

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 青山 晋也

近年の食生活の乱れや運動不足、高齢化に伴い、メタボリックシンドロームやロコモティブシンドロームが急増している。これらは認知症とともに、「健康寿命の短縮」、「寝たきりや要介護状態」の三大要因であり、その予防・改善は超高齢化社会を迎えた我が国において最重要課題といえる。本研究は、この高齢者の健康に着目し、植物の二次代謝産物であるフラボノイドの生活習慣病および運動器の障害のひとつとして筋萎縮に及ぼす影響とその作用機構を解析したものである。

序論に続き、第一章ではフラボノイドの摂取が生活習慣病モデル動物に及ぼす影響について検討を行っており、第一節では高脂肪食誘導性生活習慣病モデルマウスを用いてフラボノイド摂取の影響を解析している。C57BL/6J マウスに通常食 (10% kcal fat)、高脂肪食 (45% kcal fat) および高脂肪食に各種フラボノイド (0.05%ゲニステイン、0.05%ダイゼイン、0.1%ケルセチン) を添加したものをそれぞれ給餌させた結果、フラボノイドの摂取は、血清 TBARS を有意に減少させ、抗酸化作用が認められるが、肥満や糖代謝・脂質代謝に関しては顕著な効果は認められないことを明らかとした。続いて第二節では、C57BL/6J マウスに通常食 (AIN-93G)、西洋型食 (40% kcal fat、0.15%コレステロール、34%スクロース) およびケルセチンを 0.1%添加した西洋型食を給餌させ、8 週間飼育した結果、ケルセチンの摂取が西洋型食による糖負荷およびピルビン酸負荷後の血糖値上昇を有意に抑制し、耐糖能異常改善や糖新生亢進抑制作用を示すことを明らかとした。DNA マイクロアレイによる肝臓での網羅的遺伝子発現解析により、ケルセチン摂取により解糖系律速酵素 (*Pfkfb*) の発現増加や、糖新生律速酵素 (*Pck2*) の発現低下や p53 の標的遺伝子が多数変動していることが明らかとなった。一方、メタボローム解析の結果より、ケルセチンの摂取はグルタチオン代謝を活性化する傾向にあることを明らかとした。以上の結果より、ケルセチンの摂取による耐糖能異常や糖新生亢進改善作用には解糖系および糖新生経路律速酵素の発現変動、p53 の活性変動および抗酸化作用が関与していると推測している。

第二章ではフラボノイドの摂取が筋萎縮に及ぼす影響を明らかとするため、坐骨神経切除モデルを用いて検討している。Wistar ラットに 0.05%ゲニステインおよび 0.1%ケルセチンを摂取させた結果、坐骨神経切除によるヒラメ筋萎縮を抑制し、筋萎縮時に誘導される *Atrogin1* や *Murfl* の遺伝子発現も抑制することを明らかとした。これら 2 つの遺伝子発現誘導を制御する因子を萎縮ヒラメ筋での網羅的遺伝子発現解析により探索した結果、

ゲニステインでは *Foxo1* が候補因子として挙げられた。また、ゲニステイン摂取によりエストロゲン受容体 (ER) の標的遺伝子が多数変動していることを見出した。一方、ケルセチンの摂取は *Ikkkb* (IKK β) の発現抑制や Akt のリン酸化亢進、抗酸化作用 (血清 TBARS の減少) を示すことが認められ、ケルセチンはこれらの因子を介して筋萎縮抑制作用を示していると推測している。

第二章の結果より、ゲニステイン摂取が萎縮筋でのエストロゲン受容体の標的遺伝子を多く変動させていることが明らかとなった。そこで、第三章ではゲニステインの筋萎縮抑制作用へのエストロゲン受容体の関与について検討している。最初に、ゲニステインの筋萎縮抑制作用がエストロゲン受容体アンタゴニスト (ICI 182, 780) 存在下で消失するかの検討を行ったところ、アンタゴニスト存在下ではゲニステインによるヒラメ筋萎縮の抑制作用は消失し、*Atrogin1* や *Murf1* の発現誘導抑制作用も消失した。次に、筋萎縮に関与しているエストロゲン受容体アイソフォームについて検討を行うため、C57BL/6J マウスに ER アゴニストを皮下投与し、検討を行っている。ER α アゴニスト (PPT; 1 mg/kg b.w./day) の投与は坐骨神経切除による筋萎縮を抑制し、*Atrogin1* や *Murf1*、*Foxo1* の遺伝子発現の誘導を抑制した。一方 ER β アゴニスト (DPN; 1 mg/kg b.w./day) の投与は筋萎縮を抑制しなかった。以上の結果より、ゲニステインは ER α を介して筋萎縮を予防していることを見出した。

以上、本論文は、高齢者の健康維持に着目し、生活習慣病および運動器の障害といった多様な疾患に対するフラボノイドの予防効果、その作用機構の解析をモデル動物を用いて行った研究であり、学術上貢献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。