

氏 名 : 片 岡 沙 織

学 位 の 種 類 : 博士 (健康科学)

学 位 記 番 号 : 研博第 37 号

学位記授与年月日 : 平成 29 年 3 月 9 日

学位授与の要件 : 学位規則第 4 条 1 号該当

論 文 題 目 : Studies on effects of plant polyphenol-containing extracts intake during lactation on the obesity-related metabolism in adult rat offspring predisposed by maternal nutritional status

(妊娠期や授乳期の栄養状態により生じる成長後の仔ラットの肥満関連代謝に及ぼす授乳期に摂取する植物ポリフェノール含有抽出物の影響に関する研究)

論 文 審 査 委 員 : 主査 佐 藤 伸

副査 吉 岡 美 子

副査 蔵 崎 正 明

論 文 内 容 の 要 旨

I はじめに

肥満が耐糖能異常や慢性腎臓病等の危険因子であることはよく知られている。一方、近年、胎児や新生児の低栄養や過栄養は、成長後の肥満や 2 型糖尿病等の発症と関連していることが知られてきた。

一般に、植物由来のポリフェノール類やこれを含む抽出物は、抗肥満、抗炎症、抗酸化等の作用を有する。例えば、東南アジアで広範に栽培され、食用とされているメリンジョ (*Gnetum Gnemon.L*) は、レスバトロール二量体を含み、リパーゼ阻害作用や抗酸化作用をもつ。またカテキン類は抗肥満、抗炎症、抗酸化等の作用を有する。しかしながら、妊娠期や授乳期に低栄養あるいは過栄養に曝された母体の、発育初期に摂取する植物ポリフェノール類や、これを含む抽出物が、成長後の子の肥満に関連する代謝に及ぼす影響に関する知見はほとんどない。

そこで本研究では、妊娠期や授乳期に低栄養あるいは過栄養に曝された母体の授乳期に、メリンジョや緑茶の抽出物を摂取させ、成長後の仔ラットの肝臓及び腎臓におけるそれらの抽出物の生理的役割を明らかにするために、実験 1 では、妊娠中に過剰のフルクトース(Fru)を与えた母ラットの授乳期に、メリンジョ抽出物(MeE)を摂取させ、その仔ラットにおいて MeE は①血中グルコース濃度を低下させるか、②肝臓中で糖や脂質代謝に関わる酵素である AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)やアセチル CoA カルボキシラーゼ(ACC)を活性化させるかについて検討した。

実験 2 では、妊娠期及び授乳期に低栄養に曝された母ラットの授乳期に、緑茶抽出物(GTE)を摂取させ、離乳後に高脂肪食を摂取した仔ラットの腎臓において GTE は、①血中グルコース濃度及び血中トリグリセリド濃度が低下させるか、②高脂肪食負荷によって生じるといわれる間質の線維化を抑制するか、③マクロファージの浸潤数や炎症関連因子の発現量を抑制するか、④DNA のメチル化に関わる DNA メチル基転移酵素(DNMT)の発現量を抑制するかを検討した。

II 研究方法と対象

【実験 1】妊娠ラット(Wistar 系)の妊娠期に 10%Fru 溶液あるいは蒸留水を与えた群を F 群あるいは C(対照)群とした。授乳期では F 群を 2 群に分け、離乳時まで 20%カゼイン(CS)食(FC 群)または 0.1%MeE 含有 20%CS 食(FM 群)を与えた。C 群には 20%CS 食を与えた(CC 群)。離乳時に雌雄仔ラットを解剖した。残りには市販の標準動物飼料(MF 飼料)を摂取させ、17 週齢時に解剖し、肝臓を採取し、血液生化学検査を行った。また AMPK 及びアセチル CoA カルボキシラーゼ(ACC)の発現や活性をウェスタンブロット法にて解析した。

【実験 2】妊娠ラット(Wistar 系)の妊娠期に 20%CS 食(C 群)あるいは 8%CS 食(LP 群)を与え、出産日に LP 群を 3 つに分け、0%(LPC 群)、0.12%(LPL 群)、0.24%(LPH 群)の GTE 含有 8%CS 食を授乳期のみに摂取させた。C 群には 20%CS 食を与えた(CC 群)。離乳後、雄性仔ラットに MF 食(C)または 45%脂肪食(F)を与え、CC-C、LPC-C、LPC-F、LPL-F 及び LPH-F の各群とした。45 週齢時に解剖を行った。腎臓の組織切片を用いてマクロファージ(M ϕ)の浸潤数や線維化面積率を測定した。トランスフォーミング増殖因子(TGF) $\cdot\beta$ 及び炎症関連因子(腫瘍壊死因子(TNF) $\cdot\alpha$ やシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2)、DNMT1 及び 3a の発現量をウェスタンブロット法やリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法にて解析した。

III 結果

【実験 1】妊娠期に過剰の Fru を摂取した母ラットの授乳期に摂取する MeE は、①3 週齢の雌性仔ラットの血中グルコース濃度を低下させる傾向があった。また、17 週齢雌性仔ラットでは、増加していた血漿中グルコースやトリグリセリド濃度を低下させた。②3 週齢の雌雄仔ラットの肝臓において、AMPK のリン酸化量が有意に高値を示し、特に雌性仔ラットでは 17 週齢においても、リン酸化量は高値であった。これらのことは、MeE 食を与えると仔ラットの肝臓中の AMPK が活性化することを示している。また、ACC のリン酸化量は MeE を摂取した 17 週齢の雌性仔ラットで増加した。このことから、活性化された AMPK は ACC をリン酸化して ACC の活性を抑制し、脂肪酸合成を低下させ

ることが示唆された。

【実験 2】妊娠期や授乳期にタンパク質を制限された母ラットの授乳期に摂取する GTE は、①高脂肪食によって増加した血漿中グルコースやトリグリセリド濃度を低下させた。②高脂肪食によって増大した腎臓の線維化領域や、 $\text{TGF-}\beta$ の発現量を低下させた。③高脂肪食によって増加した $\text{M}\phi$ 浸潤数及び $\text{TNF-}\alpha$ や COX-2 の発現量を低下させた。これらのことから、胎生期・乳児期に低栄養に曝された雄性仔ラットでは、母ラットが授乳期に摂取した GTE は、成長後の高脂肪食負荷による腎臓の線維化や炎症を軽減すると考えられた。また GTE は、④高脂肪食によって増加傾向にあった DNMT1 の発現を低下させたことから、DNA のメチル化を低下させることで、遺伝子発現を調節する可能性が示唆された。

IV 考 察

以上の結果から、母ラットが授乳期に摂取する MeE や GTE は、妊娠期や授乳期の母ラットの栄養状態によって生じる、成長後の仔ラットの肥満に関連する代謝を制御することが示唆された。

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、妊娠期や授乳期に低栄養あるいは過栄養に曝された母体の授乳期に植物ポリフェノール抽出物（メリンジョや緑茶の抽出物）を摂取させ、成長後の仔ラットの肥満関連代謝におけるメリンジョや緑茶の抽出物の生理的役割を明らかにするために行われた。その結果、授乳期に摂取するメリンジョや緑茶の抽出物は、成長後の仔ラットの肥満に関連する代謝、すなわち、糖や脂質代謝に重要な AMP 活性化プロテインキナーゼの活性を上昇させることや高脂肪食摂取により生じる腎障害を軽減することを実験的に証明し、これまでにない知見を得ることができた。

以上、上記の審査員の検討の結果、本論文は、学術的意義が高く、博士（健康科学）の学位授与に値すると判断した。