

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	五十嵐 佑一
論文審査担当者	主査 田中 直樹 副査 竹下 敏一 ・ 増木 静江
論文題目 Glavonoid-rich oil supplementation reduces stearyl-coenzyme A desaturase 1 expression and improves systemic metabolism in diabetic, obese KK- <i>A^y</i> mice (グラボノイドリッチオイルはステアロイル-コエンザイム A 不飽和化酵素 1 の発現を減少させ、糖尿病・肥満モデル KK- <i>A^y</i> マウスの全身的代謝を改善する)	
<p>【背景・目的】 肥満とは体脂肪が過剰に蓄積した状態を指し、世界中で有病者数が増加し続けている。肥満は多様な代謝性疾患の危険因子であり、中でも近年深刻な健康問題として認識されるインスリン抵抗性や2型糖尿病とは密接に関係する。Glavonoid Rich Oil (GRO) は甘草 (<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linne) 根由来の親油性抽出物であり、グラブリジンを含むポリフェノール類の混合物を含む。これまでに高脂肪食と同時に摂取させた場合に体重増加や白色脂肪組織重量の増加の抑制効果、血糖値の増加の抑制など健康増進効果があると報告されてきた。一方で既報では投与期間が短期間であることから一時的な効果である可能性を棄却できず、健康増進効果のメカニズムは未解明である。よって本研究では12週間という比較的長期間にわたる GRO 摂取の健康増進効果とその分子的メカニズムの解明を目的とした。</p> <p>【方法】 肥満・糖尿病モデルである KK-<i>A^y</i> マウスの雌 8 週齢に対し 4, 8, 12 週間の間、通常飼料 CE-2 または CE-2 に対し重量比 0.3%、0.8% の GRO を含む餌を供与した。マウスは 12, 16, 20 週齢にて 5 匹ずつセボフルラン吸気麻酔による安楽死を行い解剖した。耐糖能の評価として体重比 1g/kg の腹腔内グルコース投与試験を行い、尾静脈血から血糖値推移を測定した。GRO の脂質・糖代謝に対する効果は、RNA シーケンスや定量 PCR、ウェスタンブロッティングを用いた生理学的または分子生物学的マーカーを測定し解析した。</p> <p>【結果】 通常飼料を与えられたマウス(Cont)と比較して 0.8%GRO 含有飼料を与えられたマウス(GRO8)は体重および鼠蹊部白色脂肪組織重量の増加が継続的に抑制された。20 週齢では、白色脂肪組織における肥大した脂肪細胞数の減少や間質血管領域の浸潤細胞の減少が認められ、肝臓では肥満に伴う脂肪滴が減少する傾向が観察された。また、総コレステロールや中性脂肪量といった血中脂質指標が、12, 16, 20 週齢のいずれにおいても減少した。腹腔内ブドウ糖負荷試験においても、12, 16, 20 週齢のいずれにおいても GRO8 で耐糖能の改善が認められた。これらの結果から、GRO の KK-<i>A^y</i> マウスに対する健康増進効果が肝臓や白色脂肪組織における脂質・糖代謝の改善によるものと考察し、20 週齢の肝臓を用いてトランスクリプトーム解析 (RNA シーケンス) により分子メカニズムの解析を行った。GRO 摂取によって 65 個の遺伝子の発現量が有意に変動し、Gene Ontology に基づく機能集積解析から脂肪酸代謝プロセスなどの脂質代謝に関係する遺伝子群の集積が認められた。特に、脂肪酸合成系の酵素である Stearyl-coenzyme A desaturase 1 (<i>Scd1</i>) は、定量 PCR において Cont と比較して GRO8 では遺伝子発現レベルが 20% まで減少した。ウェスタンブロット法によってタンパク質発現レベルでも <i>SCD1</i> の減少を認め、更に <i>Scd1</i> の転写因子である Peroxisome proliferator-activated receptor α (<i>PPARα</i> / <i>Ppara</i>)、ならびに <i>SCD1</i> を含む脂質合成系酵素の発現を抑制する Adenosine monophosphate protein kinase (AMPK) のリン酸化の増加が認められた。また、Gene Ontology に基づく機能集積解析では糖代謝に関わる遺伝子群の集積は認められなかったが、肝臓での定量 PCR では解糖系抑制遺伝子 Pyruvate dehydrogenase kinase 4 (<i>Pdk4</i>) および糖新生律速酵素遺伝子 Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (<i>Pck1</i>) の発現量が減少した。一方で、白色脂肪組織では Fatty acid synthetase (<i>Fasn</i>) と炎症性サイトカインである Interleukin 6 (<i>Il6</i>) の遺伝子発現レベルが減少した。以上の結果から、GRO は肝臓および白色脂肪組織における脂肪酸合成系の抑制、ならびに肝臓における解糖系の亢進と糖新生の抑制によって、KK-<i>A^y</i> マウスにおける肥満形質と耐糖能異常を改善することが示された。</p> <p>【考察・結論】 これまで、GRO の健康増進効果は現象論としての理解にとどまっていた。本研究は過食による肥満・糖尿病マウスに対する長期投与の観察結果に基づき、網羅的な遺伝子変動解析を駆逐することで、その分子経路を明らかとした。特に、肝臓における <i>Scd1</i> の発現低下に伴う代謝機能の改善効果は、<i>Scd1</i> ノックアウトマウスにおける糖新生の減少や AMPK 活性化の報告と合致し、GRO の健康増進作用の基盤に位置すると考える。本研究成果は、GRO が肥満にまつわる代謝性疾患の予防に寄与するメカニズムの解明に新たな知見を与え、GRO が抗肥満作用を示すサプリメントとして新たな治療戦略となり得る可能性を示すものである。</p>	