

フコキサンチンの抗肥満効果に関する研究

学位論文内容の要旨

日本をはじめとした先進国では、近年食生活や生活様式の変化から、肥満人口が増加の一途をたどっている。肥満は単に過剰な脂肪を体内に蓄えるばかりではなく、糖尿病、高血圧、高脂血症などの生活習慣病のリスクファクターとなることが知られている。更にこれらの疾病が合併した状態をメタボリックシンドローム(内臓型肥満症候群)と呼び、心血管疾患(心筋梗塞、脳梗塞)との高い因果関係が報告されている。日本における死因の第1位が心血管疾患によるものであるため、これら疾病を減少させる上で、肥満の予防と治療は極めて重要な課題である。

そこで本研究では、食用海藻のワカメ(*Undaria pinnatifida*)に含まれる脂溶性成分の抗肥満効果について注目した。ワカメは褐藻類に分類され、日本を始め韓国や中国でも古くから食されている海藻の一つである。海藻中の水溶性成分にはフコイダンやアルギン酸等の多糖類や蛋白質が含まれ、それらの血圧低下作用や血清コレステロール低下作用が報告されている。一方、ワカメの脂溶性成分(ワカメ油)には糖脂質やフコステロールに加え、褐藻類に特徴的なカロテノイドであるフコキサンチンが含まれている。本研究ではワカメ油及びフコキサンチンの有効利用を目指し、抗肥満、抗糖尿作用について検討した。

第1章ではワカメ油を糖尿病肥満モデル(KK-*A*)マウスに投与し、内臓型の脂肪組織である白色脂肪組織(WAT)重量に与える影響について検討した。ワカメ油を2%含む飼料を投与した群においてコントロール群と比較し、体重とWAT重量の増加に対する抑制効果が見られた。又この際、ワカメ油投与群では、uncoupling protein 1(UCP1)のWATでの発現が見出された。UCP1は本来褐色脂肪組織(BAT)に発現し、脂肪酸を分解し熱を産出する働きを持つタンパク質である。それにより、余分なカロリーを消費するため、肥満予防のターゲット分子として注目されている。このような働きを持つUCP1がWAT中に異所的に発現していたことにより、ワカメ油によるWATの増加に対する抑制作用は、WAT中での直接的な脂肪燃焼に起因すると考えられた。

そこで、第2章ではワカメ油の抗肥満作用の活性本体を同定するため、ワカメ油の主要な成分であるフコキサンチンと糖脂質を分取し、それぞれをKK-*A*マウスに投与した。その結果、フコキサンチン投与群でのみWATの増加に対する抑制効果及びUCP1の発現が見られた。従って、ワカメ油中の抗肥満成分の本体はフコキサンチンであり、フコキサンチンによりWAT中のUCP1の発現が引き起こされることが分かった。

第3章ではフコキサンチンと他の機能性脂質を併用投与し、フコキサンチンの機能性の向上を図る検討を行った。まず、フコキサンチンの性状改善と安定性の向上を目的とし、中鎖脂肪酸トリアシルグリセロール(MCT)、とトコフェロール(Vit.E)を併用しKK-*A*マウスに投与した。その結果、フコキサンチンとMCT、Vit.Eを併用した群では、フコキサンチン単独投与群と比較し、WAT重量の増加抑制効果、及びWATでのUCP1の発現量が高まる傾向が見られた。次に海産物由来の代表的な機能性物質である魚油とフコキサンチンの併用効果を検討した。フコキサンチンと魚油を併用投与した群では、フコキサンチンを単独投与した群と比較し、WATの蓄積抑制効果が有意に高まった。これらのことからフ

コキシサンチンと他の機能性脂質を併用することはフコキシサンチンの食品への利用を考える場合に有効な手段になることが示された。

ところで、KK-*A*マウスは糖尿病マウスであるため、コントロール群の血液中の血糖値は非常に高いが、フコキシサンチン投与によりその値は正常に近いレベルまで低下した。又、フコキシサンチン投与群ではコントロール群と比較し高インスリン血漿が有意に改善されるばかりでなく、糖負荷試験による耐糖能改善作用も明らかとなった(第5章)。肥満による血糖値の上昇やインスリン抵抗性の惹起は、脂肪細胞から分泌される TNF α やレジスチンなどのアディポサイトカインが関わっている。そこで WAT でのアディポサイトカインの mRNA 発現量について調べた結果、フコキシサンチン投与群で TNF α mRNA の発現量の低下が示された。更にフコキシサンチンによる脂肪組織での脂質代謝、糖代謝調整の作用メカニズムをより詳細に明らかにするため、DNA マイクロアレイを用いて WAT での約 4000 の脂質代謝関連遺伝子の発現量を網羅的に解析した。その結果、 β 3 アドレナリン受容体(Adrb3)の mRNA 発現量の上昇が示された。更に RT-PCR 法においてもフコキシサンチン及びワカメ油投与マウスにおいて、WAT での Adrb3 の発現量の増加が認められた。これらのことからフコキシサンチンやそれを含むワカメ油は Adrb3 の発現量を高め、その下流の情報伝達系を制御することによる UCP1 の発現亢進など WAT での脂質代謝改善作用を示すことが推察された。

第4章では、食事性の肥満に対する予防効果を明らかにする目的で、正常マウス(C57/BL6J)に高脂肪食を投与し、食事性肥満を誘導し、それに対するワカメ油の効果について検討した。その結果、ワカメ油を含む高脂肪を与えた群では、コントロール群と比較し体重の増加が抑えられた。WAT 重量もワカメ油投与群において低下、及び低下傾向を示し、高血糖、高インスリン血漿の改善効果も明らかとなった。ワカメ油投与群の筋肉組織では、糖の取り込みを担う GLUT4、及び脂質代謝関連遺伝子の転写を調節する PPAR δ 遺伝子の発現がコントロール群と比較し有意に高かった。これらのことから高脂肪食を投与した C57/BL6J マウスに対してワカメ油摂取による PPAR δ を介した筋肉組織での脂質代謝、糖代謝の改善効果が示唆された。

第6章ではマウス胎児由来 3T3-L1 脂肪細胞を用いて、摂取したフコキシサンチンの脂肪細胞での作用機構と吸収後の動態について検討した。フコキシサンチンは脂肪細胞ではその一部がフコキシサンチノールへと代謝され蓄積されることが明らかとなった。又、フコキシサンチノールはフコキシサンチンよりも強い脂肪細胞に対する分化抑制効果を示した。以前の研究において、フコキシサンチンは脂肪細胞内で UCP1 を含む脂質代謝関連遺伝子の発現を制御する核内転写因子である PPAR γ のリガンド物質となることが明らかとなっている。そこで、3T3-L1 脂肪細胞に対しフコキシサンチノールを添加し、PPAR γ により制御される脂質代謝関連遺伝子である脂肪酸結合蛋白質(aP2)、リポプロテインリパーゼ(LPL)の遺伝子発現量について調べた。その結果 aP2、LPL の遺伝子の発現量が亢進されたことから、フコキシサンチノールは脂肪細胞内で PPAR γ のリガンド物質として働き、脂質代謝の調節を行う可能性が示唆された。

以上より本研究では、ワカメの脂溶性成分であるフコキシサンチンが、WAT での Adrb3 や PPAR γ の活性化を介した UCP1 の発現促進による新しい作用機構により、脂肪組織の増大に対する抑制効果を示すことを明らかにした。又、フコキシサンチンは脂肪組織や筋肉組織に作用し、肥満により誘導されるインスリン抵抗性を改善する作用を示すことも明らかとなった。この成果はワカメやコンブ等の食用海藻成分の産業価値を高めるとともに、特定保健用食品などの機能性食品素材としての応用を期待させるものである。更には廃棄処分される海藻残渣や雑海藻の有効な利用法にも大きく資する重要な知見ともなる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 下 和 夫
副 査 教 授 高 橋 是 太 郎
副 査 准教授 細 川 雅 史

学 位 論 文 題 名

フコキサンチンの抗肥満効果に関する研究

肥満は脂肪組織の過剰形成であるが、肥満の本当の恐ろしさは、その外見や重量にあるのではなく、脂肪細胞が一種の「内分泌細胞」として、様々な病態（生活習慣病）を誘発する原因物質（アディポサイトカイン）を生産・放出することにある。特に、内臓脂肪の過剰な蓄積により、高血圧、血中脂質や血糖値の増大といったメタボリックシンドロームが、これらのサイトカインにより誘発され、糖尿病や心疾患などの複合的な生活習慣病の発症リスクが高まる。したがって、ヒトにおける肥満は公衆衛生・予防医学上の大きな問題であり、その対策は緊急性を要する社会問題でもある。そこで本研究では、食用海藻のワカメ (*Undaria pinnatifida*) に含まれる脂溶性成分の抗肥満効果について検討した。ワカメの脂溶性成分(ワカメ油)には糖脂質やフコステロールに加え、褐藻類に特徴的なカロテノイドであるフコキサンチンが含まれている。フコキサンチンには抗腫瘍活性や抗酸化作用のあることが報告されているが、その他の機能性についての知見はない。本研究ではフコキサンチンの内臓脂肪蓄積抑制作用と抗糖尿病作用に着目し、以下の成果を得た。

1. ワカメ油の抗肥満効果

ワカメ油投与によりマウスの体重と内臓の白色脂肪組織 (WAT) 重量が有意に減少した。この際、ワカメ油投与群のWAT中で、白色脂肪組織には本来存在しないと考えられていた脱共役タンパク質 1(UCP1)の発現を初めて見出した。UCP1は褐色脂肪組織(BAT)のみに発現し、この発現亢進により、脂肪酸が分解され、生じたエネルギーは熱として散逸される。したがって、UCP1は、肥満予防のターゲット分子として注目されている。以上より、ワカメ油によるWAT重量の抑制作用は、WAT中でのUCP1の発現による、直接的な脂肪燃焼に起因することを本研究により初めて明らかにした。

2. 抗肥満作用の活性本体

ワカメ油の抗肥満作用の活性本体を同定するため、ワカメ油の主要な成分であるフコキサンチンと糖脂質を分取し、それぞれをKK-*Ay*マウスに投与した。その結果、フコキサンチン投与群でのみWATの増加に対する抑制効果及びUCP1の発現が見られた。したがって、ワカメ油中の抗肥満成分の本体はフコキサンチンであり、フコキサンチンによりWAT中のUCP1の発現が引き起こされることを明らかにした。

3. フコキサンチンの抗糖尿病作用

糖尿病病態マウスにフコキサンチンを投与し、血糖値が正常に近いレベルまで低下することを見出した。また、フコキサンチン投与による高インスリン血漿の改善と、耐糖能改善作用を明らかにした。肥満による血糖値の上昇やインスリン抵抗性の惹起は、内臓の白色脂肪組織（WAT）から分泌されるTNF α やレジスチンなどのアディポサイトカインが関わっている。そこでWATでのアディポサイトカインのmRNA発現量について調べた結果、フコキサンチン投与群でTNF α mRNAの発現量の低下が示され、フコキサンチンによるアディポサイトカインに対する制御作用が、その抗糖尿病作用と深く関わっていることを明らかにした。

4. フコキサンチンによる抗肥満作用と抗糖尿病作用の分子機構

フコキサンチンによるWAT中での脂質代謝、糖代謝の制御機構を明らかにするため、DNAマイクロアレイを用いてWATでの約4000の脂質代謝関連遺伝子の発現量を網羅的に解析した。その結果、フコキサンチン投与により $\beta 3$ アドレナリン受容体（Ad $\beta 3$ ）のmRNA発現量の上昇が常に誘発されていることを発見した。更にRT-PCR法においてもフコキサンチン及びワカメ油投与マウスにおいて、WATでのAd $\beta 3$ の発現量が増加することを明らかにした。さらに、フコキサンチンにより、WAT中の核内転写因子（PPAR γ ）の活性が増大することも見出した。これらのことからフコキサンチンやそれを含むワカメ油はAd $\beta 3$ の発現量を高め、PPAR γ による転写活性を高めることにより、その下流の情報伝達系を制御し、UCP1の発現亢進などWATでの脂質代謝改善作用を示すことを明らかにした。

5. メタボリックシンドロームモデル系での検討

食事性の肥満に対する予防効果を明らかにする目的で、正常マウス（C57/BL6J）に高脂肪食を投与し、食事性肥満を誘導し、それに対するワカメ油の効果について検討した。その結果、フコキサンチンを含むワカメ油が、コントロール群と比較し体重の増加とWAT重量の抑制、高血糖、高インスリン血漿の改善効果を示すことを明らかにした。また、ワカメ油投与群の筋肉組織では、糖の取り込みを担うGLUT4、及び脂質代謝関連遺伝子の転写を調節するPPAR δ 遺伝子の発現がコントロール群と比較し有意に高いことも見出した。

このように、本研究では、ワカメの脂溶性成分であるフコキサンチンが、WATでのAd $\beta 3$ やPPAR γ の活性化を介したUCP1の発現促進による新しい作用機構により、内臓脂肪組織の増大に対する抑制効果を示すことを初めて明らかにした。また、フコキサンチンは脂肪組織や筋肉組織で遺伝子レベルでの調節作用を示し、肥満により誘導されるインスリン抵抗性を改善する作用を示すことも明らかにした。これらの成果はワカメやコンブ等の食用海藻成分の産業価値を高めるとともに、特定保健用食品などの機能性食品素材としての応用を可能とするものである。よって審査員一同は本研究の申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。