

氏 名	ご 藤 剛
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1691 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 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 食 品 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on endogenous regulators and dietary ligands of peroxisome proliferator-activated receptors (ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体の内因性調節因子および食品由来リガンドに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 河 田 照 雄 教 授 北 畠 直 文 教 授 伏 木 亨

論 文 内 容 の 要 旨

現在、経済的先進諸国をはじめとして、世界的規模の死因は、ガンを抜いて動脈硬化性疾患が第1位となっている。糖尿病や高脂血症などの肥満に伴う、糖ならびに脂質の代謝異常症は、動脈硬化性疾患の主要なリスクファクターであり、肥満に伴う生活習慣病の増加は社会的問題となってきた。本研究は、生体の糖ならびに脂質の代謝制御において重要なペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（PPARs）の活性調節に焦点を当て、内因性因子による活性調節機構の解明、および食品由来新規リガンド探索を行うことを目的としたものであり、その成果は以下のように要約される。

1. cAMP-response element-binding protein-binding protein（CBP）と p300 は互いに高い相同性を有する代表的な転写共役因子である。生活習慣病の発症と深く関わり、PPAR γ が中心的な役割を担う、脂肪細胞分化過程における CBP/p300 の役割について検討した。脂肪細胞において CBP/p300 の強制発現は、リガンド依存的な PPAR γ の転写活性化を増強させた。この時、CBP/p300 の機能を抑制すると、PPAR γ の転写活性化作用が消失した。また、脂肪細胞における CBP/p300 のノックダウンは、リガンドによる PPAR γ の転写活性化を強く抑制した。これらの結果より、CBP/p300 が脂肪細胞において、PPAR γ の転写活性を増強させることを明らかにした。さらに、CBP/p300 ノックダウン細胞を用いて、脂肪細胞分化過程における CBP/p300 の生理的役割について検討した。CBP/p300 ノックダウン細胞では、脂肪細胞分化の指標である中性脂肪蓄積量が、対照細胞に比して顕著に抑制されていた。また、脂肪細胞分化誘導過程で起こる PPAR γ 標的遺伝子群の発現誘導が、CBP/p300 ノックダウン細胞では有意に抑制されていた。以上の結果から、脂肪細胞分化過程において、CBP/p300 は内因性の PPAR γ 転写活性化因子として、重要な機能を担っていることが明らかになった。
2. PPARs（ α ， γ ， δ ）それぞれの活性化剤は抗生活習慣病作用を有することが明らかにされている。そこで、食餌による生活習慣病の予防・改善の可能性について検討するため、食品成分由来新規 PPARs リガンドの探索・機能解析を行った。最初に、PPAR γ のリガンド探索を行うため、通常の PPAR γ リガンドレポーターアッセイ系に CBP を強制発現させることで、高感度なアッセイ系を構築した。本アッセイ系において、食品成分をはじめとする天然物中に広く存在する、種々のイソプレノイド類の PPAR γ 活性化能について検討し、いくつかの新規 PPAR γ リガンドを見出した。得られたイソプレノールと呼ばれる一連の化合物が PPAR α に対しても同等の活性化能を有することを明らかにした。イソプレノールの中で最も PPARs 活性化能の強いファルネソール（FOH）の投与は、肥満・糖尿病モデル動物において、随時血糖値・尿糖陽性率の上昇抑制、肝中中性脂肪値の低下作用を示し、FOH 摂取が糖・脂質代謝異常症の発症に対して、抑制的に機能することを見出した。このとき、FOH 摂取群の肝臓では PPAR α 標的遺伝子の発現亢進が認められた。さらに、PPAR α 欠損マウスに対する FOH の投与は、肝中中性脂肪蓄積抑制作用を示さなかったことから、FOH による代謝亢進作用は、PPAR α 活性化作用による部分が大きいことが示唆された。

3. PPARsリガンドスクリーニングによって、クロロフィルの構成成分であり、自然界に多く存在するフィトールが、PPAR α を高い選択性で活性化させることを明らかにした。フィトールは生体内でフィタン酸へ変換されることが知られており、フィタン酸はPPAR γ 、PPAR α に対して、活性化作用を有することが報告されていたため、in vitro binding assayを行い、フィトールがPPAR α と直接結合することを示した。さらに、培養肝細胞HepG2においてフィトールの添加は、脂肪酸代謝に関わるPPAR α の標的遺伝子の発現を、mRNA、タンパク質レベルで強く誘導することを明らかにした。以上の結果から、フィトールはPPAR α に選択性の高い、PPARs活性化剤であることが明らかになった。これより、フィトールは肥満に伴う生活習慣病の予防・改善に効果的な食品成分となりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

飽食状況下にある経済的先進諸国をはじめとして、肥満に伴う、糖ならびに脂質の代謝異常症の増加が社会問題となってきた。ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（PPARs）は α 、 γ 、 δ 、3種類のサブタイプによって構成されるリガンド依存性の転写因子であり、生体の糖ならびに脂質の代謝調節において中心的な役割を担っている。PPARs各サブタイプの活性化は代謝異常改善効果を有することが知られている。本論文は、PPARsの活性化因子に注目し、内因性活性化因子として転写共役因子、外因性活性化因子として食品成分由来リガンドに関する検討を行ったものであり、評価すべき点は以下の通りである。

1. 普遍的な転写共役因子cAMP-response element-binding protein-binding protein（CBP）/ p300がPPAR γ の転写活性に与える影響について検討し、CBP/p300がリガンドによるPPAR γ の転写活性化を増強させることを示した。さらに、CBP/p300ノックダウン脂肪細胞を用いて、脂肪細胞分化過程において、CBP/p300が内因性のPPAR γ 転写活性化因子として、重要な機能を担っていることを明らかにした。
2. CBPを強制発現させることにより、高感度なPPAR γ リガンドアッセイ系を確立した。このアッセイ系において、食品成分由来新規PPAR γ リガンドの探索を行い、イソプレノールが新規PPAR γ リガンドとなることを見出した。イソプレノールはPPAR α に対しても活性化作用を有するデュアルアゴニストであることを示した。イソプレノールの一種であるファルネソールの摂取は代謝亢進作用を示し、その作用にはPPAR α の活性化作用の寄与が大きいことを明らかにした。
3. 高感度PPARsリガンドアッセイ系を用いて、クロロフィルの構成成分であるフィトールが、PPAR α を高い選択性で活性化させることを明らかにした。in vitro binding assayを行い、フィトールがPPAR α と直接結合することを示した。培養肝細胞においてフィトールが脂肪酸代謝に関わるPPAR α の標的遺伝子の発現を、mRNA、タンパク質レベルで強く誘導することを明らかにした。

以上のように本論文は、生体の糖並びに脂質の代謝調節に重要なPPARsの内因性・外因性の活性化因子に関する多くの重要な知見を得たものであり、食品分子機能学、食環境学、栄養科学、および食品健康科学の発展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20年1月15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。