

称号及び氏名 博士（保健学） 今井 ももこ

学位授与の日付 令和4年3月31日

論文名 Identification of functional compounds from aronia juice
and their mechanism to improve type 2 diabetes and obesity
アロニア果汁からの2型糖尿病および肥満を改善する
機能成分の固定とそのメカニズム

論文審査委員 主査 竹中 重雄
副査 神谷 重樹
副査 叶内 宏明

学位論文の要旨

アロニア (*Aronia melanocarpa*) は北米原産のバラ科に属する黒紫色の果実で、東欧諸国で高血圧やアテローム性動脈硬化症を治療するための伝統医学で使用されてきた。アロニアに関する、最近のマウスの研究では、アロニアが2型糖尿病、高血圧、高脂血症、高コレステロール血症などの生活習慣病に有益な効果があることが示されている。臨床研究においても、高血糖に関連する酸化ストレスの防止、高コレステロール血症抑制の可能性が示されている。

2型糖尿病は多くの国で公衆衛生上の課題となっている。 α -グルコシダーゼは炭水化物の消化に関与する酵素で、その阻害剤は、小腸でのブドウ糖吸収を減らし、食後の血糖値を低下させる。ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPP IV) はインクレチンを不活性化し、インクレチンは食後の膵インスリン分泌を刺激する。そのため DPP IV 阻害剤は DPP IV による分解を遅らせることにより、インクレチンの効果を高めることが知られている。糖化ヘモグロビン (HbA1c) の減少は血糖コントロールと微小血管合併症予防の指標として糖尿病治療試験で使用されている。

アロニアにはシアニジン 3,5-ジグルコシド (Cy-dg) を含む多くのポリフェノールが含まれており、これらのポリフェノールは2型糖尿病や肥満などの生活習慣病に有益な効果がある。以前の研究は DPP IV 活性がアロニア果汁からの Cy-dg によって阻害されることを示した。本研究では、*in vivo* での DPPIV 活性の阻害を通じて、2型糖尿病に対する Cy-dg の効果を検討するため動物実験を行った。2型糖尿病および肥満モデル KKA^y マウスは、水を与えるコントロール群、アロニア果汁を与えるアロニア群、シアニジン-3,5-ジグルコシド溶液を与える Cy-dg 群の3群に分け、49日間摂取させた。その結果、cy-dg 群のマウスでは血糖値と HbA1c レベルの上昇が低下しましたが、Cy-dg 群の血糖値と HbA1c の低下の大きさは、アロニア群によるものの約 50%であった。このことから、Cy-dg 以外の阻害剤がアロニア果汁中に存在することが示唆されたため、アロニア果汁中のシアニジン 3,5-ジグルコシド以外の抗糖尿病化合物を特定し、2型糖尿病の改善効果を調べるために、アロニア果汁中のポリフェノールについて逆クロマトグラフィーを使用して分離した。さらに α -グルコシダーゼ阻害活性を有する画分を、逆相 HPLC を使用して分離した。2つのピーク画分が阻害活性を示したため、これらの画分を LC-MS/MS 分析した。その結果、それぞれ 3-および 4-カフェオイルキナ酸 (CQA) を含むことが示されました。両方の CQA は DPPIV 活性を阻害することが確認されました。アロニア果汁中の CQA が2型糖尿病の改善に重要であることが示唆された。

以前、高脂肪食を与えたマウスの肝臓で Arrestin domain-containing 3 (Arrdc3) の発現

が増加し、高脂肪食と一緒にマウスのアロニアを与えることで *Arrdc3* mRNA の増加が抑制されることが示された。最近、*Arrdc3* は肥満の調節因子であることが報告された。また、*Arrdc3* は β -アドレナリン受容体のリサイクリングを防ぎ、アドレナリン作動性刺激に対する反応性を低下させることが報告されている。本研究では、正常および肥満モデルマウス白色脂肪組織に対するアロニア果汁の効果を検討した。C57BL/6J マウスと *KKA^y* マウスに通常の食餌を 28 日間与えた。この給餌期間中、アロニア群にはウォーターボトルを介してアロニア果汁を与え、コントロール群には水道水を与えた。その結果、C57BL/6J マウスと *KKA^y* マウスの両方で、アロニア群の脂肪細胞のサイズがコントロール群よりも有意に小さくなった。アロニア群では、*Arrdc3* mRNA の白色脂肪組織での発現が抑制されたのに対し、*Sirt2* および *Ucp1* mRNA の発現は増加した。また、3T3-L1 細胞の分化に対するアロニア果汁の影響について検討を行った結果、アロニア果汁が細胞への脂肪蓄積と *Arrdc3* mRNA 発現を抑制した。次に逆相液体クロマトグラフィーを用いて、*Arrdc3* の発現を抑制する化合物をアロニア果汁から分離した。質量分析により、アロニア果汁中の *Arrdc3* mRNA 発現抑制物質はピセニン-2 およびケルセチン-ジグリコシドであることが明らかとなった。これらの結果は、アロニア果汁が脂肪細胞での *Arrdc3* mRNA 発現を抑制することにより、白色脂肪組織での脂質蓄積を阻害することを示唆している。

生活習慣病の発症予防は重要な課題であり、アロニア果汁は栄養補助食品として予防医学的なアプローチにおいて重要な役割を果たす可能性があると考えられた。

論文審査結果の要旨

アロニア (*Aronia melanocarpa*) は北米原産のバラ科に属する黒紫色の果実で、東欧諸国で高血圧やアテローム性動脈硬化症を治療するための伝統医学で使用されてきた。アロニアに関する最近の知見では2型糖尿病などの生活習慣病に有益な効果があることが示されている。臨床研究においても、高血糖に関する酸化ストレスの防止、高ステロール血症抑制の可能性が示されている。本研究では *in vivo* のジペプチジルペプチダーゼ IV (DPPIV) 活性の阻害を通じて、2型糖尿病に対する作用成分の探索と正常及び肥満マウスの白色脂肪組織に対するアレシドドメイン3タンパク質 (Arrdc3) を通じたアロニア果汁の効果を検討した。

アロニアに含まれる3,5-ジグルコシド (Cy-dg) が DPPIV を通じた高血糖改善効果を有することを明らかにするとともに、検討過程において、それ以外の効果物質の存在を見出したことから、その成分を HPLC で分取し、LCMSMS を用いて、その同定を試みた結果、3-および4-カフェオイルキナ酸 (CQA) であることを明らかにした。2種の CQA は DPPIV 活性を通じた高血糖改善効果を有することも明らかにした。

アロニア果汁の脂肪細胞への影響を KKA^y マウスを用いて検証した結果、アロニア果汁には高脂肪摂取時の脂肪細胞肥大化を抑制する効果を見出した。前述と同様の手法を用いて、機能性成分の同定を試みた結果、ピセニン-2 とケルセチン-ジグルコシドを同定した。これらは脂肪細胞での Arrdec3 の発現を抑制することにより、白色脂肪細胞の脂質蓄積を抑制することを明らかにした。

これらの研究成果は、食品機能学や栄養生化学のみならず栄養学を包含する幅広い学問領域の発展に貢献するものであり、博士 (保健学) の学位を授与することを適当と認める。