

マボヤに含まれる機能性成分の複合的作用による糖及び 脂質代謝改善効果に関する研究

学位論文内容の要旨

近年世界各国で、エネルギーの過剰摂取や運動不足といった生活習慣の悪化に伴い、メタボリックシンドロームが蔓延している。メタボリックシンドロームは肥満を基盤として糖尿病や高脂血症、高血圧症を併発した状態であるが、日本では糖尿病患者やその予備軍の人数が急激に増加しており、深刻な問題となっている。特に、糖尿病はその病状が長期にわたると重篤な合併症を引き起こすため、早期の段階での解決が望まれる。このようなメタボリックシンドロームは生体内でのエネルギー代謝機構の破綻が密接に関わっており、肝臓や脂肪組織、筋肉などの末梢組織が互いに作用しながら引き起こされると考えられる。そのため、特定の組織のみならず複数の組織に着目し、エネルギー代謝を総合的に制御、改善することが重要である。

一方、メタボリックシンドロームを予防・改善するために、近年食品由来の機能性成分の利用に関する報告が多くなされている。特に、水産物には陸上生物にみられないユニークな構造や性質を持つ成分が多く含まれている点や、未利用資源が多く残存し、その中には未だ明らかになっていない機能性物質の発見が期待できる点など非常に興味深い。そこで本研究では、水産物の一つであるマボヤ (*Halocynthia roretzi*) に注目した。マボヤは単体で海底や岩に固着して生活する脊索動物であり、n-3 系高度不飽和脂肪酸 (PUFAs) のエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA)、エーテル結合型リン脂質、タウリンなど複数の機能性成分を含む。また、フコキサンチン等のカロテノイドを取り込み、ホヤ特有の代謝物に変換する。そのため、海洋生物の食物連鎖系の中で様々な機能性成分を蓄積する非常に興味深い生物である。しかし、マボヤに含まれる成分の健康機能性に関する報告はカロテノイドによる抗癌作用や抗炎症作用、ヘキササン抽出物による脂質代謝改善作用のみと少ない。本研究では複数の機能性成分を含むマボヤ抽出物が糖尿病や肥満に関わる異なる組織に複合的に作用して相乗効果や相加効果を発現することを明らかにすることを目的とした。

まず第1章では、エタノールまたはアセトンを用いてマボヤに含まれる脂溶性成分を抽出し、その成分分析を行った。抽出物の収率はエタノールではマボヤ乾重量あたり 6.1%、アセトンでは 4.3%であった。エタノール抽出物の脂肪酸組成は水産物に特徴的な n-3 系 PUFA である EPA が 23.6%、DHA が 13.7% と多く含まれ、次いでパルミチン酸が 11.9%であった。カロテノイドを分析した結果、エタノール抽出物あたりハロシンチアキサンチンが 0.088%、アロキサンチンが 0.166%、ディアトキサンチンが 0.063% 含まれていた。また、アセトン抽出物による主要な脂肪酸、カロテノイドはマボヤのエタノール抽出物とほぼ同一であった。このことより食品産業で利用可能なエタノールを用いても、カロテノイドの抽出に適したアセトンと同様に抽出できることが明らかとなった。更に、マボヤエタノール抽出物の分画方法を検討し、NL 画分（中性脂質画分） 47.4%、Caro 画分（粗カロテノイド画分） 4.5%、PL 画分（極性脂質画分） 38.3%が得られた。

第2章では、複数の脂溶性成分を含むマボヤエタノール抽出物（以下マボヤ抽出物）を2型糖尿病/肥満モデル KK-*Y* マウスに投与し、血糖値や血清インスリン濃度への影響を検討した。抽出物を 0.5、2、5%含む飼料を投与した結果、5%投与群において血糖値の改善効果がみられ、血清インスリン濃度も低下傾向を示し、インスリン抵抗性の改善が推察された。また、5%マボヤ抽出物投与により糖負荷後の血糖値の上昇抑制が認められ、耐糖能の改善が示された。更に糖代謝では、マボヤ抽出物群で肝臓の糖新生酵素である PEPCK 活性の減少傾向や筋肉での GLUT4 トランスロケーションの増加傾向がみられ、エネルギー代謝に関わる異なる組織に対し糖代謝を亢進することが推察された。

脂質代謝に関しては、マボヤ抽出物投与によりペルオキシソームでのβ酸化系の脂肪酸分解酵素である ACO の活性が肝臓で 4 倍以上に上昇し、PPARαの下流に位置し脂肪酸酸化酵素である MCAD や CYP4a10 遺伝子の発現も強く上昇したため、ACO が PPARαを介して遺伝子転写レベルで制御されたと推察される。また、マボヤ抽出物投与により血清アディポネクチン濃度の上昇傾向や肝臓での AdipoR2 mRNA 発現量の増加傾向がみられたことから、アディポネクチン感受性の改善による PPARαの活性化と脂質代謝を介した糖代謝の改善が考えられた。これらの結果より、マボヤ抽出物が血糖値改善効果を示すことが明らかとなった。その要因として、マボヤ抽出物がインスリン感受性を上昇させ、複数の組織での糖代謝を活性化することが推察される。また、PPARαの活性化を介した脂質代謝の改善も関与することが示唆された。

次いで、第3章ではマボヤ抽出物中の活性成分を明らかにするため、分画物およびそれらを組み合わせて KK-*Y* マウスに投与した。その結果、血糖値はマボヤ抽出物に加え NL+PL によって改善された。一方、マボヤ抽出物や NL+PL 画分と同量の EPA や DHA を含む魚油群では血糖値改善効果がみられな

かった。加えて肝臓における EPA や DHA の増加も魚油群に比べマボヤ抽出物群や NL+PL 群で大きいことがわかった。更に PL 群と Caro+PL 群を比較すると Caro 画分と併用することで肝臓の DHA 含量の増加が大きかった。よって EPA や DHA の脂肪酸としての作用ではなく、それらが結合する脂質形態やさらには Caro 画分との組み合わせによる併用効果が要因の一つであると考えた。また、肝臓では糖新生酵素である G6Pase や PEPCK の mRNA 発現量がマボヤ抽出物群、Caro 群、NL+PL 群において抑制傾向であった。また、マボヤ抽出物群では PEPCK の活性低下もみられた。これらの結果より、マボヤ抽出物の血糖値改善効果の他の要因としては肝臓において糖新生の制御作用も推察された。以上よりマボヤ抽出物中の単一成分ではなく複数成分の複合的作用が血糖値改善効果に寄与するものと考えられた。

一方、マボヤの食品素材としての応用を考えた場合、水溶性成分のタウリンの効果も期待される。第 4 章ではタウリンと n-3 系 PUFAs の併用効果を評価した。KK-*A*^y マウスに 4% タウリンと 7% 魚油を併用投与した結果、WAT 重量増加抑制がみられた。また、血糖値に加え血清トリグリセリドや遊離脂肪酸濃度はタウリンと魚油の併用で低下効果がみられた。さらに、レプチンの血清濃度や WAT におけるレプチン mRNA 発現量も低下したため、レプチン抵抗性の改善を通して組織における糖代謝や脂質代謝を活性化した可能性が考えられる。加えて、筋肉における GLUT4 のトランスロケーションもタウリンと魚油の併用によって高まる傾向にあったため、筋肉での糖取り込みの亢進が血糖値改善の要因の一つであると考えられる。

また、高脂肪食投与による食事誘導性肥満マウスに対してもタウリンと魚油の併用によって WAT 重量の増加抑制傾向がみられ、更に血清コレステロール、LDL-コレステロール濃度の上昇抑制傾向もみられた。よって食事誘導性肥満マウスへのタウリンと魚油の併用は特に脂質代謝改善に適した組み合わせであると考えられる。このようにマボヤ抽出物では血糖値改善効果がみられ、一方でタウリンと n-3 系 PUFAs の併用では血清脂質濃度の改善にも影響を及ぼすことが示唆されたため、マボヤ抽出物とタウリンの組み合わせが糖及び脂質代謝に対し複合的作用をもたらすことが期待される。

以上、本研究では、マボヤエタノール抽出物が 2 型糖尿病/肥満モデルマウスにおいて血糖値改善効果を示すことを明らかにした。この効果はマボヤエタノール抽出物が肝臓、脂肪組織、筋肉の異なる組織に作用し、糖代謝に加え脂質代謝も改善することにより総合的にエネルギー代謝を改善した結果であると推察される。その作用はマボヤ抽出物中の単一成分ではなく、複数の成分の組み合わせによる複合的な作用によることが明らかとなった。さらにマボヤに豊富に含まれるタウリンと n-3 系 PUFAs の併用が血糖値や脂質代謝を効果的に改善することも示された。これらの成果はマボヤをはじめ、機能性成分を複数含む水産物が複合的作用によって生体内のエネルギー代謝を改善することを示すものである。

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

マボヤに含まれる機能性成分の複合的作用による糖及び 脂質代謝改善効果に関する研究

メタボリックシンドロームは生体内でのエネルギー代謝機構の破綻と密接に関わっており、肝臓や脂肪組織、筋肉などでの脂質や糖の代謝異常が複合的に重なり合うことで引き起こされると考えられている。したがって、こうした病態の改善には、これら組織でのエネルギー代謝を総合的に制御することが重要であり、食品由来の機能性成分が有する糖・脂質代謝改善作用が注目されている。特に、水産物には陸上生物にはみられないユニークな構造や機能性を持つ成分が多く含まれていると考えられ、その積極的な研究が望まれている。そこで本研究では、マボヤ (*Halocynthia roretzi*) に注目した。マボヤには、脂質代謝改善作用が期待できるn-3系高度不飽和脂肪酸 (PUFAs) のエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) の他、エーテル結合型リン脂質、タウリンなど複数の機能性成分が含まれている。また、マボヤは、フコキサンチン等のカロテノイドを取り込み、ホヤ特有の代謝物に変換する。そのため、マボヤは、海洋生物の食物連鎖系の中で様々な機能性成分を蓄積する非常に興味深い生物といえる。しかし、マボヤに含まれるこれら成分の健康機能性に関する報告は少なく、分子レベルでの作用機構も不明である。そこで、本研究では、複数の機能性成分を含むマボヤ抽出物の、糖尿病や肥満に対する作用について検討した。特に各成分間での相乗効果や相加効果に着目して検討を行い、以下の成果を得た。

1. マボヤに含まれる脂溶性成分の成分分析を行ったところ、水産物に特徴的なn-3系PUFAsでは、EPAが20%以上、DHAが10%以上と多く含まれていること、カロテノイドでは、ハロシンチアキサンチン、アロキサンチン、ディアトキサンチンが主な成分であることを明らかにした。また、マボヤエタノール抽出物の分画方法を検討し、NL画分 (中性脂質画分)、Caro画分 (粗カロテノイド画分)、PL画分 (極性脂質画分) を得ることに成功した。

2. II型糖尿病/肥満KK-*Ay*マウスを用いて、マボヤエタノール抽出物 (以下マボヤ抽出物) の血糖値や血清インスリン濃度への影響を検討し、5%投与群において血糖値の有意な低下、血清インスリン濃度の低下傾向、糖負荷後の

血糖値の上昇抑制が起こることを明らかにした。また、マボヤ抽出物群で肝臓の糖新生酵素であるPEPCK活性の減少や筋肉でのGLUT4トランスロケーションの増加も見出した。以上より、マボヤ抽出物投与により、筋肉や肝臓といったエネルギー代謝に関わるマウス組織の糖代謝が亢進することを明らかにした。

3. マボヤ抽出物投与により、ペルオキシソームのACO (β 酸化系の脂肪酸分解酵素) 活性が肝臓で4倍以上に上昇し、PPAR α の下流に位置し脂肪酸酸化酵素であるMCADやCYP4a10遺伝子の発現上昇の起こることを見出した。また、マボヤ抽出物投与により血清アディポネクチン濃度の上昇や肝臓でのAdipoR2 mRNA発現量が増加することも明らかにした。以上より、アディポネクチンの感受性やインスリン感受性の改善とPPAR α の活性化などを通じた、マボヤ抽出物による脂質代謝と糖代謝の活性化機構を提案できた。

4. マボヤ抽出物の各分画物 (NL画分、Caro画分、PL画分) をKK-*Ay*マウスに投与したところ、血糖値はNL+PL投与で改善されること、ただし、NL+PL画分と同量のEPAやDHAを含む魚油群では血糖値改善効果がみられないこと、加えて肝臓におけるEPAやDHAの増加も魚油群に比べマボヤ抽出物群やNL+PL群で大きいことを明らかにした。また、肝臓では糖新生酵素であるG6PaseやPEPCKのmRNA発現量がCaro群、NL+PL群において抑制されることも見出した。これらの結果より、マボヤ抽出物の血糖値改善効果には、肝臓における糖新生の制御も重要な要因となっていることを明らかにした。

5. マボヤの食品素材としての応用を考えた場合、水溶性成分としてのタウリンの効果も期待できる。そこで、本研究では、タウリンとn-3系PUFAsの併用効果も検討した。KK-*Ay*マウスに4%タウリンと7%魚油を併用投与したところ、WAT重量の増加抑制、血糖値、血清トリグリセリド、遊離脂肪酸濃度の低下、血清中レプチン濃度とWATにおけるレプチンmRNA発現量の低下を明らかにした。これらの結果から、マボヤ中のタウリンとn-3系PUFAsの併用により、レプチン抵抗性が改善され、これにより各組織における糖代謝や脂質代謝が活性化されることを示した。

本研究では、マボヤエタノール抽出物がII型糖尿病/肥満モデルマウスにおいて血糖値改善効果を示すことを見出した。この効果は、マボヤエタノール抽出物中の各成分による複合的な作用に起因しており、これらの成分が、肝臓、脂肪組織、筋肉中の糖代謝と脂質代謝を活性化させた結果であることを明らかにした。以上の成果は、マボヤがメタボリックシンドローム予防機能性素材として活用できることを示しただけでなく、マボヤのように機能性成分を複数含む水産物の作用を解明する上で新たな視点を与えるものといえる。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。