

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Adhikari Sudhashree
審査委員	主査 岸田 太郎
	副査 松尾 達博
	副査 菅原 卓也
	副査 足立 亨介
	副査 丸山 広達

論文名

Effects of daidzein and its metabolite on lipid and glucose metabolism
(ダイゼインおよびその代謝物が脂質・糖代謝に与える影響)

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。これまでに申請者の研究室においてダイゼインが抗肥満効果およびコレステロール低下効果を持つことが明らかになっている。本研究ではこれらの作用機構の解明を中心として検討を行った。

コレステロール低下効果の検討については、飼料を血清コレステロール濃度が通常の飼料 (AIN-93 組成) に比べ高くなる高スクロース食とし、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。卵巣摘出はエストロゲン欠乏により肥満、高脂血症の症状を亢進させることが知られている。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、肝臓の総コレステロール含量も同様に低下させた。この際、血清のコレステロール前駆体のプロファイル調べたところ、ラソステロール、デスモステロール、スクアレン他の前駆体の濃度が、ダイゼインの摂取により有意に低下していた。また、肝臓のコレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA レダクターゼの遺伝子発現も有意に低下していたことから、コレステロール低下作用は、ダイゼインがコレステロール合成を低下させることによりもたらされていることが示唆された。以前申請者の研究室で報告している通常の飼料での飼育の場合と異なり、ダイゼイン摂取による糞中胆汁酸排泄量の増加は見られず、胆汁酸合成の律速酵素である CYP7A1 の遺伝子発現は

ダイゼインの摂取によりむしろ有意に低下した。この低下は先に述べた、胆汁酸の原料であるコレステロール合成の低下を反映していると推測された。

大豆イソフラボンの摂取が糖代謝にもたらす影響についてはまだ知見がほとんどない。そこで本研究ではダイゼインについて、緩和な体脂肪の増加をもたらす高スクロス・高脂肪飼料摂取時において検討した。ラットはコレステロール低下作用の検討時と同様に雌の 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を 35 日間混餌投与した。ダイゼインは試料摂取量を有意に低下させ、体重、脂肪組織重量を有意に低下させた。14 日目と 28 日目に経口耐糖性試験を行ったところ、飼育日数によらず、ダイゼインは絶食時血糖値および曲線下面積値を有意に低下させた。最終日の血清インスリン濃度はダイゼイン摂取により有意に低下していたが、血清グルコース濃度に有意差は見られなかった。血清および肝臓の中性脂肪濃度はダイゼイン摂取により有意に減少していた。肝臓の遺伝子発現の解析から、ダイゼインがエネルギー摂取の低下を介して耐糖性を改善していることが示唆された。またこの際、消化管のプレプログルカゴンの遺伝子発現がダイゼイン摂取により有意に増加していた。プレプログルカゴンはエネルギー摂取を負に制御するホルモンである GLP-1 の前駆体である。

先に述べたダイゼイン摂取によるコレステロール低下作用や、これまで報告されてきた飼料摂取量低下作用が観察された際、血中にはダイゼイン自体はほとんど存在せず、腸内細菌代謝物であるエコールが高濃度で存在することが明らかになっている。しかし、エコールが体内でどのように分布しているかは不明である。作用機構を考える上で体内分布は非常に重要である。体内分布の検討についても雌の 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を 7 日間混餌投与し、血液、胆汁、尿、糞のエコール濃度を測定した。血液の 1000 倍以上の濃度のエコールが胆汁中に存在した。血液にも胆汁にもダイゼインはほとんど存在しなかった。尿や糞にはダイゼインもエコールの半分の濃度が検出された。以上からダイゼインは腸内細菌で代謝されエコールとなった後、その多くが腸肝循環、すなわち吸収され肝臓に至った後胆汁成分として消化管に再び分泌されることを繰り返し、腸肝循環から漏れ出たものが血液や尿、糞に存在していることが示唆された。

本研究で見出されたダイゼイン摂取による耐糖性改善も、以前から見出されている飼料摂取量低下作用によりもたらされている可能性が高い。飼料摂取量低下作用の作用機構解明の一助として、ダイゼインが胃排泄に及ぼす影響について検討した。胃排泄が遅延し、胃内容物が残れば、次の食餌タイミングでの飼料摂取量は低下する。これについて、卵巣摘出 SD ラットを用い、一日 3~6 時間のみに食事時間を制限した食餌様式、あるいは 1 日 2 回食餌時間 1 時間のみに制限した食餌様式 (2 食制) にラットを馴化させ、5 日間飼育し、ダイゼインの飼料摂取量に与える影響を観察し、最終日に胃排泄を測定した。3~6 時間制限食餌では、4 時間の時に最もダイゼインによる飼料摂取量低下が顕著にみられた。ダイゼイン摂取による胃排泄の遅延はいずれの制限時間でも見られたが、3 時間が一番顕著であった。2 食制においてはダイゼイン摂取による飼料摂取量低下が 2 回目の食餌においてのみ見られ、この時の胃内容物排泄は有意に遅延していた。この効果は部分胃切除術により胃内容物の貯留を大幅に制限したラットでは見られなくなった。以上からダイゼイン摂取による胃排泄の遅延により飼料摂取量の低下がもたらされていることが示唆された。

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、コレステロール低下作用および耐糖性改善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 2020 年 2 月 8 日愛媛大学農学部で実施され、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。