（ 続紙 1 ）

京都大学	博士（　　農　学　　）	氏名	神谷　智康
論文題目	Studies on the Anti-obesity Effects of Major Isoflavones in the Hot Water Extract of *Pueraria* Flowers （葛の花熱水抽出物の主要イソフラボン類の抗肥満作用に関する研究）		

（論文内容の要旨）

マメ科クズ属に属するクズ（*Pueraria thomsonii*）は、日本、中国を始めとし、世界に広く分布する植物である。クズの花部は「葛花（かっか）」と呼ばれ、中国南部およびその近辺の香港やマカオにおいて、葛花から抽出したお茶が広く飲用されている。葛花は、Tectoridinなどの特徴的なイソフラボン類を豊富に含有することが知られている。近年、大豆に含まれるイソフラボン類が抗肥満作用や抗脂肪肝作用を発揮することが報告されていることから、葛花にも同様の効果が期待できるものと推察される。以上の背景から、本論文では、葛花の熱水抽出物（PFE）の動物およびヒトに対する抗肥満作用やその作用機序について検討した。

1. PFEおよびそのイソフラボン類の抗肥満作用を評価することを目的として、PFEおよびPFEより精製したイソフラボンリッチ画分（ISOF）を食餌誘発性肥満モデルマウスに連続的に投与し、白色脂肪重量および肝臓中性脂肪量へ及ぼす影響を評価した。その結果、PFEおよびISOFの両群で、体重、白色脂肪重量、褐色脂肪重量および肝臓中性脂肪量が、対照群と比較して有意に低下することが確認された。また、糞中脂質を測定した結果、両群において、糞中脂質の増加は認められなかった。以上のことから、PFEは食餌誘発性肥満モデルマウスにおいて、抗肥満作用および抗脂肪肝作用を発揮し、その有効成分はイソフラボン類であると考えられた。また、その作用機序には食餌中の脂質の吸収阻害作用は関与しないことが明らかにされた。

2. PFEが、ヒトに対しても同様の効果を発揮するのか、また、発揮する場合のその効果用量を検討することを目的として、探索的臨床試験および検証的臨床試験を実施した。探索的臨床試験においては、肥満傾向者80名を、1)プラセボ摂取群、2)PFE 100 mg/日摂取群、3)PFE 200 mg/日摂取群、4)PFE 300 mg/日摂取群の4群に分け、それぞれの食品を8週間にわたり摂取させる二重盲検群間並行試験を実施した。 Body Mass Index (BMI)が24以上の男性のみを解析対象とした場合、PFE 300 mg/日摂取群ではプラセボ摂取群と比較して、BMI変化率が有意に低値を示し、腹部脂肪面積においては低下する傾向が認められた。以上のことから、1日あたり300 mgのPFEを継続的に摂取することで、ヒトに対しても抗肥満作用を発揮することが示唆された。

次に、この探索的試験結果を基に検証的臨床試験を実施した。肥満者90名を、1)プラセボ摂取群、2)PFE 200 mg/日摂取群、3)PFE 300 mg/日摂取群の3群に分け、それぞれの食品を12週間にわたり摂取させる二重盲検群間並行試験を実施した。その結果、PFE 300 mg/日摂取群では、プラセボ摂取群と比較して、BMIおよび腹部内臓脂肪

面積の摂取前からの変化量が有意に低値を示した。また、男女層別解析を実施したところ、その効果に性差は認められなかった。以上の2試験から、PFEはヒトに対しても抗肥満作用を有することが示され、その効果用量は、1日あたり300 mgであることが明らかとなった。

3. PFEの抗肥満作用のメカニズムを明らかにするために、*in vitro* および *in vivo* 試験を実施した。前述のように、PFEの抗肥満作用にはそのイソフラボン類が関与している。イソフラボン類は、植物エストロゲンと呼ばれ、エストロゲン受容体にアゴニスト作用を有する。近年、エストロゲン受容体が抗肥満作用の作用点となるとの報告がある。そのため、PFEの作用点もエストロゲン受容体を介した作用である可能性が考えられる。PFEのイソフラボン類はいずれも消化管にてそのアグリコン型成分に代謝されることから、PFEの主要イソフラボン類のアグリコン型である、6-Hydroxy-genisteinおよびTectorigeninのエストロゲン受容体へのアゴニスト作用を評価した。その結果、いずれの成分も大豆イソフラボンであるGenisteinの1/100～4/100程度の活性であった。また、PFEの生体内におけるエストロゲン様作用をラット子宮肥大試験で評価したところ、子宮肥大作用は認められなかった。以上のことから、PFEの抗肥満作用は、エストロゲン受容体を介したものではないことが明らかとなった。

次に、PFEの投与が脂質代謝およびエネルギー代謝関連遺伝子発現に及ぼす影響を評価することを目的として、食餌誘発性肥満モデルマウスにPFEを14日間にわたり投与し、肝臓、白色脂肪組織および褐色脂肪組織の脂質代謝関連遺伝子の発現を評価した。その結果、PFE群では、対照群と比較して、肝臓中の*Acetyl-CoA carboxylase* (*ACC*)遺伝子の発現量が有意に低下し、白色脂肪組織中の*Hormone-sensitive lipase* (*HSL*)遺伝子および褐色脂肪組織中の*Uncoupling protein 1* (*UCP1*)タンパク質発現量が有意に増加した。さらに、PFEおよびISOFの両群において、酸素消費量および褐色脂肪組織のUCP1抗体染色によるUCP1陽性面積が有意に高値を示した。以上のことから、PFEの抗肥満作用は、肝臓での脂肪合成の阻害、白色脂肪組織での脂肪分解促進、褐色脂肪組織での熱産生亢進が関与しているものと推察された。

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、４００～１，１００words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）

世界の死因の第一位は動脈硬化性疾患であり、肥満に伴う、糖・脂質代謝異常症が、動脈硬化性疾患の主要なリスクファクターである。本論文は、動物およびヒトに対する葛花の熱水抽出物の抗肥満作用やその作用機序について検討したものであり、評価すべき点は以下の通りである。

1. PFEおよびそのイソフラボン類の抗肥満作用についてマウスを用いて評価した。その結果、PFEおよびISOFの両群で、体重、白色脂肪重量、褐色脂肪重量および肝中中性脂肪量が、対照群と比較して有意に低下すること、ならびにその有効成分がイソフラボン類であることを明らかにした。

2. PFEのヒトにおける抗肥満作用とその効果用量を明らかにするために、臨床試験を実施した。その結果、PFE 300 mg/日摂取群では、プラセボ摂取群と比較して、BMIおよび腹部内臓脂肪面積が有意に低下すること、また、その効果用量は1日あたり300 mgであることを明らかにした。

3. PFEの抗肥満作用の作用機序について食餌誘発性肥満モデルマウスを用いて検討したところ、対照群と比較して、肝臓中の脂肪合成に関わる*ACC*遺伝子の発現量が有意に低下し、白色脂肪組織中の脂肪分解に関わる*HSL*遺伝子および褐色脂肪組織中のエネルギー代謝に関わるUCP1タンパク質発現量が有意に増加することを明らかにした。

以上のように本論文は、PFEのヒトでの抗肥満作用を明らかにするとともに、その作用機序に肝臓での脂肪合成の阻害、白色脂肪組織での脂肪分解の促進、褐色脂肪組織での熱産生の亢進が関与していることを見出したものであり、食品機能学、食品健康科学、食環境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 25年　11月　21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。

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）