

## 論文内容の要旨

論文題目 代謝性疾患リスク低減への応用を目指した食品成分の機能解析

氏名 堀場 太郎

健康状態を示す包括的指標のひとつとして考えられる平均寿命は、日本において、感染症の激減と、生活習慣病の増加といった疾病構造の変化を背景として戦後急速に延伸し、世界トップクラスの水準を維持している。平均寿命が延伸する一方で、出生率は低下することで高齢化が進展し、高齢化にともなって発症する疾病、機能障害の増大に対する社会的負担が極めて大きくなってゆくであろうことが懸念されている。このような高齢化に伴う疾病や機能障害による社会的負担を軽減するためには、個人が継続的に生活習慣を改善することで積極的に健康を増進してゆくことが肝要であると考えられ、生活習慣改善の一環として「食」が寄与するところは大きいと考えられる。食の機能性の中でも、健康維持・疾患リスク低減に関わる3次機能は、薬剤に比べて単回での摂取における効果が大きくなくとも、毎日の食事の積み重ねにより機能発現することが期待できることから、これを活用した健康維持・疾患リスクの低減は、上記のような個人の生活習慣・行動変容を介した生活習慣病や高齢化に伴う機能障害の予防・改善策として有力なアプローチの一つとなることが期待される。中でも、脳血管疾患や高血圧性疾患などの生活習慣病や代謝性疾患は推計患者数が多く、要介護となる原因としても大きな割合を占めており、疾患リスクコントロールによる社会的負担軽減を考える上で主要なターゲットとして考える必要がある。

そこで、本研究では、メタボリックシンドローム、ロコモティブシンドロームをはじめとした代謝性疾患リスクのコントロールに関わる食の機能性に着目し、その機能を発揮する食素材として、トマトに含まれるフラボノイドのナリングニンカルコン、ユズ種子に含まれるリモノイドのオバクノン、マンゴスチン果皮に含まれるキサントンの $\alpha$ -マンゴスチンに着目し、それらの機能解析を行うこととした。

### トマト果皮に含まれるナリングニンカルコンによる脂肪細胞代謝プロファイル調節機能

ナリングニンカルコンはトマトの果皮に蓄積が認められるフラボノイド類の一種で、炎症性サ

イトカインの産生抑制作用を示すことが報告されている。脂肪組織における慢性的な炎症が冠動脈性心疾患などの代謝性疾患リスクと密接に関連しているという近年の知見から、ナリングニンカルコンが脂肪組織において上述の炎症性サイトカインを含むアディポサイトカイン分泌調節を介し、その機能を調節している可能性が考えられるが、ナリングニンカルコンが脂肪組織に及ぼす代謝への影響などの詳細は今まで不明であった。そこで、ナリングニンカルコンが脂肪組織の構成単位である脂肪細胞において、アディポサイトカイン分泌を含む代謝制御プロセスに及ぼす影響を明らかとすることを目的として検討を行った。

3T3-L1 前駆脂肪細胞をナリングニンカルコンの存在下で脂肪細胞へと 8 日間分化させたところ、濃度依存的なアディポネクチンの遺伝子発現、分泌の亢進が認められた。レポータージーンアッセイによる検討の結果、ナリングニンカルコンは PPAR $\gamma$  の転写活性を上昇させることによりアディポネクチンの転写を亢進していることが示された。

ナリングニンカルコン存在下で脂肪細胞へと分化させた脂肪細胞と、非存在下で分化させた脂肪細胞をサンプルとした DNA マイクロアレイ解析の結果、ナリングニンカルコンにより、エネルギー代謝に関わっている様々な遺伝子群の発現が一斉に上昇する一方で、細胞接着や発生過程等の機能に関与する遺伝子群の発現低下が認められることが明らかとなった。細胞接着に関連する遺伝子群の発現は、PPAR $\gamma$  の活性化により低下することが報告されていることから、これらの遺伝子発現変動は、ナリングニンカルコンが PPAR $\gamma$  による転写の活性化により脂肪細胞の分化を促進させ、これに伴う細胞の形態変化 (繊維芽細胞から脂肪細胞への変化) がより促進されていることを反映した結果である可能性が考えられた。また、エネルギー代謝に関わる遺伝子群の中でも、酸化的リン酸化に関与する遺伝子群がナリングニンカルコン処理により発現上昇しており、ナリングニンカルコンが、脂肪細胞におけるミトコンドリアの酸化的リン酸化の活性化を介した、インスリン抵抗性改善作用を示す可能性が示唆された。

さらに、DNA マイクロアレイ解析及びリアルタイム定量 RT-PCR の結果から、ナリングニンカルコンはアディポネクチンの遺伝子発現を亢進するのみならず、その受容体である AdipoR2 の発現をも亢進しており、アディポネクチンのオートクライン/パラクライン作用を高めている可能性が示された。

ユズ種子に含まれるオバクノンの肥満、高血糖改善作用

オバクノン はリモノイド類に属する化合物であり、アグリコン、あるいは配糖体の形で柑橘の種子に蓄積することが知られている。リモノイド類は抗ガン、抗マラリア、抗菌作用など多様な生理活性を示すことが報告されているが、オバクノンが代謝性疾患に及ぼす影響について検討した報告はなく、その影響は未知であった。そこで、肥満、2型糖尿病モデル動物である KKAY マウスにユズ種子由来のオバクノンを経口摂取させたときに発揮される機能性に着目して解析を行った。

肥満・2型糖尿病モデル動物である KKAY マウスにコントロール食 (AIN-93G) 及び0.1%オバクノン食を28日間ペアフィードにて摂取させたところ、体重には両群間で有意な差が認められなかったものの、オバクノン摂取群で皮下脂肪及び内臓脂肪組織重量比が有意に低くなっていること、大腿筋及び腓腹筋重量比が有意に高くなっていることが確認された。血中パラメーターでは、オバクノン摂取群で有意な随時血糖値とHbA1cの低下が認められ、こうした変化を反映するかのようにより、インスリンの低値傾向とGLP-1の高値傾向が認められた。さらに、レポーター遺伝子アッセイによる検討の結果、オバクノンはTGR5の転写活性を上昇させること、及び、PPAR $\gamma$ をアンタゴナイズすることが示され、合わせて、オバクノンがPPAR $\gamma$ リガンド存在下における脂肪細胞の分化に伴うトリグリセライド蓄積を抑制することが明らかとなった。これらの結果から、オバクノンは、TGR5の転写活性化を介した糖・脂質代謝改善及び骨格筋重量増加作用と、PPAR $\gamma$ のアンタゴナイズを介した糖・脂質代謝改善作用を発揮している可能性が示唆された。

#### マンゴスチンに含まれる $\alpha$ -マンゴスチンの筋分化促進作用

$\alpha$ -マンゴスチンはキサントン類に属するポリフェノールの一種である。東南アジア原産の熱帯性常緑樹であるマンゴスチンの、特に果皮部に豊富に含まれていることが知られており、抗アポトーシス効果、抗腫瘍効果、抗炎症効果、抗酸化効果など多様な生理活性を示すことが報告されている。しかし、上記以外の生理活性、とりわけ、本研究の対象としている代謝性疾患に関わる機能性についての研究報告はなく、骨格筋に及ぼす影響については不明であった。そこで、 $\alpha$ -マンゴスチンが骨格筋分化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、C2C12細胞が $\alpha$ -マンゴスチン存在下で分化する際の遺伝子発現変動をDNAマイクロアレイにより解析した。

C2C12筋芽細胞を、 $\alpha$ -マンゴスチン5  $\mu$ M存在下で分化誘導し、誘導4日後まで分化させたところ、コントロール群の細胞に比べ、筋管の形成促進が認められ、骨格筋合成のマーカー因子の

一つである Myl2 の発現上昇が認められた。

$\alpha$ -マンゴスチン存在下で分化させた筋管細胞と、非存在下で分化させた筋管細胞をサンプルとした DNA マイクロアレイ解析の結果、筋分化に関与する遺伝子群、骨格筋の構成因子に関わる遺伝子群の発現が  $\alpha$ -マンゴスチン処理により一斉に上昇しており、 $\alpha$ -マンゴスチンによる筋管形成の促進を反映する結果が確認された。一方で、細胞外骨格や接着に関与する遺伝子群の発現は低下しており、骨格筋の分化、及び、それに伴って起こる細胞の形態変化への関わりが大きい遺伝子群が  $\alpha$ -マンゴスチンによる発現制御を受けていることが明らかとなった。発現上昇の認められた遺伝子の中には、ミオスタチンの働きを阻害する titin-cap と follistatin が認められ、リアルタイム定量 PCR によっても  $\alpha$ -マンゴスチンによる発現上昇が確認された。ミオスタチンは骨格筋の成長を負に制御する機能が報告されていることから、 $\alpha$ -マンゴスチンはミオスタチン経路を阻害することにより、骨格筋の合成プロセスを促進し、筋管形成を促している可能性が推察された。

以上、本研究で新たに食の 3 次機能を見出した機能性成分について概観したが、これらの成分を疾病のリスク低減が期待できるように通常の食生活から継続的に摂取することは、全体の栄養バランスや嗜好性など、食に求められる 1 次、2 次機能やコストまでをも鑑みると現実的に難しい点が少なくない。また、ヒトでのエビデンス蓄積は今後の最重要課題の一つであろう。こうした課題の解決に向けて検討を継続することにより、食の 3 次機能を活用した疾病リスク低減が、費用対効果に優れ、より実効性のある選択肢の一つとなることが期待される。