

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	高 橋 春 弥
論文題目	Studies on the identification and function of metabolites involved in peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α activation (ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) α 活性化に関与する代謝物の同定及び機能解析に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) α は脂質代謝に関わる遺伝子群の転写を制御していることから、PPARαの活性化は脂質代謝異常の改善に極めて重要である。しかし、PPARαが標的遺伝子を制御した後に生じる代謝変動の全体像は不明確な部分が多く残されている。近年ではPPARα活性化により脂質代謝異常だけでなく糖代謝異常についても改善が報告されている。本研究では、PPARα活性化により生成する成分のLC-MSを用いた定量系の確立、メタボローム解析によるPPARα活性化時の代謝物変動全体像の解明並びに変動代謝物の機能解析を目的とした。</p>			
第1章 PPAR α 活性化成分定量系の確立			
<p>当研究室でPPARα活性化成分としてトマト果実より同定された9-oxo-10(E),12(E)-octadecadienoic acidの迅速な定量系をLC-MSを用いて確立し、各品種のトマト果実中含量の検討を行った。その結果、本成分は幅広いトマト果実に含有されることを見出した。また、加工品であるトマトジュースでは構造異性体である13-oxo-9(E),11(E)-octadecadienoic acidなども含有されることを見出した。これらの成分について熱及び酸に対する安定性評価を行った結果、これらの成分が耐熱・耐酸性能を有することを見出した。</p>			
第2章 PPAR α 活性化時における生体内遊離脂肪酸プロファイル変化解析			
<p>遊離脂肪酸 (FFA) はPPARαによって制御される脂質代謝の主要代謝物であり、かつその構造の相違により多様な生理機能を有する。個々のFFA定量にはGC-MS又は酵素法を用いるのが一般的であるが、前者は前処理の煩雑性、ならびに相当量の試料確保、後者はFFA総量のみ把握という点でそれぞれ問題点がある。そこで、第1章で用いたLC-MSを用いた定量系を発展させることにより、従来法の問題点を解決した高感度かつ迅速なFFA定量系を構築することに成功した。本定量系を用いて、マウスにおけるPPARα活性化時の血中、並びにPPARαが主に発現する肝臓でのFFAプロファイル変化の解析を行った。その結果、血中及び肝臓中においてFFAプロファイルが大きく変動し、中でも一価不飽和脂肪酸が顕著に増加することを見出した。これらのFFAはPPARα活性化時の指標となることが期待される。</p>			
第3章 PPAR α 活性化により誘導されるリゾリン脂質の同定とその機能解析			
<p>PPARα活性化時の代謝変動について、FFA以外の幅広い代謝物の変動を網羅的に把握するため、PPARα活性化時のマウス血中のメタボローム解析を行った。その結果、PPARα活性化により血中リゾリン脂質、とりわけ1-palmitoyl-lysophosphatidylcholine</p>			

[LPC(16:0)]が増加することを見出し、*in vivo*及び*in vitro*系の実験よりLPC(16:0)の供給源が肝臓であることが示唆された。また、肝細胞においてPPAR α 活性化により増加したLPC(16:0)分泌量は、ホスホリパーゼの一種である*Pla2g7*の遺伝子発現を抑制することにより減少したことから、LPC(16:0)生成には*Pla2g7*が重要な役割を果たしていることが示された。さらに、インスリン抵抗性を生じた培養脂肪細胞においてリゾリン脂質が糖取込能の一部を回復させること、及び血糖値と血中リゾリン脂質濃度との間に負の相関関係があることを見出した。これらのことから、PPAR α 活性化により肝臓から供給されたリゾリン脂質が血流を介し脂肪細胞において糖取込を促進させ、高血糖状態を改善することが示唆された。すなわち、PPAR α 活性化による糖代謝異常改善にはリゾリン脂質が関与することが推察された。さらに、*in vitro*系の実験よりリゾリン脂質はPPAR α 活性化能を有し、PPAR α 標的遺伝子の発現量を増加させることを見出した。このことから、PPAR α 活性化により生成されたリゾリン脂質はポジティブフィードバック的に脂肪酸酸化亢進にも寄与することが示唆された。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

脂質代謝異常は、脂肪肝や動脈硬化症などに代表される生活習慣病の主たる原因として広く認識されている。ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) α は核内受容型転写因子の一種であり、幅広い脂質代謝関連遺伝子の転写を制御している。PPAR α 活性化は脂肪酸酸化を促すことが知られているため、PPAR α 活性化は脂質代謝異常が主因である生活習慣病の予防・改善につながると期待される。しかし、PPAR α 活性化時に生体内で生じる代謝変動の全体像については不明確な部分が多く残されている。本研究では、LC-MSを用いたPPAR α 活性化成分定量系の確立、メタボローム解析によるPPAR α 活性化時の代謝変動全体像の把握、並びに変動代謝物の機能解析を行った。評価される点は以下の通りである。

1. 当研究室でトマトより同定されたPPAR α 活性化成分の迅速な定量系をLC-MSを用いて確立した。
2. 前述の定量系を発展させ、脂質代謝の要となる生体内遊離脂肪酸の高感度・迅速な定量系を構築した。本定量系を用いてマウス生体内遊離脂肪酸解析を行い、PPAR α 活性化により遊離脂肪酸組成が変化し、特に一価不飽和脂肪酸が血中及び肝臓中で顕著に増加することを見出した。
3. 生体内遊離脂肪酸以外の幅広い代謝物をメタボローム解析により網羅的に解析した結果、PPAR α 活性化により1-palmitoyl lysophosphatidylcholine [LPC(16:0)]の血中濃度が増加することを見出した。また、LPC(16:0)は主に肝臓で生成され、ホスホリパーゼの一種である*Pla2g7*が、LPC(16:0)の生成に重要な役割を担っていることを明らかにした。また、インスリン抵抗性が生じた培養脂肪細胞においてLPC(16:0)が糖取込能の一部を回復させることを見出した。

以上のように、本論文はLC-MSによる生体内代謝物の網羅的解析により、PPAR α 活性化時の代謝変動の全体像を精密に把握し、LPC(16:0)の生成が誘導されることを明らかにするとともに、PPAR α 活性化による糖代謝異常改善にはLPC(16:0)が関与することを示したものであり、食品機能学、生化学、生命有機化学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成26年2月6日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)