

(第5号様式)

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Bhattarai Keshab
審査委員	主査 岸田 太郎 副査 松尾 達博 副査 菅原 卓也 副査 吉井 英文 副査 受田 浩之

論文名

Nutritional and physiological effects of soy isoflavone and the mechanisms  
(大豆イソフラボンの栄養・生理効果とその機構)

審査結果の要旨

肥満および高脂血症は、高血圧や糖尿病等との因果関係も指摘され、ともに様々な健康問題の重要な危険因子と認識されている。重篤な場合には医療処置に頼らざるを得ないが、運動や健康的な食事による予防が望まれている。食事成分によるこれらの疾病予防の研究も多数なされており、食物繊維や植物ステロール、ポリフェノールが有効である可能性が報告されている。こうした中、大豆の摂取が肥満および高脂血症の予防に有効である可能性が多くの研究により指摘されている。大豆の多くの成分の中で、これらの疾病予防に寄与する可能性のあるものとして大豆タンパク質とともに大豆イソフラボンが挙げられている。大豆イソフラボンはポリフェノールの一種で、主にダイゼインおよびゲニステインからなる。抗酸化性、エストロゲン性および抗エストロゲン性を持つことが知られている。抗肥満についてはほとんど知見が無く、抗高脂血症については大豆タンパク質との相互作用による効果が検討されていたが、先に大豆イソフラボンを高含有する発酵脱脂大豆エタノール抽出物 (FSBE) が、雌ラット特異的に抗肥満効果、コレステロール低下効果を持つことが見出された。FSBE は大豆タンパク質を含まないが、大豆イソフラボン以外の成分も多数含んでおり、大豆イソフラボンも主にダイゼインとゲニステインの混合物である。これについて純粋な大豆イソフラボン・ダイゼインおよびゲニステインを用い、抗肥満効果およびコレステロール低下効果を検証し、その作用機構を探った。FSBE 摂取時には血中にダイゼイン及びゲニステインは高濃度に存在せず、ダイゼインの腸内細菌代謝物エコールのみが高濃度で存在したため、特にダイゼインに着目して検討を行った。

まず抗肥満効果について、コレシストキニン (CCK) 感受性欠損またはレプチン感受性欠損により過食性の肥満を引き起こす OLETF ラットおよび Zucker *fa/fa* ラットの雌を用いた。両ラット種とも卵巣摘出術または偽手術を施したものそれぞれについて、ダイゼインの混餌投与の影響を調べた。また同様の実験をそれぞれのラット種の原生種である LETO ラットおよび Zucker +/+ラットにおいても行った。OLETF ラットについては、LETO と同様にダイゼインの摂取による有意な飼料摂取量低下および体重増

加抑制が認められた。卵巣摘出するとその効果は減弱したが、同様の傾向は見られた。Zucker *fa/fa* ラットにおいては、卵巣摘出を行った場合のみダイゼインの効果は認められた。血清エコール濃度は OLETF および LETO ラットでは、多くの実験で用いられており我々も FSBE の実験で用いた SD ラットに比べて低いレベルであり、Zucker *fa/fa* および+/+ラットではさらに低いレベルとなった。また、卵巣摘出を施すことによりさらに低いレベルとなった。以上よりダイゼインが雌ラットの飼料摂取量を低下させ体重増加を抑制していることが明らかになり、さらにこの効果に CCK およびレプチンによる食欲抑制シグナルは関与していないことが明らかになった。

飼料摂取量低下の作用機構を検討するために、ダイゼイン摂取により雌ラットの飼料摂取量が低下している際の食欲制御因子の変動をプロファイリングした。摂取エネルギーの過不足を感知した消化管や脂肪組織がホルモンや神経系を介して視床下部にその情報を伝え、食行動が抑制又は促進されることによりエネルギー恒常性が保たれている。これについて視床下部、消化管の食欲制御因子の遺伝子発現を調べた。ラットは通常自由摂取下で飼育され、その摂食タイミングには大きな個体差がある一方先のエネルギー恒常性を維持する機構は飼料摂取に対し刹那的に応答しており、自由摂取下でプロファイリングすることは難しい。そこで摂食タイミングの同期を図り 1 日 3 回、一定時刻にそれぞれ 1 時間だけ自由摂取させる 3 食制を導入し、食事前後の各種遺伝子発現をプロファイリングした。ラットは SD ラットを用いた。ダイゼイン摂取による飼料摂取量の低下は 2 食目においてのみ見られ、この際視床下部においては食欲促進因子であるニューロペプチド Y 遺伝子発現の食後の上昇をダイゼインが抑制し、同じく食欲促進因子であるガラニンの遺伝子発現にも同様の傾向が見られた。食欲抑制因子であるコーチコトロピン放出ホルモンの遺伝子発現はダイゼイン摂取により食後に有意に上昇した。小腸粘膜の CCK 遺伝子発現は食前に有意に上昇し、食後に上昇傾向を示した。どのタイミングにおいても血清エコール濃度は非常に高かったが、ダイゼインはほとんど検出されなかった。以上よりダイゼインがエコールに代謝されて視床下部の食欲制御因子を変更することにより飼料摂取量を低下させることが明らかになった。小腸粘膜の CCK については先の OLETF ラットの実験で CCK シグナルの関与が否定されているため、作用に関与している可能性は低く、ダイゼインもしくはエコールがいかにして視床下部遺伝子発現を変更しているかはまだわからない。

コレステロール低下効果については雌の SD ラットをそのまま、または卵巣摘出術を施して用いた。このラットにダイゼイン、ゲニステイン又はこの両方を混餌投与し 4 週間飼育し血清コレステロール濃度低下を観察した。ダイゼインはゲニステインとの併投与とも、卵巣摘出術の施術の有無とも独立して血清コレステロール濃度を有意に低下させ、肝臓の遊離コレステロール含量も同様に低下させた。また糞中胆汁酸排泄も有意に増加させた。糞中胆汁酸はコレステロールの最大の排泄経路でありその排泄増加はコレステロール低下作用と密接に関与していると考えられており、作用機構を説明しよう。しかし肝臓の遺伝子発現解析ではコレステロールより胆汁酸を合成する経路のいずれの酵素の遺伝子発現も変化しておらず、実際にコレステロールが消費されているかは断定できなかった。この他肝臓のアポリポタンパク質 (ApoB) 遺伝子発現がダイゼインの摂取により有意に増加した。ApoB は超低密度リポタンパク質 (VLDL) の構成要素であり、VLDL の分泌は血中コレステロール濃度を制御する重要な要素である。しかし、肝臓のコレステロール含量の低下を反映した結果である可能性も否定できない。以上よりコレステロール低下作用をもたらしているのはダイゼインであり、ゲニステインにはその効果もダイゼインに対する相互作用も無いことが明らかになった。作用機構は解明に至っていないものの、胆汁酸排泄促進による機構や、VLDL 分泌の低下による機構が示唆された。

以上一連の結果から大豆イソフラボン・ダイゼインが腸内細菌によりエコールに代謝され、抗肥満効果およびコレステロール低下作用をもたらすことが明らかになり、両効果の作用機構の一端も明らかにされた。さらなる検討により作用機構が明示されればヒトの健康栄養への利用も期待される。

学位論文の公開審査会は 2017 年 8 月 5 日高知大学農林海洋科学部で実施され、口頭発表と質疑応答が行なわれた。続いて学位論文審査委員会を開催して本論文の内容を審査した。その結果、全員一致して本論文が博士 (農学) の学位を授与するに値するものと判定した。