

学位論文要旨

秋山 隆

メタボリックシンドローム (MetS) は、高血圧、脂質異常症 (高脂血症)、糖尿病等に代表される生活習慣病を引き起こす。MetS を放置することは、虚血性心疾患や脳疾患障害の発症リスクを増大させ、死に至る確率を上昇させる。MetS の原因は、内臓脂肪の過剰な蓄積に起因し、その予防としては、高血圧、脂質異常及び高血糖症状の早期発見と肥満の積極的な解消が重要である。しかし、肥満解消の対策として、適度な運動習慣を確立と脂質及び糖質摂取過多に偏らない食生活の実践と継続が重要であるが、長期間に及んで習慣化している行動を効果的に変容させることは、現代の生活環境やライフスタイルにおいては比較的困難であるとされている。昨今の健康への意識の高まりから、MetS に対応した様々な食餌性の機能性成分が多く利用されている。それらの中で、とくに過去において食事からの摂取量が確保されていた食事内の食物繊維 (DF) が注目されている。また、甘味料等にも利用されるオリゴ糖は、それらが消化管内で腸内有用細菌による発酵を受けることによって、健康の維持増進に役立つ生理作用を発揮することが知られており、この摂取効果が注目されている。これらの DF ならびにオリゴ糖類は難消化性糖類 (IDS: indigestive saccharide) と総称されるが、それらの抗肥満作用に関する詳細は未解明の部分が多い。そこで本研究では、IDS による肥満関連因子改善作用について検討した。

本研究では IDS による肥満関連因子改善作用についてマウスを用いて検討した。第一章では、通常食摂取マウスに各種 IDS を摂食させ、体重、血糖等の基本的生体指標や直腸温、呼吸代謝計測を中心としたエネルギー代謝調節に及ぼす影響を検討した。第二章では、高脂肪食 (HFD) で肥満誘導させたマウスに IDS を摂食させ、直腸温、呼吸代謝計測を中心としたエネルギー代謝調節、インスリン抵抗性及び血清脂質についての影響を検討した。第一章及び第二章の結果を踏まえ、第三章では、MetS の予防に対応した IDS 成分の影響を検討する為に、食餌誘導性肥満マウスにおけるエネルギー代謝に関して、キトサン (CH) とイヌリン (IN) の影響を検討し、その作用機構を探ることを目的とした。

第一章では、6 週齢のマウスを用いて以下の検討をした。IDS はイヌリン高分子タイプ (INH)、同低分子タイプ (INL)、フラクトオリゴ糖 (FO)、ラフィノース (RF) 及びガラクトオリゴ糖 (GO) の 6 群を用い、14 週間投与した。その結果、INH、GO 及び FO の摂取は酸素消費量 (VO_2) を上昇させ、エネルギー代謝を亢進させることを見出した。直腸温は INH 群で高値を示した。また、同様の方法でマウスを 3 週間飼育した結果、IDS 各群で盲腸内容物量が増加し、IN 両群では有意に増加した。盲腸内容物 pH は IN 両群と FO 群で低値を示した。INH の摂取による VO_2 の上昇と直腸温の上昇傾向は、腸内細菌の INH 発酵により産出した短鎖脂肪酸 (SCFA) が、エネルギー基質として利用された結果と考えられた。本章では、各種難消化性糖類の摂食が、マウスのエネルギー代謝に正の影響を与えることを見出した。低脂肪食条件下では、IDF 摂食による抗肥満効果や空腹時血糖の低下はみられなかったが、IDF による毒性もみられなかった。

第二章では、高脂肪食 (HFD) で肥満誘導させたマウスを用い、第一章と同様な項目について検討した。用いた IDS は寒天 (AG)、キトサン (CH) 及び IN である。6 週齢のマウスに、2% セルロースを含む低脂肪食 (LFD) を投与する群 (CEL) をコントロールとした。他の投与群では、先ず高脂肪食 (HFD) を 7 週間与え肥満を誘導したマウスを 5 群に分け、HFD に IDS を各群 2% 添加し、セルロース添加群を HFD 基本群 (CE) とし、AG 群、CH 群及び IN 群を設定し、11 週間投与した。その結果、HFD 摂食条件下において、CH の摂

論文審査の結果の要旨

メタボリックシンドローム (MetS) は、内臓脂肪の過剰な蓄積に起因し、その予防としては、高血圧、脂質異常及び高血糖症状の早期発見と肥満の積極的な解消が重要である。しかし、肥満解消の対策として、適度な運動習慣と脂質及び糖質摂取過多に偏らない食生活の実践と継続が重要であるものの、現代の生活環境、ライフスタイルにおいては、その効果的な変容の実現は困難と言わざるを得ない。そのため、サプリメントなど MetS に対応した様々な食餌性の機能性成分が多く利用されている。その中で安全かつ効果的な成分として食物繊維 (DF) の積極的な摂取が推奨されている。またオリゴ糖は、消化管内で腸内有用細菌による発酵を受けることによって、有機酸の生成による腸内環境の改善や腸管免疫を介した作用等、種々の健康増進効果を発揮することが知られている。これらは難消化性糖類 (IDS: indigestive saccharides) と総称されるが、それらの抗肥満作用に関する詳細は未解明の部分が多い。そこで秋山隆氏は、IDS による肥満関連因子改善作用について着目し、実験動物モデルを用いた試験を実施し、IDS の作用を多角的に検討した。

第一章では、通常マウスに IDS としてイヌリン高分子タイプ (INH)、同低分子タイプ (INL)、フラクトオリゴ糖 (FO)、ラフィノース (RF) 及びガラクトオリゴ糖 (GO) を 14 週間投与し、エネルギー代謝への影響を検討した。その結果、INH、GO 及び FO の摂取は酸素消費量 (VO_2) を上昇させ、エネルギー代謝を亢進させることを見出した。直腸温は INH 群で上昇傾向であった。また、IDS 各群で盲腸内容物量が増加、INH ならびに INL 群でその影響は顕著であった。盲腸内容物 pH は盲腸内容物量の増加に伴い低下する傾向がみられた。INH の摂取による VO_2 の上昇と直腸温の上昇傾向は、腸内細菌の INH 発酵により産出した短鎖脂肪酸 (SCFA) が、腸管蠕動運動のエネルギー基質として利用された結果と考えられ、各種難消化性糖類の摂食が、マウスのエネルギー代謝に少なからず正の影響を与えることを見出した。

第二章では、高脂肪食 (HFD) で肥満誘導させたマウスを用い、第一章と同様な項目について検討した。IDS は寒天 (AG)、キトサン (CH) 及び IN を用いた。肥満を誘導したマウスに IDS を各群 2% 添加した HFD を 11 週間投与した。その結果、HFD 摂食条件下、CH の摂取は、何らかのメカニズムによって脂質利用を平均値として上昇させることが示された。一方、IN の摂取は、発酵作用による SCFA の生成による腸の蠕動運動の活性化が前章と同様に観察された。また、HFD 摂食条件下において、CH 及び IN の摂取は高脂肪により惹起されたインスリン抵抗性を改善させることを見出した。

第三章では、食餌誘導性肥満マウスのエネルギー代謝に及ぼす CH ならびに IN の影響とその作用機序の解析を行った。マウスの肥満を誘導させた後、2% セルロースを添加した HFD 基本群 (CE)、2% CH 添加群 (CH)、4% CH 添加群 (CH4)、2% IN 添加群 (IN)、4% IN 添加群 (IN4)、またポジティブ・コントロールとし

て用いた 2% コレスチミド添加群 (CS) を設け、14 週間飼育した。その結果、総摂取エネルギー量、体重増加量、内臓脂肪量及び白色脂肪組織 (WAT) 重量は、IDS、CS 群はエネルギー摂取量が高いにも関わらず、脂肪の蓄積抑制を伴う体重増加抑制効果が示された。CH4 群及び IN4 群において累積 VO_2 の有意な上昇が観察された。IN4 群の VO_2 の上昇は、盲腸内容物量の増加とその pH の低下から、発酵産物である SCFA がエネルギー源となり、腸の蠕動運動を活発化させることによるものと考えられた。盲腸内容物中の有機酸を定量した結果、IN4 群では、酪酸と発酵の中間代謝物である乳酸濃度が有意に高まることが観察された。IN は腸内細菌による発酵を受け、発酵により産生された酪酸と乳酸が蠕動運動等のエネルギーとして利用され、基礎代謝を亢進させているものと推察された。一方、CH 群において、平均呼吸商は、CH4 群においてやや低下することが観察され、 VO_2 の上昇と合わせ考えると脂質消費の傾向が示された。また、CS、CH 両群では、血清総胆汁酸 (BA) 濃度が平均値としては高いことが観察された。CH については、CS と同様に陽電荷を有することから、BA の腸肝循環の障害を介した体脂肪燃焼機構が惹起され、エネルギー消費を高めている可能性が考えられた。糞中 BA 排泄量が CS 群で顕著に高く、CH ならびに CH4 群、IN ならびに IN4 群の順で有意に高値であったことから、肝臓で BA の生合成が亢進していることが考えられた。そこで BA を介したエネルギー亢進作用メカニズムの一つとして提唱されている褐色脂肪組織 (BAT) の UCP-1 遺伝子相対発現量を検討した結果、CE 群に比べ CH 群、IN4 群、CS 群において平均値としての増加がみられた。このことにより、BA の腸肝循環が障害されることにより、肝臓でのコレステロール合成と消費ならびにそれに連動する BA の生合成が亢進し、血中の BA 濃度が高まり、BA を介した脂肪燃焼機構が惹起され体脂肪燃焼を上昇させたと推測されたが、実験結果として明確な結論を得るには至らなかった。

以上、本論文によって IDS の摂取は、肥満時におけるエネルギー代謝を亢進する可能性が示唆された。とくにインスリンは、腸管内において易発酵性の IDS として作用、腸内細菌の発酵作用により生成された SCFA がエネルギー源となり、腸の蠕動運動を活発化させることにより酸素消費量を上昇させ、エネルギー代謝を亢進させることを見出した。一方、キトサンの摂取によっても、脂質代謝が亢進することが示唆された。これは BA の腸肝循環の障害を介したエネルギー代謝亢進、すなわち血中 BA による BAT の UCP-1 遺伝子発現亢進が関与している可能性が推測されたが、実験結果から明確な結論を示すには至らなかった。また、これらの IDS は、高脂肪食摂取条件下でインスリン抵抗性の改善効果があることが見出された。以上の観点より、IDS の種類によって抗肥満の作用機構は異なることが明らかとなり、摂取する難消化性糖類をサプリメントなどとして適切に選択することで、効率的に抗肥満効果を得ることができる可能性が示された。以上のことから、本論文は、本研究科課程による博士 (薬学) 論文に値するものと評価した。

取は、何らかのメカニズムによって脂質利用を平均値として上昇させることが示された。一方、INの摂取は、腸内細菌叢の発酵作用によるSCFAの生成と腸の蠕動運動の活性化が、前章と同様に観察された。HFD摂取条件下において、CH及びINの摂取は高脂肪により惹起されたインスリン抵抗性を改善させることを見出した。

第三章では、前章でCHの摂取はエネルギー代謝を亢進させることを示したが、その詳細は明らかではない。そこで食餌誘導性肥満マウスのエネルギー代謝に及ぼすCHならびにINの影響とその作用機構の解析を行った。また、本章ではコレステリド (CS) をポジティブ・コントロールとして用いることとした。6週齢のマウスに、9週間HFDを与えて肥満を誘導させた後、2%セルロースを添加したHFD基本群 (CE)、2%CH添加群 (CH)、4%CH添加群 (CH4)、2%IN添加群 (IN)、4%IN添加群 (IN4) 及び2%CS添加群 (CS) の計6群を設けた。飼料投与は13週間とした。その結果、総摂取エネルギー量、体重増加量、内臓脂肪量及び白色脂肪組織 (WAT) 重量では、IDS、CS群はエネルギー摂取量が高いにも関わらず、脂肪の蓄積抑制を伴う体重増加抑制効果が示された。CH4群及びIN4群において12時間累積 VO_2 の有意な上昇が観察された。IN4群の VO_2 の上昇は、盲腸内容物の増加とそのpHの低下から、発酵産物であるSCFAがエネルギー源となり、腸の蠕動運動を活発化させることによるものと考えられた。そこで、盲腸内容物中に含まれる有機酸を定量した結果、IN4群では、酪酸と発酵の中間代謝物である乳酸濃度が有意に高まることが観察された。以上から、INは腸内細菌による発酵を受け、発酵により産生された酪酸と乳酸が蠕動運動等のエネルギーとして利用され、基礎代謝を亢進させているものと推察された。一方、CH群においては、30分毎の平均RQ値は、CH4群において平均値として低値を示すことが観察され、脂質消費の傾向がみられた。また、CS、CH両群では、血清総胆汁酸濃度が平均値としては高い傾向であった。CHについては、CSと同様に陽電荷を有することから、胆汁酸 (BA) の腸肝循環の阻害を介した体脂肪燃焼機構が惹起され、エネルギー消費を高めている可能性が考えられた。糞中BA排泄量がCS群で顕著に高く、CH両群、IN両群の順で有意に高値であったことから、肝臓でBAの生合成が亢進していることが考えられた。次に、BAを介したエネルギー亢進作用メカニズムの一つとして提唱されている褐色脂肪組織 (BAT) のUCP-1遺伝子相対発現量を検討した結果、CE群に比べCH群、IN4群、CS群において平均値としての増加がみられた。これ等のことにより、BAの腸肝循環が阻害されることにより、肝臓でのコレステロール合成ならびにそれに連動するBAの生合成が亢進し、血中のBA濃度が高まり、BAを介した脂肪燃焼機構が惹起され体脂肪燃焼を上昇させたと推測されたが、実験結果として明確な結論を得るには至らなかった。また一方でIDS摂取による食餌性中性脂肪 (TG) の吸収抑制が体脂肪蓄積を抑制、内臓脂肪を減少させたことも関与しているものと推測された。

本研究に基づき、以下の諸点を明らかにした。インスリンは、腸管内において易発酵性のIDSとして作用、腸内細菌によるSCFAがエネルギー源となり、腸の蠕動運動を活発化させることにより酸素消費量を上昇させ、エネルギー代謝を亢進させることを見出した。また、インスリン抵抗性の改善効果があることを見出した。一方、キトサンは、脂質代謝を亢進させた。BAの腸肝循環の阻害を介したエネルギー代謝亢進、すなわちBAによるBATのUCP-1遺伝子発現亢進が関与している可能性と同時にTGの吸収抑制により内臓脂肪を減少が推測されたが、明確な結論は得られなかった。またこれらのIDFは、高脂肪食摂取条件下でインスリン抵抗性の改善効果があることを見出した。以上の観点より、IDSの種類によって作用機構は異なることが明らかとなり、摂取する難消化性糖類を選択することで、効率的に抗肥満効果を得ることができる可能性が示された。