

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 姚 瑞卿

本研究では、代謝異常に対する食品ポリフェノールの改善効果と、核内受容体 constitutive androstane receptor (CAR) を介した作用メカニズムについて解析し、代謝異常や改善効果が次世代へどのように継承されるか検証することを目的としたもので、論文は二章からなる。

第一章では、食品ポリフェノールおよびその関連物質について、代謝調節作用の解析を行った。第1節においては、セサミンと立体異性体エピセサミンの生理機能の相同点と相違点を解明するため、セサミンあるいはエピセサミンを投与したマウスについて、肝臓 DNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、セサミン投与で発現が変動した遺伝子群については、解糖系と TCA 回路の促進、コレステロール合成の抑制、リン脂質代謝の促進、ステロイドホルモン合成の調節、糖源性アミノ酸代謝の促進などが見られた。一方、エピセサミン投与で発現が変動した遺伝子群については、コレステロール合成と胆汁酸合成の抑制、長鎖脂肪酸と不飽和脂肪酸合成の抑制、リン脂質代謝の抑制、糖源性アミノ酸代謝の抑制などが見られた。また、両者共通に発現が変動した遺伝子から、脂肪酸酸化の促進、コレステロールの肝臓への輸送の抑制などが予想された。

第2節では培養細胞発現系を用いて、酒類に含まれる5種類のポリフェノール成分のうち、エラグ酸とレスベラトロールに CAR 活性化能が存在することを見出した。さらに、アルコール性脂肪肝形成に対するそれらの予防効果を解析するため、マウスにコントロール食、エタノール含有食(5%)、エラグ酸あるいはレスベラトロール(50mg/kg 体重/day)を含むエタノール含有食を5週間投与した。Oil red O 染色の結果、エタノール食群において肝細胞に脂肪蓄積が観察されたが、エラグ酸やレスベラトロール摂取によりその抑制が認められた。また肝臓トランスクリプトーム解析により、エラグ酸やレスベラトロールの摂取は、エタノールによって発現が上昇したストレス誘導性遺伝子や糖新生・脂質合成に関する遺伝子と、発現が低下した胆汁酸合成と脂肪酸伸長関連遺伝子の発現を、逆方向に変化させることが判明した。さらにエラグ酸やレスベラトロール摂取により変動する遺伝子の一部が CAR によって調節されていることが既に明らかになっているため、CAR 欠損マウスを用いて改善効果への CAR の寄与を調べた。その結果、エラグ酸やレスベラトロールを添加したエタノール食群においても CAR 欠損マウスでは脂肪肝が観察されたことから、食品ポリフェノールが示す脂肪肝予防の分子基盤の一端が明らかにされた。

さらに第3節では CAR 発現細胞系を用いて、核内受容体 CAR を活性化する食品ポリフェノール

の探索を行い、CAR を活性化するフラボノイド類の構造活性相関が明らかになった。

第二章では、雄親のエタノール摂取が仔の健康に与える影響と、それに対するポリフェノールの予防効果について解析した。第1節では、雄親マウスにコントロール食あるいはエタノール食を5週間摂取した後に交配を行い、生まれてきた仔マウスについて、3週齢と10週齢における表現型と肝臓トランスクリプトーム解析を実施した。3週齢のエタノール群仔マウスでは、コントロール群と比べて体重は有意に重く、血中中性脂肪量も有意に高かった。肝臓のトランスクリプトーム解析と代謝制御分析の結果、エタノール群の仔マウスではウイルス応答、コレステロール合成・吸収、細胞周期、細胞増殖が促進され、脂質代謝と顆粒(白血)球蓄積が抑制されていることが予想された。10週齢仔マウスでは、これらの体重、血中中性脂肪値、遺伝子発現の変化は群間で差が見られなかった。

第2節では、雄親に与える餌としてレスベラトロール含有エタノール食を加え、第1節と同様な実験を行った。その結果、コントロール群と比べて、エタノール群3週齢仔マウスの体重と血中中性脂肪値は有意に高かったが、レスベラトロール添加群では差が認められなかった。またコントロール群とレスベラトロール添加群仔マウスの肝臓遺伝子発現プロファイルは異なるクラスターとして分類されなかった。さらに、エタノール群で誘導された遺伝子発現の有意な変化は、レスベラトロール添加群では認められなかった。今後は、各群で差が見られた遺伝子群の機能を詳細に検討し、雄親マウス精子ゲノムと仔マウス肝臓ゲノムのメチル化修飾を比較解析する予定である。

本研究においては、日常的に曝されうる代謝ストレスと、食品ポリフェノールを含んだ日常食による回復モデルを構築し、さらにこの代謝ストレスと回復が次世代にも継承されうる事を示した。従来の抗酸化作用に加えて、食品ポリフェノールが有する、核内受容体などの標的タンパク質を介した新たな生理機能の解明が行われることが期待されるものであり、学術的・応用的に貢献するところが少なくない。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があるものと認めた。