

学 位 論 文 要 旨

氏 名 岡部 貴史

題 目 生活習慣病の改善に関する沖縄特産物の食品機能学的研究
(Nutraceutical studies of Okinawan bioresources for the regulation of life-style related diseases)

天然の生理活性成分の摂取は、粥状硬化症や肥満等の生活習慣病に対する安全で有効な対策となる事が期待されている。本研究では、沖縄県の亜熱帯生物資源を活用した抗粥状硬化病変及び肥満の制御について検討した。

始めに、実験的粥状硬化症に及ぼす沖縄黒糖の生理作用について日本ウズラをモデル動物として検討した。まず、黒糖もしくは白糖を混合した 7 種類の粥状硬化惹起飼料を日本ウズラに 12 週間投与し、白糖との比較をおこなった。黒糖摂取は日本ウズラの血清脂質濃度には影響しないが、粥状硬化病変の進展を抑制した。次いで、黒糖に含まれる抗動脈硬化成分を明らかにするため、黒糖中のフェノール性化合物とワックス成分 (ポリコサノール) を抽出し、粥状硬化病変の進展におよぼす影響について調べた。両成分の中、フェノール性化合物が血清中の脂質酸化を軽減することで血管壁への脂質沈着を低下させ、粥状硬化病変の進展を抑制することが示唆された。

次に、沖縄薬草ボタンボウフウの抗肥満効果について検討した。ボタンボウフウは伝承的に抗肥満効果があるとされているが実験的にこれを証明した報告はない。本研究においては、ボタンボウフウ混合高脂肪食を C57BL/6 マウスに 4 週間投与し、抗肥満作用を検証した。ボタンボウフウ投与は用量依存的にマウスの体重、各脂肪組織重量、血清および肝臓のトリグリセリド (TG) 濃度を減少させた。糞中への TG 排せつ量はボタンボウフウ群で増加しており、脂質吸収抑制が抗肥満作用に寄与している可能性が示された。さらに、ボタンボウフウ摂取は肝臓の脂肪酸合成酵素活性を抑制する一方において β 酸化系の酵素活性を上昇させ、脂肪酸異化を亢進させていることも示唆された。以上の成果から、ボタンボウフウは肥満や高脂血症の改善に有効であることが初めて実験的に確認された。

最後に、ボタンボウフウの抗粥状硬化作用について動脈硬化モデルマウス B6.KOR-*ApoE*^{shl} を用いて検証した。ボタンボウフウは B6.KOR-*ApoE*^{shl} マウスにおいて、C57BL/6 マウスの場合と同様に脂肪蓄積を抑制するが、動脈硬化の進展には影響を及ぼさないことが明らかになった。

学 位 論 文 要 旨

| | |
|-----|---|
| 氏 名 | Takafumi Okabe |
| 題 目 | Nutraceutical studies of Okinawan bioresources for the regulation of life-style related diseases. (生活習慣病の改善に関する沖縄特産物の食品機能学的研究) |

Supplementation of the diet with natural agent is one of the effective management of life style related disease such as atherosclerosis and obesity. The aim of this study is therefore the regulation of atherosclerosis and obesity by supplementation of the diet with Okinawan herb and food.

The first study investigated the effect of Kokuto on the development of atherosclerosis in Japanese quail. The animals were fed the atherosclerotic diet (AD) containing 30% sucrose or the cane sugar of Kokuto. Kokuto intake notably inhibited the development of atherosclerosis without affecting the serum lipid level. Kokuto contained appreciable amount of phenolic compound and higher alcohol besides sucrose. To identify the food component responsible for the anti-atherogenic activity, quail were fed AD with sucrose, Kokuto, phenolic compounds (PCs), wax (both extracted from Kokuto), and octacosanol. Supplementation of the diet with Kokuto or PCs significantly reduced the development of atherosclerosis. This finding suggests that PCs play a central role for the inhibition of the experimental atherosclerosis by Kokuto.

The second study examined the anti-obesity activity of Okinawan herb *Peucedanum japonicum Thunb* (PJT) in C57BL/6 mice. C57BL/6 mice were fed the high-fat diets containing 0-20% PJT powder for 4 weeks. PJT reduced the deposition of abdominal and subcutaneous fats, and serum and liver triglyceride levels with dose-dependent manner. There was an increased fecal excretion of triglyceride in 5% and 10% PJT diet groups. Fatty acid synthase activity was decreased while carnitine palmitoyltransferase activity was increased by 10% PJT intake. These findings pointed the potential of PJT for the development of safe natural agent to reduce obesity.

Finally, we studied the effect of PJT on the development of atherosclerosis in the mutant atherosclerosis model mice B6.KOR-*ApoE*^{shl}. No significant difference in the degree of atherosclerosis was noted between control and PJT diet group. However, PJT intake decreased the abdominal fat accumulation in B6.KOR-*ApoE*^{shl} mice as was the case for the normal strain of C57BL/6 mice.

| 学位論文審査結果の要旨 | |
|---|--|
| 学位申請者 氏 名 | 岡部貴史 |
| 審査委員 | 主査 琉球大学教授 屋 宏典 |
| | 副査 琉球大学教授 和田浩二 |
| | 副査 佐賀大学教授 柳田晃良 |
| | 副査 鹿児島大学教授 林 國興 |
| | 副査 琉球大学教授 金城一彦 |
| 審査協力者 | 琉球大学准教授 戸田隆義 |
| 題 目 | 生活習慣病の改善に関する沖縄特産物の食品機能学的研究 (Nutraceutical studies of Okinawan bioresources for the regulation of life-style related diseases) |
| <p>生活習慣病とは、食生活のみだれ、運動不足、喫煙、飲酒等によって発症する疾患群の総称であり、代表的な症状として、肥満症、糖尿病、高脂血症、高血圧が挙げられる。近年、生活習慣病はメタボリックシンドローム（内臓脂肪症候群）という新たな概念で捉えられており、日本を含む先進諸国ではその改善が国民健康の増進だけでなく医療費を低減する上でも緊急の課題となっている。</p> <p>本研究では、生活習慣病に対する安全で有効な対策となる事が期待されている天然の生理活性成分、とりわけ沖縄県の特産物（黒糖及びボタンボウフウ）に含有される有効成分に着目し、これらを活用した肥満及び粥状硬化病変の食品機能学的制御について検討した。</p> <p>始めに、実験的粥状硬化症に及ぼす沖縄黒糖の生理作用について日本ウズラをモデル動物として検討した。まず、黒糖もしくは白糖を混合した7種類の粥状硬化惹起飼料を日本ウズラに12週間投与し、白糖との比較をおこなった。黒糖摂取は日本ウズラの血清脂質濃度には影響しないが、粥状硬化病変の進展を抑制した。次いで、黒糖に含まれる抗粥状硬化成分を明らかにするため、黒糖中のフェノール性化合物とワックス成分（ポリ</p> | |

コサノール) を抽出し、粥状硬化病変の進展におよぼす影響について調べた。両成分の中、フェノール性化合物が血清中の脂質酸化を軽減することで血管壁への脂質沈着を低下させ、粥状硬化病変の進展を抑制することが示唆された。

次に、沖縄薬草ボタンボウフウの抗肥満効果について検討した。ボタンボウフウは伝承的に抗肥満効果があるとされているが実験的にこれを証明した報告はない。本研究においては、ボタンボウフウ混合高脂肪食を C57BL/6 マウスに4週間投与し、抗肥満作用を検証した。ボタンボウフウ投与は用量依存的にマウスの体重、各脂肪組織重量、血清および肝臓のトリグリセリド (TG) 濃度を減少させた。糞中への TG 排せつ量はボタンボウフウ群で増加しており、脂質吸収抑制が抗肥満作用に寄与している可能性が示された。さらに、ボタンボウフウ摂取は肝臓の脂肪酸合成酵素活性を抑制する一方において脂肪酸酸化を亢進させていることも示唆された。以上の成果から、ボタンボウフウは肥満や高脂血症の改善に有効であることが初めて実験的に確認された。

最後に、ボタンボウフウの抗粥状硬化作用について粥状硬化モデルマウス B6. KOR-*ApoE^{sh1}* を用いて検証した。ボタンボウフウは B6. KOR-*ApoE^{sh1}* マウスにおいて、C57BL/6 マウスの場合と同様に脂肪蓄積を抑制するが、粥状硬化への影響は明確ではなかった。

以上の結果は沖縄特産物の抗粥状硬化或いは抗肥満作用に関する基礎知見を提供しており、社会経済問題へと近年発展しつつある生活習慣病の改善に大きく貢献することが期待される。よって、本論文は博士 (農学) の学位を授与するに値する業績と判断した。

| 最終試験結果の要旨 | |
|---|-----------------|
| 学位申請者 氏名 | 岡部貴史 |
| 審査委員 | 主査 琉球大学教授 屋 宏典 |
| | 副査 琉球大学教授 和田浩二 |
| | 副査 佐賀大学教授 柳田晃良 |
| | 副査 鹿児島大学教授 林 國興 |
| | 副査 琉球大学教授 金城一彦 |
| 審査協力者 | 琉球大学准教授 戸田隆義 |
| 実施年月日 | 平成23年1月13日 |
| 試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) (口答)・筆答 | |
| <p>主査、副査及び審査協力者は、平成23年1月13日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。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。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士(農学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p> | |

| | |
|---|------|
| 学位申請者 氏名 | 岡部貴史 |
| <p>質問1：黒糖の抗粥状硬化作用はフェノール性化合物による脂質過酸化の抑制によるものと説明されていますが、その他のメカニズムについては？</p> <p>回答1：抗酸化物質は血管への単球接着の阻害や平滑筋細胞の増殖を抑制することが示されていますので、細胞培養試験等を用いて、黒糖フェノール性化合物の単球接着および平滑筋細胞の増殖に及ぼす影響について検証する必要があると考えています。また、ワックス抽出物にも抑制効果が見られたため、これらの成分が補助的に粥状硬化症を抑制したと考えています。</p> <p>質問2：ボタンボウフウの抗肥満試験で、エネルギー摂取量は群間で同一ですか？</p> <p>回答2：ボタンボウフウの栄養成分組成を同一になるように調整した上でペアフィーディングを行い、エネルギー摂取量が同一となるよう設定いたしました。</p> <p>質問3：ボタンボウフウの抗肥満試験で、一日当たりの脂質摂取量と糞中のトリグリセリド排せつ量の整合性が取れないようですので、もう一度<i>In vivo</i>で吸収阻害が起きているかについて検証する必要があるのではないのでしょうか？</p> <p>回答3：吸収量については、再度検証したいと思います。</p> <p>質問4：ボタンボウフウは肝臓の脂質代謝系に作用しているようですが、その作用機序および有効成分の同定はされていますか？</p> <p>回答4：肝臓の脂質代謝に関連する遺伝子のmRNA発現量を現在分析しています。今後、有効成分を特定するため、抽出物および単一成分の投与試験を順次おこなっていく予定です。</p> <p>質問5：ボタンボウフウの抗粥状硬化試験では、ボタンボウフウ粉末ではなく水溶性成分および脂溶性成分を抽出して投与したほうがよいのではないのでしょうか？</p> <p>回答5：はい、今後実施したいと考えております。</p> <p>質問6：黒糖ワックス成分に含まれるアルデヒド（ポリコサナール）の機能性に関する報告はありますか？</p> <p>回答6：粥状硬化抑制に関するポリコサナールの報告はありませんが、本研究ではワックス抽出物の投与により粥状硬化病変の発生進展が抑制されましたので、何らかの機能が期待されると考えています。</p> <p>質問7：ボタンボウフウに含まれるクロロゲン酸とルチンには脂質の吸収阻害作用があるのでしょうか？</p> <p>回答7：クロロゲン酸とルチンは脂質の吸収ではなく、肝臓の脂質代謝に影響するという報告があります。</p> <p>質問8：ボタンボウフウのクロロゲン酸とルチン含量は高いのでしょうか？</p> <p>回答8：ご指摘のとおり高いと判断しています。</p> <p>質問9：ボタンボウフウは通常どのようにして食べますか？また、葉っぱや茎で成分含量に違いはありますか？</p> <p>回答9：沖縄県では葉っぱや茎をおひたしやお茶等にして食しています。今回、葉っぱと茎の成分含量の違いについては分析しておりません。</p> <p>質問10：今回使用したボタンボウフウサンプルはどの部位を使用しましたか？</p> <p>回答10：ボタンボウフウの葉と茎をまとめて粉末化したものを使用しました。</p> | |

質問 1 1 : ポリフェノールにはビタミンEの補償作用があり、血中濃度を上昇させることが知られております。今回の黒糖フェノール性化合物の作用機序もビタミンEを介した効果ではないでしょうか？

回答 1 1 : そのような可能性もあると考えられます。

質問 1 2 : 黒糖Aのポリコサノール含量が他の黒糖に比べて高いのはなぜですか？

回答 1 2 : 製造方法の違いによるものです。

質問 1 3 : ボタンボウフウの抗粥状硬化試験で、ボタンボウフウ投与により肝臓重量が増えていましたが、肝機能に関する分析は行ないましたか？

回答 1 3 : 肝臓におけるコレステロール代謝関連遺伝子のmRNA発現量を測定し、ボタンボウフウ投与によりCYP7A1発現の低下によりコレステロールの胆汁酸への異化が抑制されたことが示唆されました。

質問 1 4 : 粥状硬化惹起条件の最適化試験にて、飼育8週の0%群における血清TG値がコレステロール添加群よりも高いのはなぜですか？

回答 1 4 : TG濃度は摂食時間の影響を受けやすく、血清脂質濃度は絶食後に測定しましたが、絶食前の摂食時間の差を反映した実験誤差の可能性があると考えています。

質問 1 5 : 実験で使用した黒糖のフェノール性化合物の組成はどうなっていますか？

質問 1 5 : 今回使用した7種類の黒糖に含まれるフェノール性化合物の組成は分析しておりません。

質問 1 6 : 本研究では、生のボタンボウフウをマウスに投与しましたか？

回答 1 6 : ボタンボウフウの茎と葉っぱを凍結乾燥して粉末化したものを投与しました。

質問 1 7 : ボタンボウフウの抗粥状硬化試験で、血清コレステロール値は上昇していて、血清トリグリセリド濃度は減少しているのはなぜですか？

回答 1 7 : ボタンボウフウの抗粥状硬化試験では、血清コレステロールおよびトリグリセリド濃度はともに上昇しました。この血清脂質濃度の上昇が、マウスの系統によるものか、食餌コレステロール添加の影響なのか明らかではありません。

質問 1 8 : 食餌中にコール酸は混合しましたか？

回答 1 8 : コール酸は添加しておりません。

質問 1 9 : ボタンボウフウの粥状硬化試験で脂肪肝が認められましたが、ボタンボウフウ投与がPPAR α とPPAR γ の遺伝子発現に影響しているのではないかと？

回答 2 0 : 肝臓におけるPPAR α とPPAR γ のmRNA発現量にはボタンボウフウ投与による影響はありませんでしたので、その可能性は低いと考えられます。