

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 橋詰 力

近年、肥満は先進国のみならず、発展途上国においても増加の一途を辿っている。肥満に起因する問題として、メタボリックシンドロームが挙げられ、これに該当する患者は動脈硬化症による死亡リスクが高まる。その為、メタボリックシンドローム発症メカニズムの解明及び治療方法の確立が求められているが、未だ十分な解答は得られていない。

このメタボリックシンドロームに対し有効な対処方法として考えられるのが食品成分による肥満の予防である。大豆タンパク質の一つβコングリシニン¹は、以前から実験動物だけではなくヒトにおいても脂質異常症改善効果が報告されており、メタボリックシンドロームの予防に用いることが可能であると考えられているが、その作用メカニズムは未だ不明であった。

野生型マウスにコントロール食またはβコングリシニン食(β-con食)を9週間摂取させることにより、βコングリシニンの生理作用を確認した。その結果、β-con食を摂取したマウスでは過食であるにも関わらず抗肥満、血糖低下、脂質異常症改善効果が確認された。そして、マイクロアレイによる網羅的解析においても、βコングリシニンを摂取することによって肝臓では脂質合成経路が抑制されている事が示された。

生体内での脂質合成は食後速やかに促進される。その為、9週間の摂食実験で確認されたβコングリシニンの生理作用として重要な働きをしている鍵因子は、βコングリシニン摂取直後にも変動している可能性が考えられた。実際、β-con食を6時間摂取させたマウスの肝臓においては脂質代謝経路が抑制されていることがマイクロアレイによる解析で明らかとなった。この時、βコングリシニンを摂取したマウスの肝臓で最も遺伝子発現が変動している因子はFGF21(コントロール食<β-con食)であった。

FGF21は、肥満マウスに投与することにより肥満による代謝異常の改善が認められている。また、摂食刺激に伴い一過的に遺伝子発現・血中濃度が減少することが報告されていた。それにもかかわらず、血液中FGF21濃度を測定すると、コントロール食に比べ、β-con食を9週間もしくは6時間摂取したマウスの血中FGF21濃度は有意に高値であった。さらに、βコングリシニンを摂取したマウスではFGF21の下流と思われる遺伝子発現の変動も確認された為、βコングリシニンの生理作用はFGF21を介した作用である可能性が示された。

FGF21の遺伝子発現制御は、主にPPARαにより調節されている。そこで、βコングリシニンによるFGF21遺伝子発現誘導にPPARαが関与しているかどうかを、PPARα knock out (KO) マウスにコントロール食またはβ-con食を4週間摂取させることにより解析した。

その結果、野生型マウス同様、PPAR α KO マウスでは FGF21 の遺伝子発現及び血中濃度上昇が確認された。そして、 β コングリシニンを摂取した PPAR α KO マウスでは抗肥満、血糖低下、脂質異常症改善効果が確認された。したがって、 β コングリシニンによる FGF21 遺伝子発現上昇及び生理作用に PPAR α は関与しないことが示された。

続いて、 β コングリシニン摂取時に FGF21 の遺伝子発現を制御している因子の同定を試みた。コントロール食または β -con 食摂取 6 時間後のマイクロアレイ解析を精査すると、 β コングリシニン摂取後の肝臓では転写因子 ATF4 の標的遺伝子が多数発現上昇していることが判明した。ATF4 による FGF21 の遺伝子発現制御について FGF21 プロモーターアッセイにより確認した。その結果、マウス FGF21 のプロモーター上に存在する AARE 1(amino acid response element) を介して ATF4 は転写活性を上昇させることが判明した。次に β コングリシニン摂取時に ATF4 が FGF21 のプロモーター上 (AARE1) に結合しているかを確かめる為、コントロール食または β -con 食摂取後 3 時間のマウス肝臓サンプルを *in vivo* CHIP に供した。その結果、 β -con 食摂取時には FGF21 のプロモーター上に ATF4 が結合していることが示された。そして、 β コングリシニン摂取時に確認される FGF21 の遺伝子発現上昇に ATF4 が寄与しているかを確かめる為、ドミナントネガティブ ATF4 (ATF4DN)を用いた解析を試みた。コントロールウイルスをマウスに感染させた場合と比較して、ATF4DN ウイルスを感染させたマウスでは、 β コングリシニン摂取時に確認される FGF21 の遺伝子発現の上昇が有意に抑制されていた。

β コングリシニンの生理作用における FGF21 の重要性を明らかとする目的で FGF21KO マウスを用いた長期摂食実験を行った。FGF21KO マウスにおいて、コントロール食群と比較して、 β -con 食群では体重抑制効果が確認されたが、その効果は野生型マウスよりも減弱していた。また、野生型マウスで確認された、血中脂質の低下、FGF21 の下流と考えられる白色脂肪組織での脂肪分解関連遺伝子の発現上昇、それに伴う白色脂肪組織重量の減少は確認されなかった。一方、野生型マウスと同様に、FGF21KO マウス β -con 食群では ATF4 標的遺伝子の発現上昇が確認された。

以上の解析結果から、 β コングリシニンによる生理作用の一部は ATF4-FGF21 経路を介したものである事が新たに示された。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。