

審査の結果の要旨

氏名 小野 知二

メタボリックシンドロームは、内臓脂肪型肥満に高血糖・高血圧・脂質異常のうち2つ以上を合併した状態を指し、その発症を予防することは国民の健康を考える上で非常に重要である。一方、ラクトフェリン(以下LF)は乳中に含まれる多機能性タンパク質であり、鉄分補給、抗菌作用、LPS不活性化作用、抗ウイルス作用、免疫賦活作用、抗酸化作用、抗炎症作用、がん予防作用など、様々な機能を持つことが報告されている。LFは乳中に存在し乳幼児が摂取することから安全性が非常に高いと考えられており、わが国でも食品添加物に認定されている。申請者らは以前、LFによる歯周病原菌由来LPS不活性化作用の研究の過程において、LFがマウスの内臓脂肪を低減するという現象を発見した。しかしながら胃の消化酵素であるペプシンで分解したLFはその活性が消失することも明らかとなった。LF腸溶錠(胃で崩壊せずに小腸で崩壊する錠剤)を用いたヒト試験でも内臓脂肪低減作用が見られたが、社内のオープン試験でありプラセボ効果を排除できていない可能性が否定できなかった。

序論に続き、第1章では腸溶性LFの有効性を証明するため、外部の臨床試験機関による二重盲検群間比較試験を実施した結果を述べている。肥満傾向の日本人男女(BMI 25 kg/m²以上、内臓脂肪面積が被験者平均値として100 cm²以上)に対して、LF群及びLFの代わりに乳糖を配合した群(プラセボ群)の2群(各群n=13)を設定し、1日に300 mg、8週間摂取させた。被験者背景については測定したいずれの項目についても両群間に統計的な有意差は認められなかった。また試験期間中の、試験食品の摂取率、運動量、エネルギー摂取量なども両群間で有意差は認められなかった。身体計測の結果では、LFを8週間摂取することによりプラセボ群と比較して、体重、BMI、腹囲、臀部囲はそれぞれ2.5 kg、0.9 kg/m²、3.5 cm、2.4 cm減少し、有意差あるいは有意傾向が認められた。CTによる腹部脂肪面積測定結果では、プラセボ群と比較してLF群において内臓脂肪面積は12.8 cm²減少し有意差が認められた。一方、皮下脂肪面積、全体脂肪面積ではプラセボ群と比較してLF群において有意な減少が認められなかったことから、腸溶性LFの体脂肪低減効果は内臓脂肪に特徴的に作用することが示唆された。血液検査の結果では、測定したいずれの項目においても、プラセボ群と比較してLF群において有意な変動は認められなかった。また、本

試験において有害事象は認められなかった。以上の結果から腸溶性 LF の内臓脂肪低減効果が確認された。

第 2 章では、腸溶性 LF の内臓脂肪低減効果の作用機序について検討した。第 2 章第 1 節では、LF の体内動態について検討を行った。ラットに LF を強制胃内投与し、小腸内容物、血液、肝臓、腸間膜脂肪中の LF を解析した結果、未分解の LF が一部小腸に到達していることを SDS-PAGE にて確認した。また、ELISA にて、血液、肝臓、腸間膜脂肪中の LF 量を解析した結果、血液、肝臓ではほとんど検出されず、腸間膜脂肪に局在していることを明らかにした。第 2 章第 2 節では、先に見出している脂肪細胞に対する LF の脂肪合成抑制作用メカニズムを検討した。まず、ラット腸間膜より単離した前駆脂肪細胞を分化誘導させた系を用いて、LF (300 μ g/ml) 添加後 4 時間、1 日、3 日、5 日後のサンプルにおいて DNA マイクロアレイ解析を行った。その結果 LF が脂肪合成に関与する酵素群の遺伝子発現を抑制するのみならず、PPAR γ などの脂肪細胞の分化調節因子の発現を抑制することを見出した。一方、成熟脂肪細胞を用いて、脂肪の分解過程に対する LF の作用を検討した結果、LF が脂肪分解促進作用をも有することを新たに見出した。本実験系においても DNA マイクロアレイ解析を実施した結果、脂肪滴の周囲に存在しリパーゼによる分解を防御するペリリピンの遺伝子発現量が LF により減少し、また脂肪分解に重要な経路である cAMP シグナリングパスウェイに関連する遺伝子発現量の変動も認められた。さらに脂肪細胞内の cAMP 濃度を測定したところ、LF による増加が観察された。以上の結果から、経口摂取した腸溶性 LF は、胃で分解されずに小腸で吸収され、短時間のうちに内臓脂肪まで到達し、脂肪の合成抑制と分解促進の両作用により、内臓脂肪を低減することが推察された。

最後に総合討論および将来展望を述べて本論文を総括している。

以上本論文は、内臓脂肪低減効果を有する新たな食品素材である LF について、そのヒトでの効果を実証し、さらに作用メカニズムを明らかにしたものである。これらの研究成果は学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。