

学 位 論 文 要 旨

氏 名 井上 奈穂

題 目

共役リノール酸によるアディポサイトカイン産生調節を介した病態発症改善機能に関する研究
(Studies on alleviation of the common diseases by conjugated linoleic acid through the regulation of adipocytokine production)

先進諸国において高脂血症、動脈硬化、糖尿病、高血圧などの生活習慣病は年々増加の一途をたどっており、心血管疾患の増加の一端を担っている。これら生活習慣病の発症機構については未だ明らかでない点も多いが、脂質代謝異常が関与することが示唆されている。その発症予防には食品成分の生体調節機能を活用する試みが行われており、なかでも食事脂質の質が脂質代謝に影響を与えることが注目されている。これらの観点から、近年、共役リノール酸の生理作用に興味が集まっている。

共役リノール酸 (Conjugated linoleic acid; CLA) は必須脂肪酸であるリノール酸の位置および幾何異性体で、共役二重結合を持つことを特徴とする脂肪酸の総称である。CLA は主に、牛や羊などの反芻動物の食肉中や乳製品に比較的多く含有される。これまで、CLA は抗ガン作用や抗肥満作用、抗動脈硬化作用などの生理機能が報告されているが、未だ明らかになっていない点も多い。そこで、肥満モデル OLETF ラットを用いて、CLA 異性体の抗肥満・抗高脂血症作用について検討した。その結果、10t,12c-CLA 異性体が抗肥満・抗高脂血症作用を発揮することが確認され、その作用機序については mRNA 発現の調節を介した脂肪酸 β 酸化系の亢進と脂肪酸合成系の抑制が関与していることが示唆された。

CLA には広範な生理機能が報告されているにもかかわらず、高血圧への影響に関する知見は報告されていない。本研究において、CLA 混合物あるいは 10t,12c-CLA 異性体摂取が OLETF ラットおよびマルチプルリスクファクター症候群疾患モデル Zucker ラットの肥満誘発性高血圧に対して抑制作用を示すことを初めて見出した。その作用機序としては内臓脂肪組織中の昇圧性アディポサイトカインの産生の抑制、および高血圧の危険因子であるインスリン抵抗性を改善するアディポネクチンの産生亢進によることが示唆された。また、Zucker ラットで認められる 2 型糖尿病患者や肥満症患者と共通の疾患、非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) に対して、CLA 摂取は肝臓アディポネクチン濃度の増加と炎症性サイトカイン TNF- α mRNA 発現量の抑制を介して、発症と進行を抑制することを示唆した。さらに、糖代謝・脂質代謝において重要な役割をもつ骨格筋においても、CLA 摂取は TNF- α 蓄積を抑制し、脂質代謝およびインスリン感受性遺伝子発現を変動させることが示された。CLA の血圧上昇抑制作用は非肥満性の本態性高血圧モデル SHR においても認められ、その一因として、血漿アディポネクチン濃度の上昇と膜脂質組成の変動が関与していることが示唆された。

本研究において、共役リノール酸による病態発症改善作用はアディポサイトカインの産生調節を介して発揮されることが示唆された。

学 位 論 文 要 旨

氏 名

Nao Inoue

題 目

Studies on alleviation of the common diseases by conjugated linoleic acid through the regulation of adipocytokine production
(共役リノール酸によるアディポサイトカイン産生調節を介した病態発症改善機能に関する研究)

Conjugated linoleic acid (CLA) refers to a mixture of positional and geometric isomers of linoleic acid with conjugated double bonds. CLA contains found in meat and dairy products, such as beef, milk, and processed cheese. Recent studies have shown that CLA has beneficial physiological effects on the onset of metabolic syndromes.

In the present study, we explored the physiological functions of dietary CLA and its isomers on the development of lifestyle-related diseases by using obese/diabetic animal models, OLETF rats and Zucker rats. The results showed that dietary CLA, especially the 10t, 12c-CLA isomer, suppressed the accumulation of abdominal adipose tissue and lipids in the liver and serum of obese OLETF rats. We also demonstrated for the first time a hypotensive effect of CLA and its isomer. The 10t, 12c isomer of CLA suppressed the development of hypertension during the onset of obesity through the lowered secretion of hypotensive adipocytokines from abdominal adipose tissues in OLETF rats. In diabetic Zucker rats, feeding a CLA mixture enhanced plasma adiponectin level, alleviated hyperinsulinemia, and prevented the development of hypertension. In addition, in non-obese spontaneously hypertensive rats (SHRs), dietary CLA suppressed the development of non-obese essential hypertension through the increase of plasma adiponectin level and the alleviation of membrane abnormality in SHRs. It indicates that dietary CLA prevents the development of hypertension not only in obese animals but also in non-obese hypertensive animals.

In addition, in the CLA-fed Zucker rats, the adiponectin concentration was increased and the mRNA expression of tumor necrosis factor- α , an inflammatory cytokine, was markedly suppressed in the liver. These alterations might be contributed to the prevention of the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Furthermore, dietary CLA lowered tumor necrosis factor- α content and altered gene expressions related to lipid metabolism and insulin sensitivity in the skeletal muscle of Zucker rats.

In conclusion, we found that dietary CLA can alleviate the risk of the lifestyle-related diseases through the regulation of adipocytokine production.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	井 上 奈 穂
審査委員	主査 佐賀大学 教授 柳田 晃良
	副査 宮崎大学 教授 窄野 昌信
	副査 佐賀大学 助教授 濱 洋一郎
	副査 鹿児島大学 教授 林 国興
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
審査協力者	
題 目	共役リノール酸によるアディポサイトカイン産生調節を介した病態発症改善機能に関する研究 (Studies on alleviation of the common diseases by conjugated linoleic acid through the regulation of adipocytokine production)
<p>先進諸国において高脂血症、動脈硬化、糖尿病、高血圧などの生活習慣病は年々増加の一途をたどっており、心血管疾患の増加の一端を担っている。これら生活習慣病の発症機構については未だ明らかでない点も多いが、脂質代謝異常が関与することが示唆されている。その発症予防には食品成分の生体調節機能を活用する試みが行われており、なかでも食事脂質の質が脂質代謝に影響を与えることが注目されている。これらの観点から、近年、共役リノール酸の生理作用に興味が集まっている。</p> <p>共役リノール酸 (Conjugated linoleic acid; CLA) は必須脂肪酸であるリノール酸の位置および幾何異性体で、共役二重結合を持つことを特徴とする脂肪酸の総称である。CLA は主に、牛や羊などの反芻動物の食肉中や乳製品に比較的多く含有される。これまで、CLA は抗ガン作用や抗肥満作用、抗動脈硬化作用などの生理機能が報告されているが、未だ明らかになってない点も多い。そこで、肥満モデル OLETF ラットを用いて、CLA 異性体の抗肥満・抗高脂血症作用について検討した。その結果、10t,12c-CLA 異性体が抗肥満・抗高脂血症作用を発揮することが確認され、その作用機序については mRNA 発</p>	

現の調節を介した脂肪酸 β 酸化系の亢進と脂肪酸合成系の抑制が関与していることが示唆された。

CLAには広範な生理機能が報告されているにもかかわらず、高血圧への影響に関する知見は報告されていない。本研究において、CLA混合物あるいは10t,12c-CLA異性体摂取がOLETFラットおよびマルチプルリスクファクター症候群疾患モデルZuckerラットの肥満誘発性高血圧に対して抑制作用を示すことを初めて見出した。その作用機序としては内臓脂肪組織中の昇圧性アディポサイトカインの産生の抑制、および高血圧の危険因子であるインスリン抵抗性を改善するアディポネクチンの産生亢進によることが示唆された。また、Zuckerラットで認められる2型糖尿病患者や肥満症患者と共通の疾患、非アルコール性脂肪肝(NAFLD)に対して、CLA摂取は肝臓アディポネクチン濃度の増加と炎症性サイトカインTNF- α mRNA発現量の抑制を介して、発症と進行を抑制することを示唆した。さらに、糖代謝・脂質代謝において重要な役割をもつ骨格筋においても、CLA摂取はTNF- α 蓄積を抑制し、脂質代謝およびインスリン感受性遺伝子発現を変動させることが示された。CLAの血圧上昇抑制作用は非肥満性の本態性高血圧モデルSHRにおいても認められ、その一因として、血漿アディポネクチン濃度の上昇と膜脂質組成の変動が関与していることが示唆された。

以上のように、本研究において、共役リノール酸による病態発症改善作用はアディポサイトカインの産生調節を介して発揮されることが示唆された。本研究成果は、学位論文として十分価値のあるものと判断した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	井上 奈穂
審査委員	主査 佐賀大学 教授 柳田 晃良
	副査 宮崎大学 教授 窄野 昌信
	副査 佐賀大学 助教授 濱 洋一郎
	副査 鹿児島大学 教授 林 国興
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
審査協力者	
実施年月日	平成 19 年 1 月 12 日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） <input type="checkbox"/> 口答・筆答	
<p>主査および副査は、平成19年1月12日の公開講演会において学位申請書に対して、学位申請論文の内容について説明を求め関連事項について設問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。以上の結果から、審査委員会は申請者が学位（農学）の学位をうけるに必要な十分な学力並びに識見を有数と認めた。</p>	

学位申請者 氏名	井上 奈穂
<p>[質問1] OLETFラットの実験ではCLA異性体を用いて実験を行い、10t,12c-CLAが活性本体であった。それに対し、ZuckerラットおよびSHRを用いた実験ではCLA混合物を用いていた。見られた生理作用の活性本体は？</p> <p>[回答1] 10t,12c-CLA異性体だと考えられる。</p> <p>[質問2] 10t,12c-CLA異性体は天然に存在している量は非常に少ない。生活習慣病の予防・改善に食品として摂取することは難しいのでは？</p> <p>[回答2] 確かに天然に存在している量は少ないが、工業的に合成することが可能なので、サプリメントとして摂取可能である。</p> <p>[質問3] オレイン酸は食事油脂としては中性。SHRの実験でオレイン酸が悪いと言っているようだが…。</p> <p>[回答3] オレイン酸が悪いと言っているのではなく、SHRの高血圧発症の一因として、細胞膜中のオレイン酸の蓄積が一因ではないかという報告があるため、リン脂質中の脂肪酸組成を分析した。</p> <p>[質問4] Zuckerラットの実験CLA摂取により血中アディポネクチン濃度が上昇し、血中グルコース濃度が低下した。GLUT4についてはどうだった？</p> <p>[回答4] CLA摂取によるGLUT4 mRNA発現への影響は認められなかった。GLUT4のトランスロケーションによる糖取り込みの上昇が効いているのではないかと考えている。</p> <p>[質問5] OLETFラットの実験でSREBP-1とFASの主従関係はどうなっているのか？CLAがFASに直接効いているということは考えられないのか？</p> <p>[回答5] スライドでも示していたとおり、CLA摂取によってSREBP-1 mRNA発現が低下して、その結果、FAS mRNA発現が低下したと考えている。</p> <p>[質問6] Zuckerラットの実験で対照群の食事脂質はハイリノールサフラワー油を用いているが、これをリノール酸にしたら結果が変わってくるのではないのか？</p> <p>[回答6] 元々、CLAはハイリノールサフラワー油から作られているので、対照群をハイリノールサフラワー油とし、それをCLAと置き換えた。</p> <p>[質問7] アディポネクチンはどのようにして合成されるのか？アディポネクチンmRNA発現亢進のメカニズムは？</p> <p>[回答7] アディポネクチンはPPARγの制御下にある。CLAがPPARγのリガンドとして作用することが報告されているので、CLAがPPARγのリガンドとなってアディポネクチン mRNA発現が亢進し、その結果、血中レベルが上昇する。</p> <p>[質問8] 用いたCLAの形態はFree（遊離型）またはエチルエステル型か。</p> <p>[回答8] 用いたのはFree（遊離型）です。</p> <p>[質問9] 9ct-CLAと10tc-CLAの構造の違いと生理作用の関係は？</p> <p>[回答9] 以前、本研究室で9ct-CLAと10tc-CLAが等量含まれるCLA混合物をOLETFラットに与えた実験で、臓器によって取り込まれる9ct-CLA、10tc-CLAの量が異なっていた。生理作用に関係しているのではと考えている。</p> <p>[質問10] 結論で、CLAが生活習慣病の予防と改善に有効である、としているが、今回、実験に用いているのは病態モデルである。「予防」というのは正常な状態から病態へと移行するのを抑えるという意味ではないのか。どういう意味で「予防」という言葉を用いたのか？</p> <p>[回答10] 確かに、今回実験に用いたのは病態モデルだが、病態の発症および進行に対してCLAが抑制的に働くことから「予防」という言葉を用いた。</p> <p>[質問11] OLETFラットの実験で終体重、摂食量に変動はない。しかし、白色脂肪組織重量が減少している。代わりに何が増えたのか？</p> <p>[回答11] 筋肉量が増えていると考えられる。</p>	