

京都大学	博士（薬学）	氏名	村田 雄亮
論文題目	肝臓由来内分泌因子Fgf21の低炭水化物食により調節される糖質代謝における役割の解明		
（論文内容の要旨） 低炭水化物高脂肪食を一定期間摂取すると体内の糖質が不足する。この糖質供給の不足を補うため、肝臓で遊離脂肪酸よりケトン体が合成され利用される。したがって、低炭水化物高脂肪食は別名ケトン食とよばれる。近年、このケトン食は、肥満症治療への応用が検討されつつある。例えば、肥満症モデルマウスをケトン食で飼育することにより、体重の減少や、肥満症に伴って起こる糖代謝異常や脂質代謝異常を改善することが報告されている。しかし、一方で、非肥満性糖尿病モデルラットをケトン食で飼育することにより、インスリン抵抗性が惹起される事も報告されていた。したがって、ケトン食の代謝に与える影響は未だに結論が出ていない。今回、申請者は、ケトン食が代謝に与える影響を調べるとともに、ケトン食により速やかに肝臓で産生誘導されるFgf21の、代謝における役割について検討を行った。 第一章 ケトン食飼育による代謝変化の検討 申請者はケトン食が代謝に与える影響について検討した。十二週齢の野生型マウスに六日及び十四日のケトン食飼育を行ったところ、体重や主要臓器重量、体温には変化が認められなかった。血中ケトン濃度は、六日のケトン食飼育により著しく上昇した。また、六日目で上昇していた血中ケトン濃度は、十四日目まで、ほぼ同程度に維持された。遊離脂肪酸などの血中脂質はケトン食飼育によって変化が認められなかったが、血糖値は、六日及び十四日のケトン食飼育で有意に減少していた。一方、血中インスリン濃度は、血糖値の低下に合わせて減少することはなく、むしろ六日目にはやや増加する傾向が認められた。この結果から、六日のケトン食飼育によって既にインスリン感受性が低下している事が示唆された。そこで糖負荷試験及びインスリン負荷試験を行ったところ、六日及び十四日のケトン食飼育により耐糖能、インスリン感受性共に低下していた。次に、このインスリン感受性低下のメカニズムの解明を試みた代謝関連組織におけるインスリン感受性を、Aktのリン酸化を指標として検討したところ、六日間のケトン食飼育により白色脂肪組織のインスリン感受性が有意に低下していた。以上より、ケトン食飼育時には、おそらく糖質の供給不足を補うため、白色脂肪組織のインスリン感受性が低下し、血糖を維持することが示唆された。			

第二章 ケトン食飼育時におけるマウスFgf21の役割の解明

肝臓由来の内分泌因子Fgf21は、絶食時やケトン食飼育時に発現が誘導され、その条件下における代謝を調節する役割が期待されていた。実際、野生型マウスに六日のケトン食飼育を行うと、Fgf21の肝臓における発現や、血中濃度が著しく上昇した。したがって、申請者は、*Fgf21*欠損マウスを用い、ケトン食飼育時に起るインスリン感受性の低下とFgf21との関わりを検討した。

これまでの研究で、ケトン食飼育時にFgf21は肝臓におけるケトン体産生に必須であることが示唆されていた。しかし、ケトン食飼育を行った*Fgf21*欠損マウスは、野生型マウスと比較して、体重や体温、血中ケトン濃度、肝臓におけるケトン体産生関連因子の発現に差は認められなかった。したがって、Fgf21は肝臓におけるケトン体産生に必須ではないことが明らかとなった。

ケトン食飼育時の*Fgf21*欠損マウスは、野生型マウスと比較して、血糖値に差は無かったものの、血中インスリン濃度が有意に低下していた。さらに、糖負荷試験及びインスリン負荷試験を行った結果、*Fgf21*欠損マウスでは耐糖能、インスリン感受性共に有意に亢進していた。さらに、代謝関連組織におけるインスリン感受性を、Aktのリン酸化を指標として測定した。その結果、ケトン食飼育時に*Fgf21*欠損マウスでは、野生型マウスと比較して、白色脂肪組織のインスリン感受性が有意に亢進していた。以上より、Fgf21は白色脂肪組織のインスリン感受性を抑制することにより、全身の耐糖能を低下させる可能性が示唆された。

以上、申請者は、ケトン食飼育時に、白色脂肪組織のインスリン感受性が低下する事を明らかとした。また、ケトン食飼育時に肝臓で産生されるFgf21が、この白色脂肪組織でのインスリン感受性の低下に重要であることを明らかとした。本研究は、糖・脂質代謝メカニズムの解明、代謝関連疾患に対する治療薬開発に有用な知見を提供するものと期待される。

(論文審査の結果の要旨)

低炭水化物高脂肪食により体内摂取される糖質が不足すると、糖質供給が不足する。この糖質不足を補うため、肝臓で遊離脂肪酸よりケトン体が合成される。低炭水化物高脂肪食は別名ケトン食とよばれ、肥満症、糖尿病等の治療に応用されつつある。また、肥満症モデルマウスをケトン食で飼育することにより、その糖代謝異常や脂質代謝異常を改善することが報告されている。一方、非肥満性糖尿病モデルラットをケトン食で飼育するに、インスリン抵抗性が惹起される事も報告されている。申請者はケトン食が糖・脂質代謝に与える影響を調べた。一方、肝臓でのFgf21産生はケトン食により著しく誘導される。申請者はFgf21のケトン食における糖・脂質代謝における役割についても調べた。

申請者はケトン食が糖・脂質代謝に与える影響について検討した。12週齢の野生型マウスに6日及び14日のケトン食飼育を行ったところ、体重、主要臓器重量、体温には変化が認められなかった。一方、血中ケトン濃度は、6日のケトン食飼育により著しく上昇し、その血中ケトン濃度は14日目までほぼ同程度に維持された。しかし、血中遊離脂肪酸、中性脂肪などはケトン食飼育によって変化が認められなかった。一方、血糖値は、6日及び14日のケトン食飼育で有意に減少していた。しかし、血中インスリン濃度は、血糖値の低下に合わせて減少することはなかった。これらの結果はケトン食飼育がインスリン感受性が低下させる事を示唆している。さらに、糖負荷試験及びインスリン負荷試験により、ケトン食は耐糖能、インスリン感受性を低下させることが明らかになった。このインスリン感受性低下のメカニズムの解明のため、糖質代謝関連組織である白色脂肪組織、肝臓、筋肉におけるインスリン感受性を検討した。ケトン食飼育により白色脂肪組織のインスリン感受性が有意に低下していた。これらの結果はケトン食飼育時には糖質の供給不足を補うため、白色脂肪組織のインスリン感受性が低下し、血糖を維持することが示唆している。

肝臓由来の内分泌因子Fgf21は、絶食時やケトン食飼育時に発現が誘導され、Fgf21の糖・脂質代謝調節における役割が期待されていた。申請者はFgf21欠損マウスを用い、ケトン食飼育時に起るインスリン感受性の低下とFgf21との関わりについても検討した。ケトン食飼育を行ったFgf21欠損マウスは、野生型マウスと比較して、体重や体温、血中ケトン濃度、肝臓におけるケトン体産生関連因子の発現に差は認められなかった。従って、Fgf21は肝臓におけるケトン体産生に必須ではないことが明らかとなった。一方、ケトン食飼育時のFgf21欠損マウスの血糖値に変化なかったものの、血中インスリン濃度が有意に低下していた。さらに、糖負荷試験及びインスリン負荷試験を行った結果、Fgf21欠損マウスでは耐糖能、インスリン感受性共に有意に亢進していた。また、白色脂肪組織におけるAktのリン酸

化が亢進していた。その結果、ケトン食飼育時に*Fgf21*欠損マウスでは白色脂肪組織のインスリン感受性が有意に亢進していることが明らかになった。従って、*Fgf21*は白色脂肪組織のインスリン感受性を抑制することにより、全身の耐糖能を低下させる可能性が示唆された。

以上、申請者はケトン食飼育時に肝臓で産生される*Fgf21*が、この白色脂肪組織でのインスリン感受性の低下に重要であることを明らかとした。本研究は、糖・脂質代謝メカニズムの解明、糖・脂質代謝関連疾患に対する*Fgf21*の治療薬への開発に有用な知見を提供するものと期待される。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成25年2月25日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、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： 平成26年3月31日以降