

氏 名	そう ま あき こ 相 馬 顕 子
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1568 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 学 専 攻
学位論文題目	Effects of oral administration of sugar and lipid on expression behavior of multi-functional protein CD36 (糖と脂質の経口摂取が多機能性タンパク質 CD36 の発現挙動に及ぼす影響)
論文調査委員	(主 査) 教 授 松 村 康 生 教 授 内 海 成 教 授 平 田 孝

論 文 内 容 の 要 旨

近年、食生活が豊かになるに伴って、脂質の過剰蓄積やそれに伴う糖尿病の悪化・虚血性心疾患の発生といった様々な病態についての関心が高まっている。しかしながら、脂質はエネルギー源として重要である上、食品の嗜好性を高める働きをもつため、しばしば過剰に摂取される。日常の食生活で摂取される脂質は、従来、口腔内において主に体性感覚で感知されるものと考えられてきた。ところが最近では、これらの感覚に加え、化学感覚によっても脂質が認識される可能性が提唱されてきている。

本研究では、化学感覚による脂質認識の可能性を検討することを目的とし、脂質の経口摂取と脂肪酸取込み関連因子の発現挙動の相関について解析を行った。また、エネルギー源として脂質と同様に重要な糖についても、経口摂取後に同様の解析を行なった。化学感覚である味覚をモデルとし、口腔内の部位の中でも特に舌上皮組織を対象とした。脂肪酸の取込みに関連する因子として、脂肪酸トランスポーターとして知られる CD36 を中心に、脂肪酸の輸送に関与するタンパク質の一つである Fatty acid transport protein (FATP) についても、舌上皮における働きを検討した。

第1章では、ラット舌上皮における CD36 および FATP の発現分布と、舌乳頭上皮 CD36 の構造について検討した。CD36 は、膜タンパク質として、長鎖脂肪酸の取込み・酸化 LDL の貪食・血小板凝集などに関わる多機能性タンパク質である。近年、味細胞を含む有郭乳頭においても発現が確認された。FATP も同様に膜タンパク質であり、ヒトやマウスでアイソフォームが確認されている。これら CD36 と FATP について、舌上皮での発現を解析した。CD36 については、発現することが既に報告されている有郭乳頭に加え、葉状および茸状乳頭でも発現を確認した。これら乳頭上皮 CD36 cDNA のシーケンスを解析したところ、解析した領域については脂肪細胞および肺胞細胞 CD36 のシーケンスとほぼ一致し、一次構造全体が、舌乳頭 CD36 と脂肪細胞および肺胞細胞 CD36 とで同等であると推測された。しかしながら、舌乳頭 CD36 タンパク質には、脂肪組織の CD36 の場合と異なり、糖鎖が付加されていないことが示唆された。糖鎖付加される脂肪細胞 CD36 と付加されない舌乳頭 CD36 とでは異なる機能を持ち、例えば、糖鎖が親水性を示すことから、舌上皮 CD36 は疎水性分子である脂肪酸への親和性などが高い可能性がある。一方、FATP については、舌乳頭上皮および乳頭周辺上皮に FATP1 と FATP4 の 2 種類のアイソフォームが発現することが確認された。舌上皮において複数のアイソフォームが存在することで様々な脂肪酸取込みに対応できるのかもしれない。

第2章では、食品脂質とラット舌上皮 CD36 との関連を解析した。ラット舌にコーン油で刺激を与え、舌上皮中における CD36 の発現挙動を解析した。その結果、脂質の経口摂取によって、有郭乳頭 CD36 の発現量が有意に減少することが認められた。有郭乳頭につながっている味神経舌咽神経は脂肪酸に応答することが知られており、有郭乳頭には特に脂肪酸の情報を神経に伝える因子が存在すると予測される。このような脂質情報の伝達に、CD36 が関与する可能性が考えられた。葉状乳頭 CD36 については、明確な発現変動が観察されず、有郭乳頭 CD36 とは異なる働きを担っていることが考えられた。なお、脂質刺激によって有郭乳頭 CD36 の発現量が低下するのは、脂質に対する口腔内の感受性を低下させ脂質摂取

量を増やす方向に生体を調節しようとするためと考えられる。また、酸化された脂質の摂取によっても、CD36 の発現量は減少したものの、その減少率は未酸化の脂質に比べると小さかった。酸化脂質刺激において CD36 発現量の抑制が未酸化脂質の場合ほど顕著でないのは、生体にとって有害である酸化脂質を必要以上に取り込まないためであると推察された。

第 3 章では、食品糖質とラット舌上皮 CD36 との関連を解析した。2 型糖尿病などで見られるインスリン抵抗性には、肥満状態が強く関係するという報告が多く出されている。このことから、糖摂取による CD36 の発現挙動への影響を検討した。スクロースを経口摂取させた後に CD36 mRNA の発現変動を検討したが、有郭および葉状乳頭共に、糖摂取による CD36 の有意な変動は観察されなかった。剝離した舌上皮に内腔側からインスリン刺激を与えると、有郭乳頭において、CD36 mRNA は僅かに増加傾向を示す一方、葉状乳頭では明確な変動が見られなかった。次に、ウェスタンブロット法で CD36 分子の発現挙動を解析した結果、インスリン刺激後の有郭乳頭において CD36 の発現量が減少する傾向が認められた。以上の結果、糖摂取に伴ってインスリンが変動することにより、脂質の口腔内認識が調節される可能性が示唆された。なお、インスリン刺激に先立ち、ラット舌上皮でインスリンレセプターが発現することを確認した。

論文審査の結果の要旨

従来、口腔内における脂質の認識には、体性感覚や嗅覚が関わりと考えられてきたが、脂肪代替物と真性脂質とは同様な物性を持ちながら口腔内で区別されるという報告や、脂肪酸によって味細胞が活性化するという報告など、食品脂質が化学感覚でも認識される可能性が最近提唱されている。本論文は、ラット舌上皮を対象とした分子生物学的解析により、食品脂質に対する口腔内感覚について検討したものである。評価すべき主な点は、以下のとおりである。

1. 有郭乳頭に発現し、脂質の口腔内認識に関与する可能性が考えられている CD36 について、葉状乳頭および茸状乳頭での発現を新たに確認した。また、これら舌乳頭 CD36 は既知の CD36 とは異なり、糖鎖が付加されない形態で存在することが示唆された。なお、糖鎖が付加されない CD36 は本研究で初めて見いだされた。

2. FATP が、舌上皮全般に発現することを明らかにした。FATP については、ヒトやマウスでアイソフォームの存在が知られていたが、ラットで初めて 2 種類のアイソフォーム FATP1 と FATP4 の発現を確認した。

3. 脂肪酸に応答する味神経につながっている有郭乳頭では、脂質の経口摂取において、CD36 の発現が減少することを見いだした。一方、脂肪酸に応答しない味神経につながっている葉状乳頭では、CD36 の発現変動は明確ではなく、舌乳頭 CD36 が脂質受容情報の伝達因子として機能している可能性が示された。また、脂質摂取による有郭乳頭 CD36 の発現量の減少は、脂質への感受性低下を通して食品脂質の摂取量を増加させ、十分量の脂質を確保するためであると推察された。一方、酸化脂質の摂取によっては、未酸化脂質の場合ほど、CD36 発現量の低下は顕著に生じなかった。この理由は、酸化脂質への感受性をある程度維持しておくことにより、生体に有害な酸化脂質を必要以上に摂取しないようにするためではないかと考えられた。

4. インスリン刺激下で有郭乳頭 CD36 の発現量が mRNA あるいはタンパク質レベルで変動する傾向を見いだした。このことから、糖を摂取するとインスリンが介在して CD36 が変動し、結果として脂質への感受性が調節される可能性が示唆された。また、本研究において初めて、舌上皮でのインスリンレセプターの存在を確認した。

以上のように、本研究は、舌上皮 CD36 の脂質摂取に伴う発現変動について、分子生物学的手法を用いて詳細な検討を加えることにより、口腔内における脂質認識メカニズムの解明に大きく貢献したものであり、食品化学、品質評価学、栄養科学、食品健康科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18年2月16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。