

学位論文題名

CD36欠損者の長期フルクトース摂取による
代謝変化に関する研究

学位論文内容の要旨

【背景と目的】 CD36の機能は、長鎖脂肪酸トランスポーター、マクロファージや血小板の酸化 LDL 受容体など多彩である。特に、エネルギー消費器官である筋組織とエネルギー蓄積器官である脂肪組織の両方で脂肪酸取り込みに働いている事実は、エネルギー代謝バランスの決定因子としての CD36 の重要性を示唆している。CD36 欠損マウスの研究から、CD36 欠損は食後高脂血症の要因と考えられており、高脂肪食や高フルクトース食などの環境要因によりインスリン抵抗性を生じやすい可能性が示されている。ヒトにおける CD36 欠損はインスリン抵抗性を伴わない脂質代謝異常を生じるという報告がある一方、インスリン抵抗性と関連し脂質代謝異常をもたらすとの報告もある。

一方、フルクトース摂取がヒトにおいて体重増加や高トリグリセライド血症を誘導するとの報告がある。日本でも加工食品に使用されるフルクトースの需要は倍増しており、メタボリックシンドロームをはじめとする代謝異常の原因と対策を考えるうえで、食事性因子、特に脂質代謝異常と関連するフルクトースの影響を考慮した CD36 欠損者の代謝学的研究は重要な課題と考えられる。

本研究は、CD36 欠損者の長期フルクトース摂取により引き起こされる代謝変化を非欠損者と比較することにより、CD36 とエネルギー代謝調節との関係を明らかにすることを目的とする。

【対象と方法】 CD36 の遺伝子解析は PCR/RFLP 法により日本人既知変異 5 種について行った。CD36 ヘテロ欠損群 (CD36 欠損群) 13 名 (男 2 名、女 11 名、年齢 21.6 ± 1.3 歳) と健常ボランティア対照群 (対照群) 23 名 (男 3 名、女 20 名、年齢 21.4 ± 0.6 歳) の 2 群を対象とした。対象者は実験開始から 2 週間フルクトースの制限を行い、その後 5 週間、総エネルギー比 20% のフルクトースを摂取させた。対象者にはフルクトース摂取前と 4 週間後にグルコース負荷試験 (OGTT) を、フルクトース摂取前と 5 週間後に脂肪負荷試験 (OFTT) を行った。OFTT は食後 12 時間後の早朝空腹時に 32.9% の乳脂肪を含むクリームを体表面積 (m^2) あたり 30 g 負荷した。負荷前と負荷後 30 分、1、2、3、4、6 時間後に採血を行った。OGTT はグルコース 75g を含む炭酸飲料を投与し 3 時間まで採血を行った。両負荷試験の測定項目は、血糖、IRI、TG、TC、HDL-C、LDL-C、FFA、レムナントコレステロール (RemL-C)、small dense LDL (sdLDL) である。空腹時のみ測定した項目は、アポ蛋白 A I、A II、B、C-II、C-III、E、HbA1c、アディポネクチン (ADPN)、マロンジアルデヒド修飾 LDL を抗原とする酸化 LDL (MDA-LDL) と、酸化リン脂質を抗原とする酸化 LDL (oxLP-LDL) である。angiopoietin-like protein3 (ANGPTL3) は 5 週間のフルクトース摂取後の OFTT のみ測定し、両群各 10 名を無作為に抽出して測定した。

この期間は介入前のライフスタイルを継続することと食事記録の記入を被験者に義務付

け、1週間に1度食事内容が変化しないように指導を行った。OFTT 開始前の空腹時に身長、体重、腹囲、多周波インピーダンス法による体脂肪分析を行った。

また、 ^1H -magnetic resonance spectroscopy (MRS) による骨格筋細胞内脂質 (IMCL) の測定を行った。測定は 1.5T MRI を使用し、前頸骨筋の IMCL を測定した。測定対象は、CD36 欠損群 (女 3 名、年齢 21.3 ± 0.6 歳、BMI 21.5 ± 4.0) と対照群 (女 6 名、年齢 20.8 ± 0.4 歳、BMI 21.9 ± 2.6) で、フルクトース摂取前と摂取 5 週間後に測定を行なった。

【結果】 フルクトース摂取前の 2 群間比較において、空腹時では血糖が対照群で有意 ($p < 0.05$) に高値であったが、OGTT の血糖と IRI の % 曲線下面積 (AUC) において CD36 欠損群が有意に ($p < 0.05$) 高かった。

フルクトース摂取後の 2 群間比較では、対照群のみ HOMA-R ($p < 0.05$) が有意に上昇したことから、OGTT の血糖と IRI の %AUC は CD36 欠損群で低下傾向を示したことにより、2 群間の糖質パラメータの差は無くなった。空腹時の RemL-C ($p < 0.05$) とアポ CIII が対照群で有意 ($p < 0.01$) に高かった。OFTT ではフルクトース摂取後の TG %AUC において CD36 欠損群が対照群より有意 ($p < 0.05$) に高かった。OFTT の最大変化率の TG ($p < 0.01$) と RemL-C ($p < 0.05$) は CD36 欠損群が有意に高かった。ANGPTL3 は対照群では OFTT 後に低下したのに対し、CD36 欠損群は上昇した。

フルクトース摂取前における IMCL は 2 群間に有意差が無かった。フルクトース摂取後の IMCL は 2 群とも減少傾向を認めたが有意差は無かった。

【考察】 フルクトース長期摂取によりインスリン感受性の低下は対照群で生じ、CD36 欠損群では生じなかった。CD36 欠損とインスリン感受性の関連は不明な点が多いが、フルクトース摂取によるインスリン感受性の低下に対して CD36 欠損は、少なくとも若年日本人においては防御的に作用すると考えられる。

フルクトース摂取による ADPN の低下や IMCL の増加はなく、脂肪組織と筋組織のインスリン感受性低下を示す所見が観察されなかったことから、対照群のフルクトース摂取によるインスリン感受性の低下と肝臓のインスリン感受性との関連性が注目される。フルクトースは肝臓でアセチル CoA の産生過剰と脂肪酸合成に関わる転写因子 SREBP1c の増加を引き起こし、SREBP1c の増加は肝インスリン抵抗性をきたす。肝臓の脂肪蓄積には肝 CD36 の発現増強を伴うとの報告があり、SREBP1c のアゴニストである長鎖脂肪酸のトランスポーターである CD36 の発現増強は肝の脂肪合成に促進的に働くと考えられる。肝 CD36 の発現には転写因子 liver X receptor (LXR) が関与するが、LXR の内因性アゴニストの一つに酸化ステロールが知られている。CD36 は酸化 LDL 受容体であることから、CD36 欠損では肝臓への酸化ステロールの取り込みが減少し、そのために LXR の活性化も生じず、肝臓でのインスリン感受性が保たれた可能性が考えられる。

本研究の結果で CD36 欠損はフルクトース摂取により食後高 TG 血症が出現しやすく、それはレムナントリポ蛋白の増加によることが示された。CD36 欠損と食後高 TG 血症の関連については、CD36 欠損マウスでは小型で代謝速度が遅いキロミクロンが産生され高 TG 血症をきたすという報告や FFA の上昇による LPL の抑制が報告されている。本研究で検討された ANGPTL3 の機能として、LPL 活性阻害、LXR による転写調節を受けるなどが報告されている。フルクトース摂取後 CD36 欠損群で OFTT の TG 上昇率が高かった原因として、FFA の上昇傾向 (有意ではない) による LPL 抑制の可能性が否定できないことと、ANGPTL3 の奇異的增加反応による LPL の抑制が関与する可能性が考えられる。OFTT による ANGPTL3 の血中濃度変化を観察した報告は無く、その機序は不明である。今後さらなる検討を要する。

【結論】 CD36 欠損は、長期フルクトース摂取によるインスリン感受性の低下に対して防御的であった。また、CD36 欠損は、長期フルクトース摂取後に行う脂肪負荷試験においてレムナントリポ蛋白の異常な増加を伴っていた。その機序に ANGPTL3 が関与する可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 池 隆 夫
副 査 教 授 畠 山 鎮 次
副 査 教 授 筒 井 裕 之

学 位 論 文 題 名

CD36欠損者の長期フルクトース摂取による 代謝変化に関する研究

CD36はスカベンジャー受容体クラスBに分類される糖蛋白で、筋組織、脂肪組織、マクロファージ、などで発現している。その機能は酸化LDL受容体、長鎖脂肪酸のトランスポーターなど多彩である。CD36欠損マウスは食事因子の影響でインスリン感受性が変化すると報告され、ヒトにおけるCD36欠損ではインスリン抵抗性を伴う、または伴わない、と相反する報告がある。また、フルクトースは疫学調査の結果で摂取量の増加と平行して生活習慣病が増加していると報告されている。CD36欠損者の長期フルクトース摂取により引き起こされる代謝変化を観察し、CD36を介したエネルギー代謝調節とフルクトース摂取の関係を明らかにすることを目的とした。CD36ヘテロ欠損群13名とコントロール群23名の2群を対象とし、5週間総エネルギー比20%のフルクトースを摂取させ、その前後にグルコース負荷試験と脂肪負荷試験を行い評価し、以下の事実を明らかにした。

- (1) CD36欠損群は空腹時血糖が有意に低くOGTTの血糖上昇率は有意に高い、というインスリン抵抗性は伴わない糖負荷時の血糖上昇が生じる。
- (2) CD36欠損群はフルクトース摂取によるインスリン感受性低下に対し防御的である。
- (3) CD36欠損群はフルクトース摂取により食後TG上昇率がコントロール群より有意に増加する。
- (4) CD36欠損群のフルクトース摂取による食後TG上昇はレムナントリポ蛋白の増加による可能性があり、その上昇にANGPTL3が関与する可能性がある。

以上のことより、CD36欠損ではインスリン感受性の低下に防御的でありながら、食後高TG血症を生じやすい可能性が示され、生活習慣病の対策を考えるうえで、重要な事実を明らかにしたと考えられた。

CD36の脂肪酸トランスポーターとしての重要度とCD36遺伝子変異が、たんぱく質の発現に影響するか否かとの質問には、CD36以外にも脂肪酸トランスポーターは確認されており、先行研究結果からCD36はFFAの早い取り込みに関与していると考えられる。nt478C→Tはアミノ酸のプロリンがセリンに置き換わる変異であるが、ヘテロ接合体であっても脂肪酸取り込みの遅延が報告されていると回答した。また、グルコースとフルクト

ースで TG 代謝に与える影響が異なる理由は何かとの質問には、グルコースに比べてフルクトースを大量に摂取するようになったのは 30 年程度であり、フルクトース研究は歴史が浅く不明な点が多いと回答した。なぜ若い女性を対象としたか。今回の結果は高齢者や男性にあてはめて良いか。5 週間としたその根拠は何か。IMCL がフルクトース摂取で増加しなかったのはなぜか、との質問がされた。CD36 欠損に男女差は無い。対象とした集団に女性が多かった為、女性主体の対象となった。若年者という点では加齢による代謝変化の影響を排除する為、若年健常者を対象とした。フルクトースを継続摂取した報告で 4 週間では代謝変化が生じないことと、被験者がフルクトースを実際に摂取し続ける期間の限界を考慮し、5 週間という設定にした。今回、被験者のエネルギー摂取は適正量を維持させた。エネルギー摂取の過剰により IMCL は増加する可能性が考えられたと回答した。先行研究で CD36 欠損はインスリン抵抗性が生じるとあるが今回の研究と異なるのはなぜかとの質問について、対象者の年齢、病歴の違いによる可能性がある。先行研究の対象は平均年齢が 60 代であり、心疾患を有していたと回答した。Type I と Type II の表現形と本研究との関連について質問がされた。ヘテロ接合体における Type II の頻度は 33%であった。Type II 欠損であるか否かに関わらず単球 CD36 の発現量はヘテロ接合体で減少している。ヘテロ接合体では臓器の CD36 発現量は単球と同様に減少していると考えていると回答した。糖尿病や高 TG 血症での CD36 欠損の割合について、人種差の有無と人種差と表現型の関係はあるかとの質問に対し、明らかではない。CD36 欠損はアジア人に多い。表現型との関係は報告がないと回答した。

この論文は、CD36 を介した代謝調節とフルクトース摂取の関係を明らかにした点で高く評価され、今後、生活習慣病の対策を考える上での一助となる可能性があると言う意味で期待される。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。