施し、馴化後の計測値を測定した。測定項目は呼吸商、酸素消費量、二酸化炭素排出量を測定し、得られた値について1時間の平均値として算出した。活動量計測に関して呼気ガス分析時に赤外線ビームセンサー式運動量測定装置 ACTIMO-100N (株式会社シンファクトリー) を使用して計測し、1時間の合計値を算出した。

2-5. 遺伝子発現解析

採材組織 (肝臓及び精巣上部脂肪) より RNA を TRI Reagent(R) (Molecular Research Center) を用いて定法により抽出し、Agilent 2100 Bioanalyzer を用いて RNA 精製度の確認を行った。Bioanalyzer で算出された RNA Integrity Number (RIN) が 8.5 以上であることを確認し、Smarter Stranded Total RNA Sample Prep Kit HI Mammalian (クロンテック社) を用いて RNA-seq に共するためのライブラリーを作成した。RNA-seq は Nextseq500 を用いて 75bp single-Read にて実施した。得られた Fastq ファイルをもとに HISAT2 プログラムを用いてマウスリファレンスゲノム配列 GRCm38/mm10 に対してマッピングし、StringTie プログラムを用いて各遺伝子エクソン領域にマッピングされたカウントデータを抽出し、Variant を含む遺伝子ごとのカウン

トデータを算出した。群間での変動遺伝子の抽出として DESeq2 プログラムを用い、 P -value < 0.01 以下を変動遺伝子として抽出した。

2-6. 統計処理

全てのデータは mean \pm SEM で表す。遺伝子発現を除くすべてのデータに対して 2 群間比較検定として *unpaired Student's t-test* 検定または *Welch's t test* を有意差検定として使用した。多群間比較では *one way Anova (Tukey's HSD post-hoc test)* 検定を有意差検定として使用した。全ての統計解析において $p < 0.05$ を統計的に有意と定義した。

2-7. 群設定及び群表記

10% Sucrose を含む飼料を摂取した群を 10% Sucrose 群、Sucrose を含まない飼料を摂取した群を NS 群と表示する。また 2 日間の摂取データは 2D、5 週間の継続摂取データは 5W と表示する。グラフにおいて *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ と図示する。

3. 研究内容

本研究では実験動物であるマウスを用いて飼料成分中の摂取炭水化物比率 (二糖/多糖比率) を変化させ、短期間摂取、長期間摂取における代謝応答や代謝臓器での遺伝子発現への影響を中心に解析をする。本研究の結果より多糖類摂取の生体における代謝機能への影響について議論する。

表 2. 次世代シーケンサーによる変動遺伝子の抽出

Differentially expressed genes (DEGs) were predicted using the DESeq2 package on R statistical software ($p < 0.01$).			
	Total	10%Sucrose > No Sucrose	10%Sucrose < No Sucrose
DEGs in Liver	355	125	230
DEGs in WAT	551	233	318

4. 研究結果

4-1. 飼料中における炭水化物構成比の違いは糖代謝に影響を与える

6週齢 C57BL/6N 雄性マウスに対して炭水化物構成比の異なる飼料を給餌し, 2週間後に経口糖負荷試験を実施した。糖負荷試験の結果, 負荷後 15min の血糖値において有意に NS 群が低値を示した (10% Sucrose : 417.81 ± 14.04 , NS 群 : 366.375 ± 16.34 , P -value = 0.036)。一方で 120minAUC に関しては両群間で有意な差異は認められなかった (10% Sucrose : 28095.94 ± 1007.92 , NS 群 : 27030.0 ± 1211.10 , P -value = 0.5290) (図 2 参照)。次に同様の給餌条件を 6週間継続し, 経口糖負荷試験を実施した結果, 負荷後 120min の血糖値において有意に NS 群が低値を示した (10% Sucrose : 232.00 ± 20.96 , NS 群 : 170.25 ± 10.83 , P -value = 0.0398)。

また 120minAUC に関しては両群間で有意な差異は認められなかった (10% Sucrose : 39348.75 ± 4718.35 , NS 群 : 29428.13 ± 1854.09 , P -value = 0.0981) (図 3 参照)。試験期間中 (2週間摂取, 6週間摂取) における摂取エネルギー量は両群間で有意な差異は認めなかったが (2週間摂取 ; 10% Sucrose : 200.895 ± 4.014 , NS 群 : 192.760 ± 5.805 , P -value = 0.258, 6週間摂取 ; 10% Sucrose : 701.428 ± 14.234 , NS 群 : 666.624 ± 22.036 , P -value = 0.2329), 体重増加量は NS 群で有意に抑制されていた (2週間摂取 ; 10% Sucrose : 3.60 ± 0.164 , NS 群 : 2.96 ± 0.279 , P -value = 0.0462, 6週間摂取 ; 10% Sucrose : 12.37 ± 0.4338 , NS 群 : 8.22 ± 0.3999 , P -value < 0.001) (図 4 参照)。以上の結果より, 飼料中における炭水化物構成比の違う飼料の継続摂取は体重増加量及び糖代謝に影響を与えることを認めた。

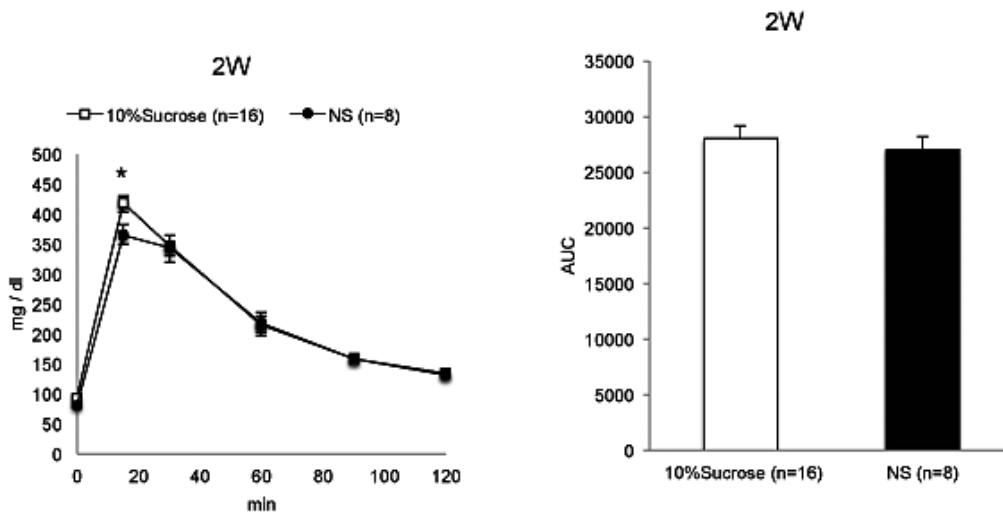


図 2. Results of glucose tolerance test 2 weeks after initial of food intake.

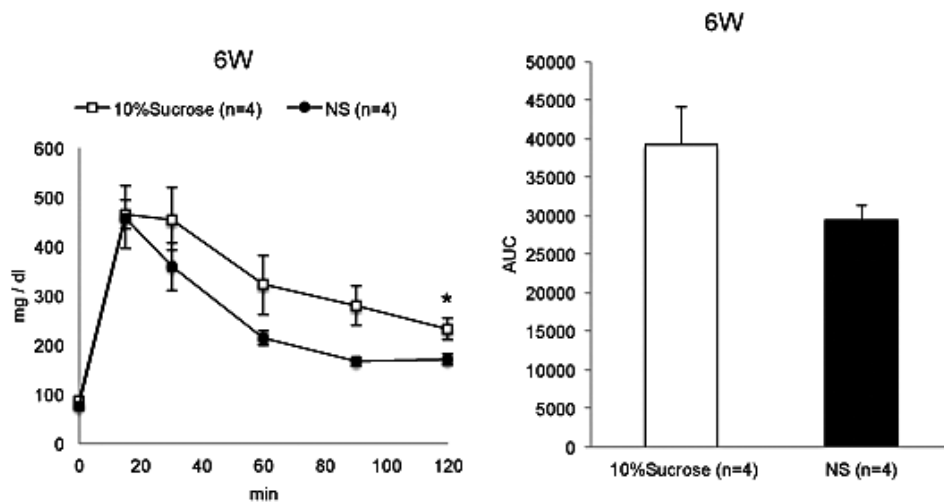


図 3. Results of glucose tolerance test 6 weeks after initial of food intake.

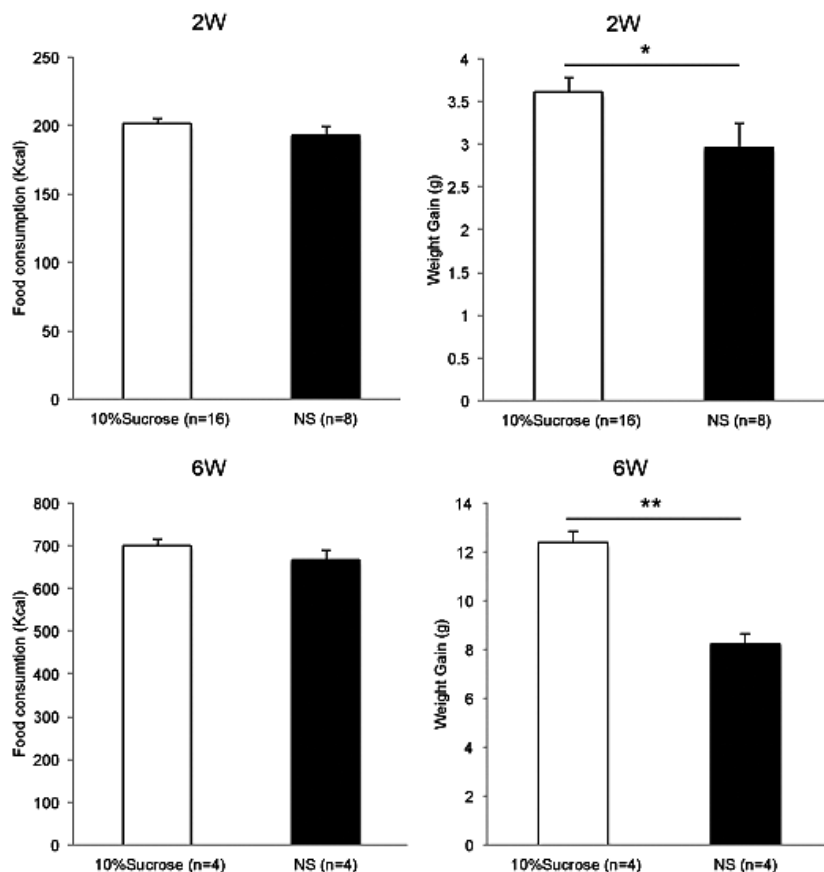


図 4. Total energy intake and weight gain.

4-2. 飼料中における炭水化物構成比の違う飼料の摂取はエネルギー代謝及び活動量に影響を及ぼさないが長期摂取はエネルギー消費量に影響を及ぼす

次に炭水化物構成比の異なる飼料摂取のエネルギー代謝への影響を確認するため呼気ガス分析を用いた検討を実施した。呼気ガス分析は実験動物の呼気中の酸素消費量及び二酸化炭素排出量を経時的に測定することで身体活動において積極的もしくは優位に利用(酸化)されているエネルギー源(炭水化物源または脂質源)の推測や経時的なエネルギー消費量の推定が可能な間接熱量測定法である。また呼気ガス分析と同時に経時的活動量についても計測を実施した。試験期間は炭水化物構成比の異なる飼料の摂取開始より2日間に渡って計測を実施した。呼気ガス分析は摂取飼料の摂取量摂取タイミングが大きく結果に影響するため、まずは使用する飼料間での経時的な摂取量推移を確認した。結果、炭水化物構成比の異なる2つの飼料間で摂取量の摂取タイミングに影響は認められなかった(図5参照)。呼気ガス分析は摂取開始2日間の早期応答試験及び、継続摂取5週間の継続摂取試験の2試験(Short term response experiment)及びLong term response experiment)を実施した。呼気ガス分析は図6に示すス

ケジュールに従って実施した。早期応答試験及び継続摂取試験において、炭水化物構成比の異なる2つの飼料間でRQ, エネルギー消費量, 活動量には有意な差異は認められなかった(図7, 8参照)。また継続摂取5週間と摂取開始2日間の比較において、明期活動期におけるRQに有意な差異は認めなかったが、5Wで10% Sucrose 摂取群, NS 摂取群どちらも有意に夜間活動期におけるRQが有意に低値を示した(2日摂取10% Sucrose (2DS): 0.930 ± 0.007 , 2日摂取No_Sucrose (2DNS): 0.931 ± 0.003 , 5週間摂取10% Sucrose (5WS): 0.881 ± 0.009 , 5週間摂取No_Sucrose (5WNS): 0.882 ± 0.005 , Tukey's HSD test *p*-value: 2DS-2DNS; 0.999, 5WNS-2DNS; < 0.001 , 5WS-2DNS; < 0.001 , 5WNS-2DS; < 0.001 , 5WS-2DS; < 0.001 , 5WS-5WNS; 0.941)(図9参照)。

またエネルギー消費量においては5W10% Sucrose 摂取群で2D10% Sucrose 摂取群, NS 摂取群より有意に低値を示したが5WNS群は2D10% Sucrose 摂取群, NS 摂取群と有意な差異は認められなかった(2日摂取10% Sucrose (2DS): 354.666 ± 8.211 , 2日摂取No_Sucrose (2DNS): 351.484 ± 7.139 , 5週間摂取10% Sucrose (5WS): 322.309 ± 11.902 , 5週間摂取

No_Sucrose (5WNS) : 326.099 ± 4.541 , Tukey's HSD test *p*-value : 2DS-2DNS; 0.989, 5WNS-2DNS; 0.295, 5WS-2DNS; 0.012, 5WNS-2DS; 0.211, 5WS-2DS; 0.007, 5WS-5WNS; 0.586)(図 10 参照). 以上の結果より飼料中における炭水化物構成比の違う飼料の摂取は短期間の早期応答及び長期摂取でのエネルギー代

謝, RQ 及び活動量に大きく影響を及ぼさないことを確認した. 一方で5週間長期摂取の RQ は2週間短期摂取との比較で時間経過に伴い有意に低値を示すが, エネルギー消費量に関しては10%スクロース食の長期摂取のみ短期摂取との比較において低値を示すことを確認した.

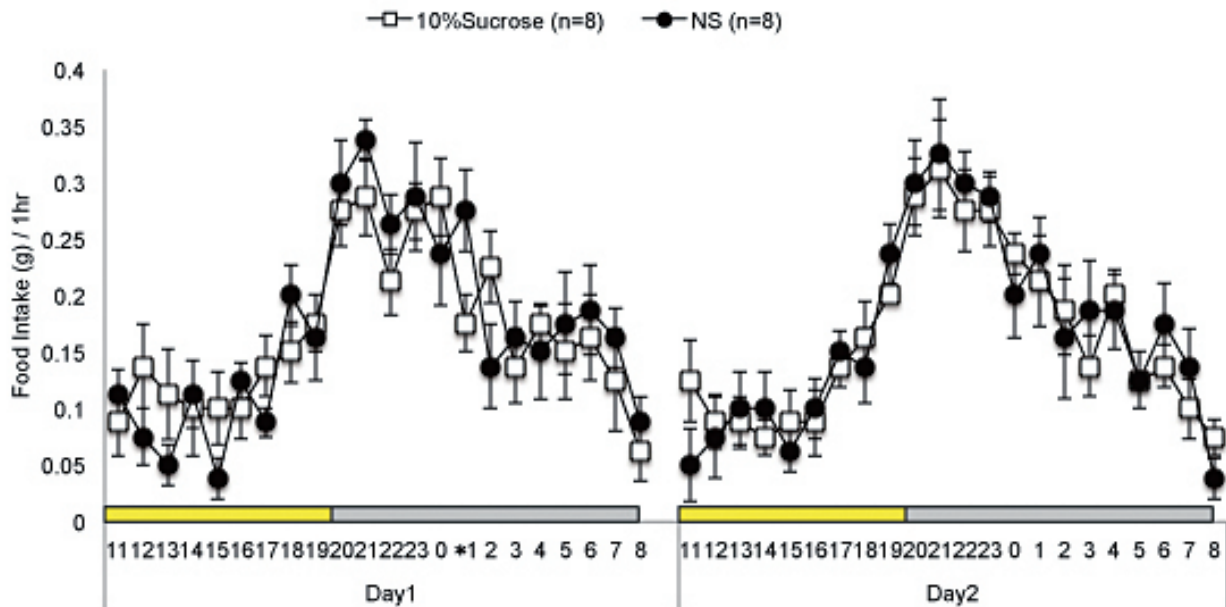


図 5. Changes in food intake over time between experiment foods.

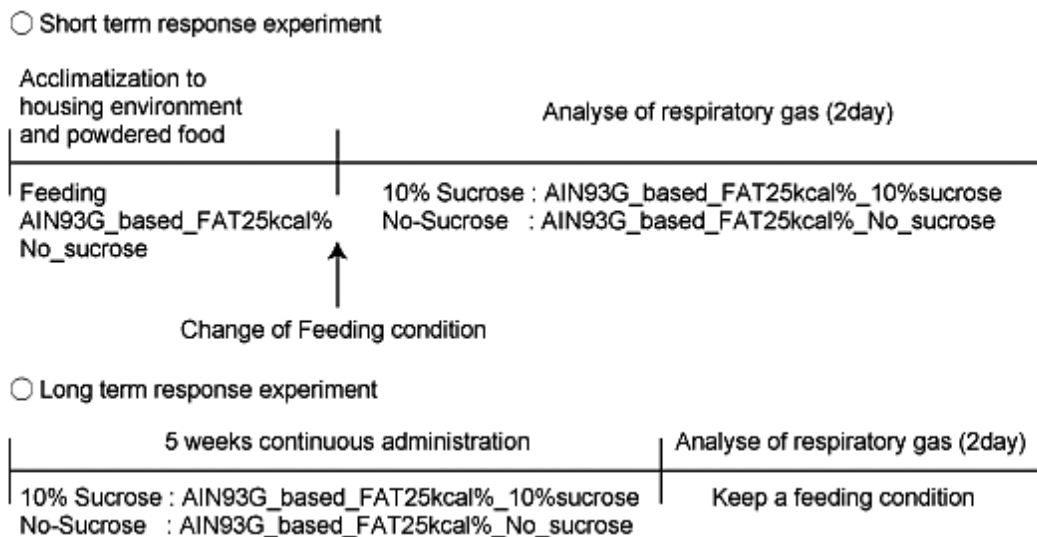


図 6. Scheme of respiratory gas analysis experiment.



図 7. Result of respiratory gas analysis in a short term response experiment.

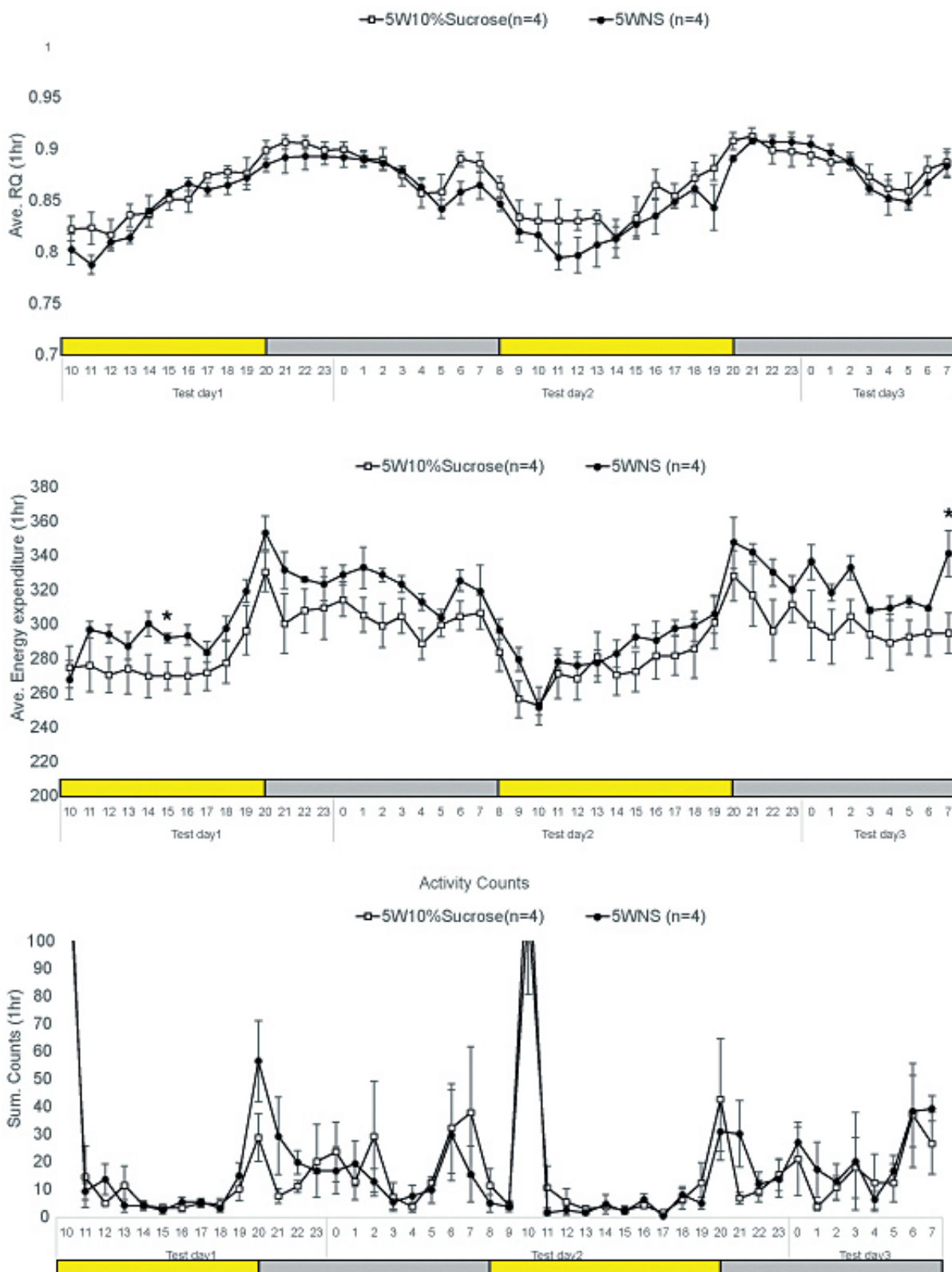


図 8. Result of respiratory gas analysis in a Long term response experiment.

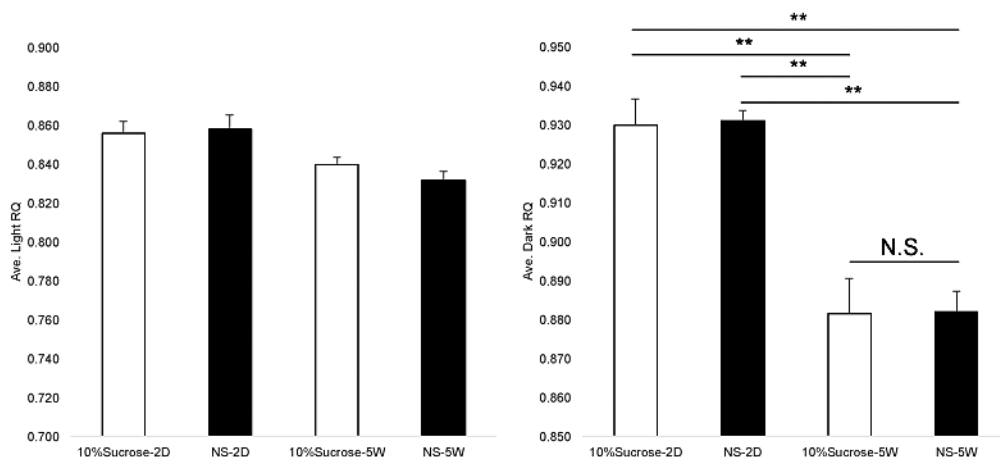


図 9. Average of RQ value in intake period and activity cycle.

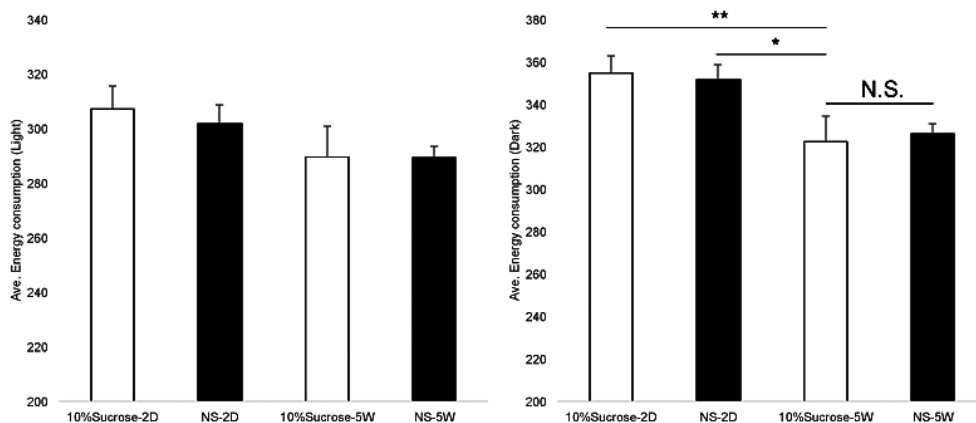


図 10. Average of energy expenditure value in intake period and activity cycle.

4-3. 飼料中における炭水化物構成比の違う飼料の短期間摂取は代謝臓器での遺伝子発現を変動させる

飼料中における炭水化物構成比の違う飼料を2日間摂取させた個体の肝臓及び精巣周囲脂肪組織における遺伝子発現への影響について次世代シーケンサーを用いて解析を実施した。Fastqデータより各遺伝子カウントデータを抽出し、正規化後にクラスター解析及びPCA解析を行なった結果、肝臓、脂肪組織共に10%Sucrose摂取群、no Sucrose摂取群の2群に緩やかにクラスタリングされ、no Sucrose摂取群でより10%Sucrose摂取群と比較し個体間diversityが増加する傾向を認めた(図11参照)。次に変動遺伝子を各臓器で抽出した結果、肝臓組織で355個(10% Sucrose摂取群 > no Sucrose摂取群: 230個)、脂肪組織で551個(10% Sucrose摂取群 > no Sucrose摂取群: 233個、10% Sucrose摂取群 < no Sucrose摂取群: 318個)の有意な変動遺伝子を認めた(表2参照)。またこれら変動遺伝子に関して臓器間で

共通して変動する遺伝子も複数確認された(図12参照)。これら得られた変動遺伝子に関してgene ontologyに基づくgene functional enrichment analysisによる機能分類(生物学的プロセス)を実施し、GO annotation解析(Level 2)を行なった結果、両組織での変動遺伝子の多くはCatalytic Activity(酵素活性調節)及びBinding(Ligand調節)に分類された。また肝臓及び脂肪組織それぞれにおいて10% Sucrose群で発現上昇、No Sucrose群で発現上昇した変動遺伝子に分け同様の解析を行なった結果、脂肪組織でCatalytic Activityに分類された変動遺伝子の割合が10% Sucrose群で多く確認された(図13参照)。次にFDR corrected p-value < 0.01となるGene ontology (GO)termについて上位20個を抽出した結果、肝臓、脂肪組織共に代謝調整に関連するtermが多く確認された(図14参照)。またQIAGEN Ingenuity Pathway Analysis (QIAGEN IPA)を用いた臓器間クロストーク上流因子解析を行なった結果、肝臓、脂肪組織での共通の上流因子を複数確認した(図15参照)。またパ

スウェーデン解析を実施した結果、肝臓で確認された変動遺伝子と臓器障害、代謝疾患、脂質合成への関連が認められた(図16参照)。また脂肪組織の変動遺伝子においては myeloid cell recruitment に関連することが推測された

(図17参照)。以上の結果より、飼料中における炭水化物構成比の違う飼料の短期間摂取は代謝臓器での遺伝子発現を変動させることを確認した。

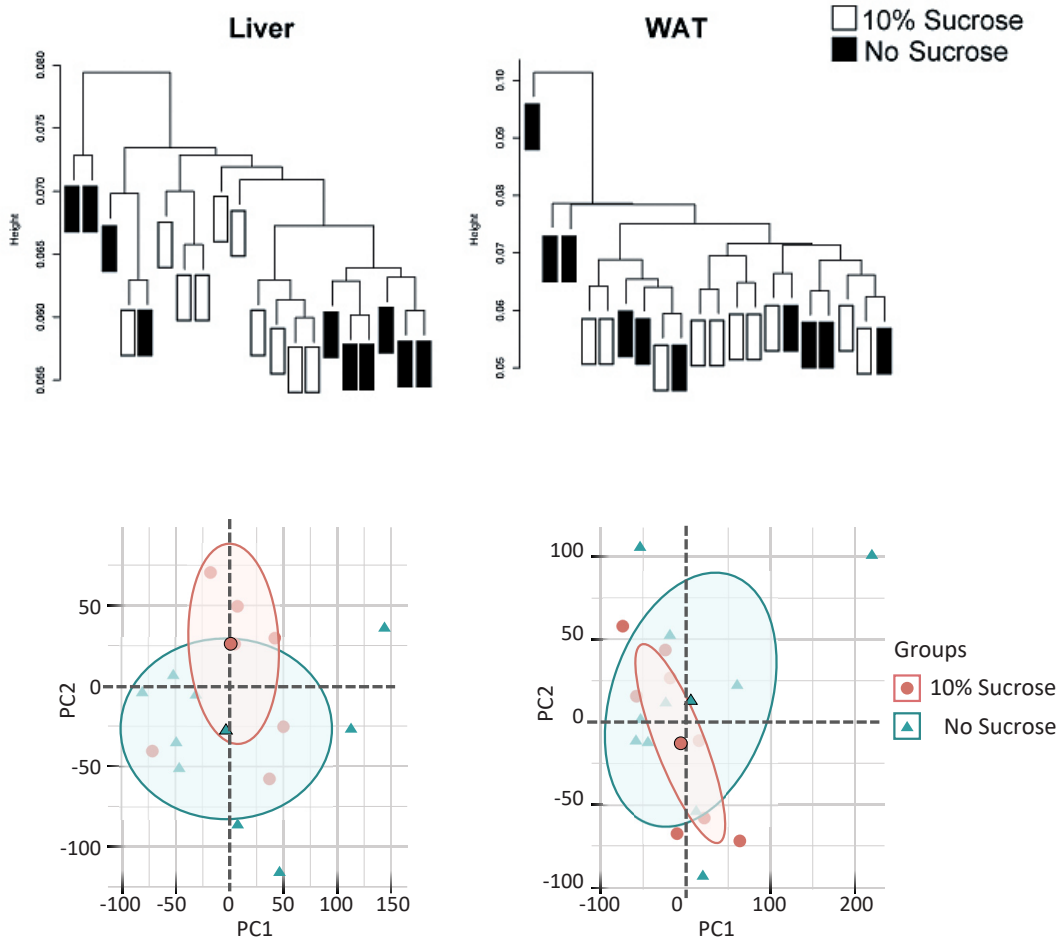


図 11. Clusters and PCA analysis by differentially expressed genes in liver and adipose tissue (WAT)

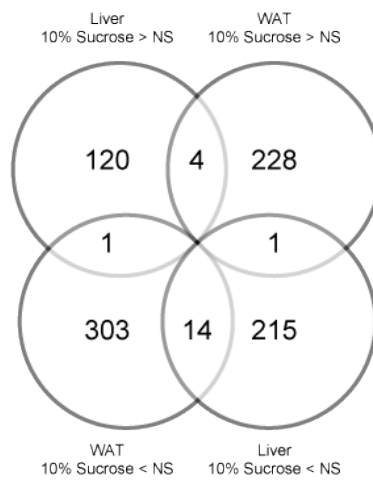


図 12. Venn diagram by differentially expressed genes in liver and adipose tissue (WAT).

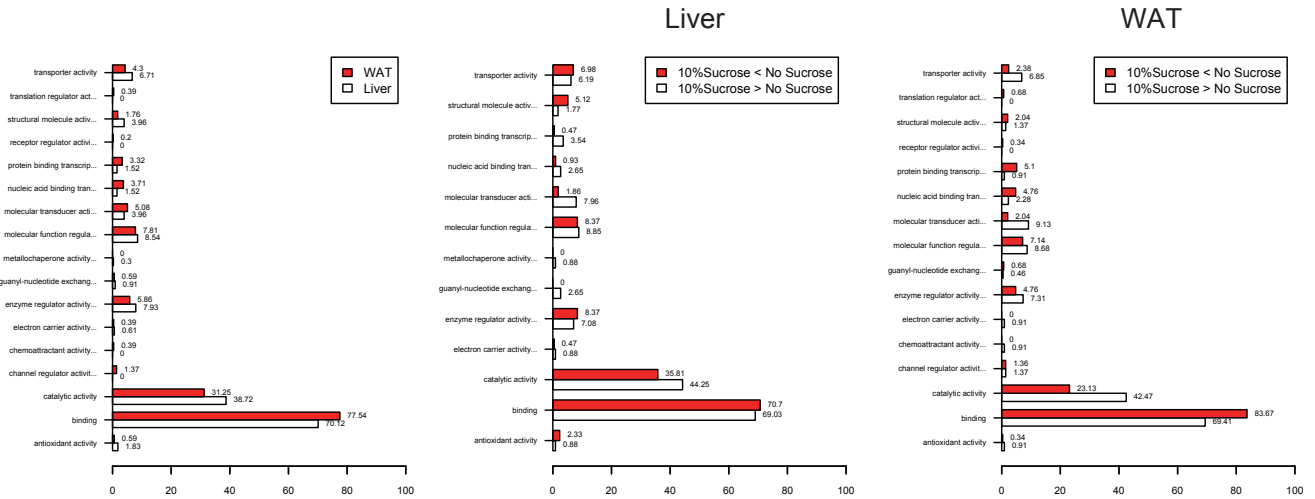


図 13. Molecular function Go annotations analysis (Level 2) using DEG in each tissue.

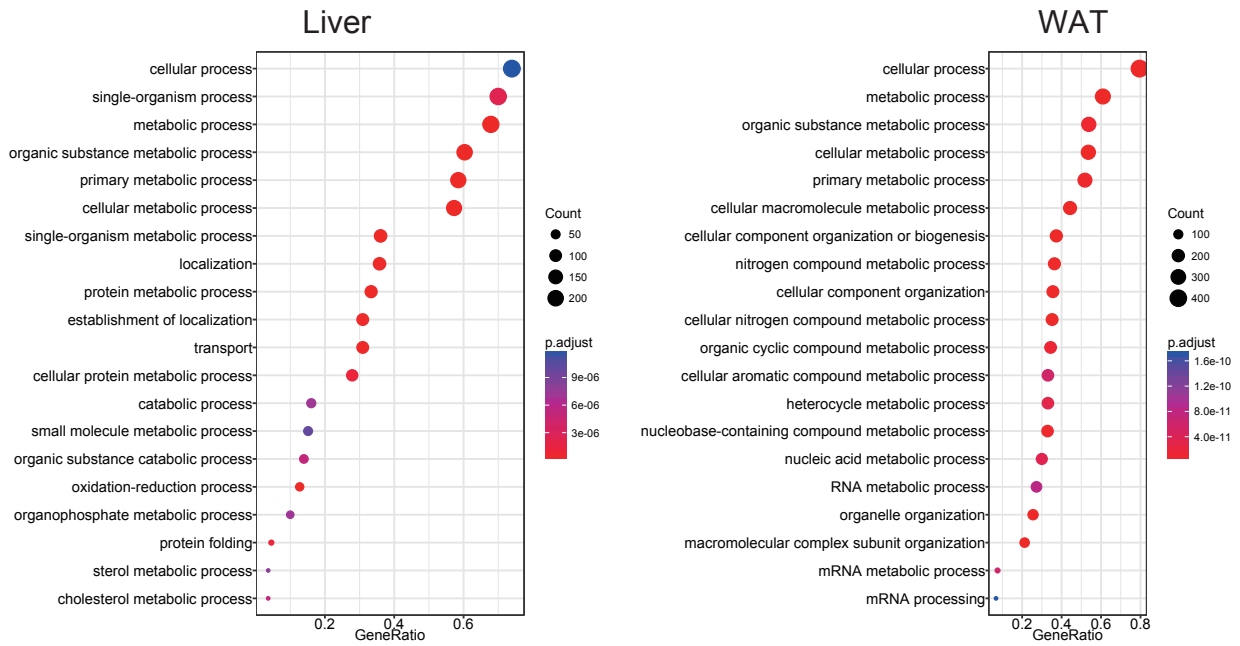
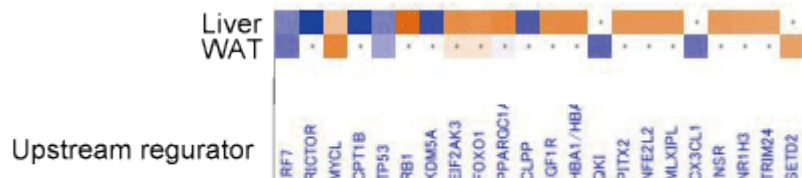
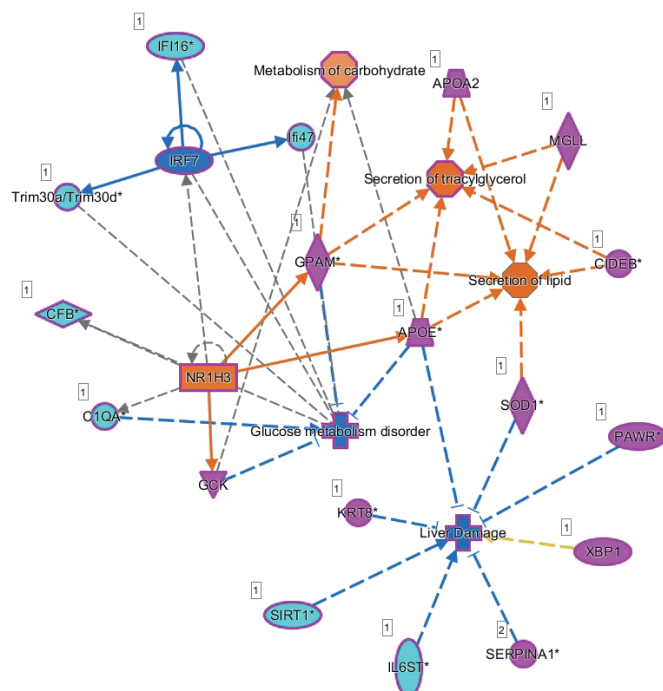


図 14. Gene ontology analysis (FDR < 0.01) using DEG in each tissue.



Blue : Predicted activation in 10% Sucrose group
 Orange : Predicted activation in NS group

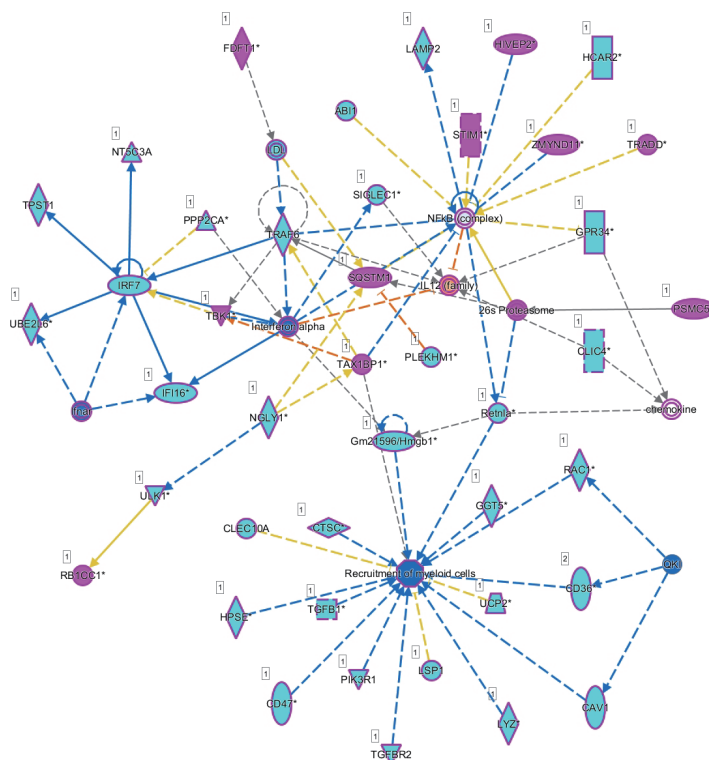
図 15. Inter-organ crosstalk upstream analysis by IPA.



Cool color pattern : 10% Sucrose > No Sucrose

Warm color pattern : 10% Sucrose < No Sucrose

図 16. Pathway analysis using liver DEGs.



Cool color pattern : 10% Sucrose > No Sucrose

Warm color pattern : 10% Sucrose < No Sucrose

図 17. Pathway analysis using WAT DEGs.

5. 研究から得た結論・考察

近年、レジスタントスターチに代表される難消化でんぷんのような機能が報告されている(インスリン抑制効果, 骨代謝や脳機能など)^{1, 2, 3}。一方でコメなど一般穀物に多く含まれる消化性でんぷんについての機能性研究の知見は未だ乏しい。今回の研究において飼料中における炭水化物構成比がわずかに違う飼料(10% Sucrose vs No Sucrose)の摂取により糖代謝に影響を及ぼす結果が得られた。また2日間という短期摂取で代謝臓器中の遺伝子発現様式にまで影響を及ぼすことを確認した。この結果より消化性でんぷんであるスターチのみを炭水化物源とする飼料の摂取は代謝機能に対して機能性を有する可能性が示唆された。これまで消化性でんぷんを多く含む“コメ”の摂取と2型糖尿病などの生活習慣病罹患に相関関係が認められるという報告があることから多糖類摂取は増悪因子として捉えられ^{4, 5, 6}、近年では古来よりコメを主食としてきた日本人においても忌避される傾向がある。しかしながら今回の結果においては少糖類を含まない飼料(炭水化物源は多糖類である消化性でんぷんのみ)摂取が少糖類を含む飼料の摂取よりも糖負荷試験において血糖上昇が緩やかであり、また長期摂取により糖負荷後の血糖降下作用を有する傾向が示唆された。呼気ガス分析を用いた代謝機能への早期応答についての検討ではこれら飼料間で有意に変動する測定項目は認められなかったが少糖類を含む飼料の長期摂取において経時的にエネルギー消費量の減少が確認された。今回の試験においては試験期間を通して摂取エネルギー量、摂餌量に両試験食間で差異を認めなかった。また今回使用した飼料は現代食の脂肪摂取に近似するように油脂成分として摂取エネルギーの25%になるように調整されている。高脂肪摂取によってエネルギー消費量が低下することは知られており⁷、このことから炭水化物源として多糖類である消化性でんぷんのみで構成される中脂肪飼料の長期摂取はエネルギー消費量の低下を抑制する可能性が示唆された。また非常に興味深いことに試験食摂取の2日後の代謝臓器において多くの変動遺伝子が確認された。肝臓に関してはこれら変動遺伝子の発現の方向性より炭水化物源として多糖類のみで構成された飼料の摂取により、糖代謝疾患、肝臓障害の抑制、炭水化物代謝、脂質合成の亢進が予想される結果を得た。従って、継続的な摂取による緩やかな血糖上昇効果などの糖代謝への影響は摂取早期における肝臓の遺伝子発現の変動も要因の1つであることが示唆された。また脂肪に関しては骨髄系細胞のrecruitmentの抑制が予想される結果を得た。高脂肪食の摂取により種々のサイトカインにより活性化されたM1マクロファージのrecruitmentが誘導され、結果として脂肪組織の慢性的な炎症が引き起こされるとされることは知られている^{8, 9}。今回使用した試験食も通常の精製飼料と比較し脂肪含有量の高い中脂肪食であること

から摂取に伴ってマクロファージのrecruitmentが誘導される可能性も考えられる。脂肪細胞での遺伝子発現解析の結果得られた変動遺伝子の発現方向性より骨髄系細胞のrecruitmentの抑制が炭水化物源として多糖類のみで構成された飼料の摂取で予想されていることから、消化性でんぷん摂取は少糖類含有飼料摂取よりも脂肪細胞における中脂肪食負荷による炎症惹起を抑制する機能を有する可能性が示唆された。以上のことから炭水化物源として多糖類である消化性でんぷんのみで構成される中脂肪飼料の摂取は少糖類を含む中脂肪食摂取と比較し、中脂肪食による影響を緩和する可能性があることを示唆した。今回の試験食のような極端な例は現実的であるとはいえず、10% Sucrose食として使用した飼料が我々にとって一般的である。しかしながら消化性でんぷんのみ摂取によって糖代謝等の代謝機能に負の影響を及ぼさないことから、病的状況を除いては必要以上にコメなどの炭水化物源を忌避する必要はないように考えられる。摂取炭水化物の『質的』な問題ではなく『量的』問題を考慮することで食の選択肢を広げ、より良い食生活の充実が図れるのではないかと考えられる。

6. 残された問題、今後の課題

今回の研究計画において飼料中における炭水化物構成比の違う飼料の長期間投与に関しては実験個体数を十分に確保することができなかった。またqPCRによって長期間投与群の肝臓での遺伝子発現(主に糖新生、解糖系、脂質合成系)をいくつか検討したが変化の傾向が見られる遺伝子も複数存在したが、確認した遺伝子全てにおいて個体差も大きく個体数が少ないことから有意な差異を認めることはできなかった。今回、短期間の摂取による影響については網羅的に検討することができているので今後は炭水化物構成比の違う飼料の長期摂取による影響についての検討が必要になることが予想される。

7. 謝辞

本研究を遂行するにあたって、多大なるご支援を賜りました(公財)東洋食品研究所ご関係者並びに選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます。また研究を遂行するにあたりまして研究環境、設備を与えていただきましました神奈川県立産業技術総合研究所、東京大学大学院農学生命科学研究科阿部啓子特任教授また共同研究者の皆様にも深く感謝いたします。

8. 参考文献

- 1 Laure B Bindels. *et al.* Resistant starch can improve insulin sensitivity independently of the

- gut microbiota. *Microbiome*. 2017, **7**;5(1):12. doi: 10.1186/s40168-017-0230-5.
- 2 Yuko Tousen. *et al.* Resistant Starch Attenuates Bone Loss in Ovariectomised Mice by Regulating the Intestinal Microbiota and Bone-Marrow Inflammation. *Nutrients*. 2019, **30**;11(2):297. doi: 10.3390/nu11020297.
 - 3 Mark Lyte. *et al.* Resistant Starch Alters the Microbiota-Gut Brain Axis: Implications for Dietary Modulation of Behavior. *PLoS One*. 2016, **8**;11(1):e0146406. doi: 10.1371/journal.pone.0146406. eCollection.
 - 4 Akiko Nanri. *et al.* Rice intake and type 2 diabetes in Japanese men and women: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010, **92**(6):1468-77. doi: 10.3945/ajcn.2010.29512.
 - 5 Qi Sun. *et al.* White rice, brown rice, and risk of type 2 diabetes in US men and women. *Arch. Intern. Med.* 2010, **14**;170(11):961-9.
 - 6 Raquel Villegas. *et al.* Prospective study of dietary carbohydrates, glycemic index, glycemic load, and incidence of type 2 diabetes mellitus in middle-aged Chinese women. *Arch. Intern. Med.* 2007, **167**(21):2310-6. doi: 10.1001/archinte.167.21.2310.
 - 7 Myung-Sook Choi. *et al.* High-fat diet decreases energy expenditure and expression of genes controlling lipid metabolism, mitochondrial function and skeletal system development in the adipose tissue, along with increased expression of extracellular matrix remodelling- and inflammation-related genes. *Br. J. Nutr.* 2015, **113**(6):867-77. doi: 10.1017/S0007114515000100.
 - 8 Justin I Odegaard, Ajay Chawla. Alternative macrophage activation and metabolism. *Annu. Rev. Pathol.* 2011, **6**:275-97. doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130138.
 - 9 Pu-Ste Liu. *et al.* Reducing RIP140 expression in macrophage alters ATM infiltration, facilitates white adipose tissue browning, and prevents high-fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes*. 2014, **63**(12):4021-31. doi: 10.2337/db14-0619.