

(続紙 1)

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	城尾 恵里奈
論文題目	The effects of nutrition intake on intestinal mucosal repair and metabolic regulation through gut hormones (栄養摂取の消化管ホルモンを介した腸管粘膜修復ならびに代謝調節に及ぼす影響)		

(論文内容の要旨)

消化管には種々の内分泌細胞が存在し、栄養素刺激に応じて様々な消化管ホルモンを分泌している。消化管ホルモンは、消化管の運動、消化吸収に関与し、また消化管粘膜の維持などの作用を有しているが、個々のホルモンについてはまだ十分研究されていない。本論文は、2つの未解明課題、すなわち(1)潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) にみられる腸粘膜損傷の修復とその機構、(2)高脂肪食摂取による代謝障害の形成機構、を取り上げ、それぞれにおける消化管ホルモンの意義について、実験動物を用いて解析したものであり、全4章から構成される。

第1章では、glucagon-like peptide (GLP) やgastric inhibitory polypeptide (GIP) などの消化管ホルモンについて概説し、研究の意義と目的の概略について記述した。

第2章では、上記(1)に関する研究について記述した。GFOは、グルタミン (glutamine)、食物繊維 (fiber)、オリゴ糖 (oligosaccharide) を含む機能性食品であり、腸粘膜萎縮の防止や腸管免疫保持の目的で、非経口栄養患者に対する経管栄養や周術期栄養管理に用いられている。UCは非特異性慢性炎症を腸粘膜に生じる炎症性腸疾患であり、現行の薬物治療には治療抵抗性症例の存在や副作用の出現などの問題点がある。そこで本研究では、GFOのUCに対する病態改善効果をマウスを用いて検証するとともに、GFOの効果発現に腸粘膜保護作用を持つ消化管ホルモンであるGLP-2が関与する可能性を検証した。UCはC57BL/6マウスに2.5%デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 溶液を5日間自由飲水させることにより惹起した。GFOはDSS投与期間中及び投与後5日間にわたり1日2回経口投与した。その結果、大腸の染色組織切片の検討において、DSS単独投与群では粘膜構造の消失及び炎症性細胞の高度浸潤を認めたが、DSS/GFO共投与群では粘膜構造が保持され炎症性細胞の浸潤も軽度であった。また、共投与群では単独投与群に比べ、炎症性サイトカインであるinterleukin-1 β の大腸における遺伝子発現が低下していた。さらに共投与群では、単独投与群に比較して体重減少や大腸短縮の程度が軽度で、疾患活動性指数も低値を示した。一方、C57BL/6マウスにGFOを経口投与すると、グルコースの経口投与に比較して、血中GLP-1濃度の高度の上昇を生じた。GLP-1は、腸上皮の増殖や絨毛のアポトーシス抑制作用を持つGLP-2と共分泌されることが知られている。以上の結果から、GFOがDSSによって生じる腸粘膜損傷の修復作用を有していること、また、GFOの作用機序がGLP-2の分泌亢進を介したものであることが示唆された。

第3章では、上記(2)に関する研究について記述した。GIP受容体 (GIPR) が脂肪細胞に存在することは知られているが、脂肪細胞におけるGIPの作用が生体レベルでどのような影響を及ぼすかは不明である。そこで本研究では、脂肪細胞特異的

GIPR欠損マウス ($GIPR^{adipo^{-/-}}$) を作製し、脂肪細胞におけるGIP作用を阻害して代謝変化を解析した。 $GIPR^{adipo^{-/-}}$ はCre-loxPシステムを用いてfloxed GIPRマウス ($GIPR^{fl/fl}$) とaP2-Cre Tgマウス (aP2-Cre) の交配により作製した。そして、 $GIPR^{fl/fl}$ とaP2-Creを対照群として用い、通常食及び高脂肪食による摂餌実験を行った。通常食摂餌下では、 $GIPR^{adipo^{-/-}}$ は経口ブドウ糖負荷試験とインスリン負荷試験で対照群に比較して差を認めなかった。しかし、高脂肪食摂餌下では、経口ブドウ糖負荷試験において $GIPR^{adipo^{-/-}}$ の血糖値は対照群に比較して低い傾向を示し、空腹時インスリン値は有意の低下を示した。インスリン負荷試験でも $GIPR^{adipo^{-/-}}$ はインスリン感受性の亢進を示した。CTスキャンを用いて判定した $GIPR^{adipo^{-/-}}$ の体脂肪量は対照群と明確な差を示さなかったが、肝臓容積と肝臓内脂肪量は有意に低下していた。肝臓の染色組織切片の検討においても、対照群で認められた脂肪肝所見が $GIPR^{adipo^{-/-}}$ で顕著に改善していた。以上の結果より、脂肪細胞におけるGIP作用が、高脂肪食摂取による糖代謝能低下やインスリン抵抗性及び脂肪肝を誘導する役割を持つことが示唆された。

第4章では研究の総括を記述した。本研究によって、腸粘膜損傷の修復にGLP-2が、高脂肪食による代謝障害の形成にGIPが、それぞれ関与している可能性が明らかになったことを述べるとともに、機能性食品や栄養素の摂取を通じて消化管ホルモンの分泌を調節することが、消化管疾患や代謝性疾患の予防・改善に有効なアプローチとなることを提唱した。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、食事や栄養素の摂取によって腸管から分泌される消化管ホルモンである glucagon-like peptide (GLP) と gastric inhibitory polypeptide (GIP) とに着目し、機能性食品の腸粘膜修復作用及び高脂肪食によって生じる糖代謝障害やインスリン抵抗性におけるこれらのホルモンの生理的意義を明らかにしたものである。

申請者は、第1の研究として、GLPの分泌亢進と腸粘膜修復との関連を示す研究を行った。潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) は、非特異性慢性炎症を腸粘膜に生じる炎症性腸疾患であり、薬物治療抵抗性症例の存在や副作用出現の可能性から、補助療法としての非薬物治療の改良が待たれている。一方、グルタミン (glutamine)、食物繊維 (fiber) 及びオリゴ糖 (oligosaccharide) を含む機能性食品であるGFOには、腸粘膜萎縮を防止し腸管免疫機能を保持する作用が知られている。本研究では、GFO投与がUCを改善する可能性について、疾患モデルマウスを用いた検討を行うと共に、GFO投与と消化管ホルモンとの関連を検討した。実験は、マウスにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を摂取させることによってUCと類似した病態を惹起し、GFOの共投与による病態の変化を解析した。その結果、DSS単独投与群では腸粘膜が顕著に障害されたが、DSS/GFO共投与群では損傷の程度が軽度であった。また、共投与群は単独投与群に比べ、炎症性サイトカインinterleukin-1 β の発現、体重減少の程度、大腸短縮の程度がいずれも軽度で、疾患活動性指数も低かった。一方、GFO投与はグルコース投与に比して血中GLP-1濃度を高度に上昇させることが明らかとなった。GLP-1はその類似構造物であるGLP-2と共分泌されることが知られており、また、GLP-2は腸管上皮の増殖や絨毛のアポトーシス抑制などの腸粘膜保護作用を持つことが知られている。以上の結果から、GFOがDSSによる腸粘膜傷害に対する修復作用を有していること、GFOの作用機序としてGLP-2の分泌を増加させることが示唆された。なお、本研究は、国際学術誌である*Nutrition* (29巻、549-55頁、2013年) に掲載された。

申請者は第2の研究として、高脂肪食摂取によって生じる糖代謝障害やインスリン抵抗性とGIPとの関連を示す研究を行った。GIPは、膵 β 細胞のGIP受容体 (GIPR) に結合してインスリン分泌を促進するインクレチンとして作用するが、脂肪細胞にも作用し細胞内へのエネルギー基質供給促進反応を誘導する。しかし、脂肪細胞におけるGIPの作用が生体の代謝に与える影響は不明である。そこで申請者は、脂肪細胞特異的GIP受容体 (GIPR) 欠損マウス (GIPR^{adipo^{-/-}}) を作製し、その代謝的影響を検討した。申請者は、GIPR^{adipo^{-/-}}マウスをCre-loxPシステムを用いてfloxed GIPRマウス (GIPR^{fl/fl}) とaP2-Cre Tgマウス (aP2-Cre) との交配により作製した。そして、交配に用いたGIPR^{fl/fl}及びaP2-Creを対照群として使用し、通常食及び高脂肪食による摂餌実験を行った。通常食摂餌下では、GIPR^{adipo^{-/-}}は対照群に比して体重差を認めず、経口ブドウ糖負荷試験やインスリン負荷試験においても差を認めなかった。しかし、高脂肪食摂餌下ではGIPR^{adipo^{-/-}}は対照群に比して緩徐な体重増加を示した。また、経口ブドウ糖負荷試験において、GIPR^{adipo^{-/-}}の血糖値は対照群に比して低い傾向を示し、空腹時インスリン

値は有意に低値を示した。さらにGIPR^{adipo^{-/-}}はインスリン負荷試験において高いインスリン感受性を示した。CTスキャンによるGIPR^{adipo^{-/-}}の体脂肪量測定では対照群と明確な差を認めなかったが、GIPR^{adipo^{-/-}}の肝臓容積及び肝臓内脂肪量は対照群に比して顕著に減少していた。また、組織学的所見においても、対照群で認められた脂肪肝が顕著に改善していた。以上の結果から、脂肪細胞におけるGIP作用は、高脂肪食摂取による糖代謝能低下やインスリン抵抗性、脂肪肝を誘導する役割を果たしていることが示唆された。

以上の研究は、食品や栄養素という環境的要素によってその分泌が大きく影響を受ける消化管ホルモンに着目し、消化管粘膜の修復にはGLP-2が、また高脂肪食による代謝障害の成立にはGIPが関与している基礎医学的証拠を提示したものである。また、これらの研究は、食品や栄養素の組み合わせを通じて消化管ホルモンの分泌を調節することが、ヒトにおいてこれらの病態を予防・改善することにつながる可能性を提示するものである。

よって、本論文は人間・環境学研究科認知・行動科学講座身体機能論分野の研究として高く評価できるものであり、博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、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、出版刊行上の支障がなくなるまでの間、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。