

博 士 学 位 論 文

内容の要旨および審査結果の要旨

第 1 0 号

2 0 1 1 年 3 月

鈴鹿医療科学大学大学院

はしがき

本篇は学位規則（昭和 28 年 4 月 1 日文部省令第 9 号）第 8 条による公表を目的として、2011 年 3 月に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨および論文審査結果の要旨を収録したものである。

目 次

学位記番号	学位の種類	氏名 ^{ふりがな}	論文題目	頁
甲第17号	博士 (保健衛生学)	高木 ^{たかぎ} 聖 ^{きよし}	Effect of corosolic acid on dietary hypercholesterolemia and hepatic steatosis in KK-Ay diabetic mice.	1

氏名・(本籍) 高木 聖 (岐阜県)
学位の種類 博士 (保健衛生学)
学位記番号 甲第 17 号
学位授与年月日 平成 23 年 3 月 15 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目 Effect of corosolic acid on dietary hypercholesterolemia and
hepatic steatosis in KK-Ay diabetic mice.

論文審査委員 主査 教授 饗場弘二
副査 教授 岩島誠
副査 教授 高橋なを子
副査 教授 長村洋一
副査 教授 長浜真人

論文の要旨

【はじめに】

2007年の糖尿病実態調査では、日本における糖尿病患者数は890万人で予備軍を含めると2210万人に上る。生活のオートメーション化や自動車の保有台数の増加に伴う身体活動量の減少ならびに食事における動物性脂肪摂取量の増加が主な原因と考えられている。糖尿病による高血糖状態が長期間続くと細小血管が障害され慢性の合併症が生じる。また、食後高血糖や脂質異常症の合併により大血管の血管硬化が生じ、脳血管障害や心筋梗塞などの大血管症に至る。したがって、血糖値のコントロールならびに脂質異常症の合併を防ぐことは糖尿病治療において重要な課題である。*Lagerstroemia speciosa* L. の葉は、フィリピンをはじめ東南アジアの各国で糖尿病を治療する伝統的な生薬として用いられてきた。この葉に含まれる活性成分がコロソリン酸 (CA) で、その構造は五環性のトリテルペンである。これまで CA については血糖低下作用をはじめ、肥満や脂質代謝におよぼす作用、抗炎症作用などさまざまな報告がされてきた。そこで、本研究においては CA の血糖値におよぼす影響とその機序、糖負荷および小腸における二糖類の加水分解におよぼす影響、そして合併する食事性高コレステロール血症ならびに脂肪肝におよぼす影響について検討した。

【方法】

最初に CA の血糖低下作用と用量依存性について検討するために、遺伝的 2 型糖尿病モデル動物である KK-Ay マウスに用量の異なる CA を経口投与し、投与の 2、4 および 7 時間後の血糖値ならびに血中インスリン値を測定した。続いて、血糖低下の作用機序を検討するために CA 投与 4 時間後の KK-Ay マウスの後肢骨格筋を分離し、筋形質膜への糖輸送タンパク (GLUT4) のトランスロケーションをウエスタンブロット法にて測定した。次に CA の短時間での小腸における作用を検討するために、絶食した正常モデル動物である ddY マウスに CA を経口投与し、その 30 分後に糖負荷試験を行った。試験には二糖類のスクロース、マルトース、ラクトースならびに単糖のグルコースを用い、糖負荷の 30、60、および 120 分後に血糖値を測定した。続いて、CA を投与した ddY マウスの小腸粘膜を摘出し、CA の二糖類の分解におよぼす影響について検討した。また、 α -グルコシダーゼを用いて、CA がその活性におよぼす影響について検討し、50%抑制する濃度 (IC₅₀) を算出した。最後に、糖尿病に合併する食事性高コレステロール血症および脂肪肝に対して CA のおよぼす影響を検討するために、KK-Ay マウスに高コレステロール飼料 (HC-mice)、CA 含有飼料 (CA-mice)、CA 含有高コレステロール飼料 (HC/CA-mice) を 10 週間摂取させ、血中コレステロール値ならびに肝コレステロール量を測定した。また、絶食した KK-Ay マウスに CA を経口投与し、高コレステロールカクテル負荷を行い、カクテル負荷の 2、4、6 およ

び8時間後の血中コレステロール値を測定し、小腸における吸収過程におよぼす影響について検討した。

【結果】

CAは2 mg/kg および 10 mg/kg においてコントロールと比較して投与後4時間における血糖値を有意に低下させた ($P<0.05$)。血中インスリン値は4時間後に低下する傾向がみられた。CA投与後のマウスの筋形質膜における GLUT4 タンパク質総含有量は、コントロールと比べ有意な増加が認められ ($P<0.05$)、細胞内においては有意な減少が認められた ($P<0.05$)。糖負荷試験において CA は、スクロース負荷 60 分後の血糖値をコントロールと比較して有意に低下させ ($P<0.05$)、小腸におけるスクロースの加水分解を有意に抑制した ($P<0.05$)。他の糖におよぼす影響はみられなかった。また、CA は α -グルコシダーゼの活性を用量依存的に抑制し、 IC_{50} は $171 \mu\text{g/mL}$ であった。コレステロールにおよぼす影響については、飼料摂取開始から 10 週後の HC/CA-mice の血中コレステロール値ならびに肝コレステロール量は HC-mice のそれらと比較して、それぞれ 32%、46%抑制された ($P<0.05$)。コントロールと CA-mice の値に差はみられなかった。また、CA は高コレステロールカクテル負荷の4時間後にコントロールと比較して血中コレステロール値を有意に抑制した ($P<0.05$)。

【考察】

CA は KK-Ay マウスの血糖値を低下させる作用を有しており、その有効用量は 2 mg/kg から 10 mg/kg と考えられた。その作用機序については、血中インスリン値の増加がみられなかったことから、少なくともインスリンの分泌を促進することによるものではないと思われた。骨格筋を用いての実験結果から、CA は代謝過程に入った後に骨格筋における GLUT4 のトランスロケーションを促進することにより糖の取り込みを増大させ、インスリン抵抗性を改善させることによって血糖低下作用を発揮すると考えられた。その一方で、CA は二糖類であるスクロースからグルコースとフルクトースへの加水分解を抑制し、糖吸収を遅延させ、食後高血糖を抑制する可能性が示された。さらに CA は、通常食摂取の場合においては血中コレステロール値ならびに肝コレステロール量におよぼす影響はなく、高コレステロール食摂取の場合においてそれらを抑制することが示された。その機序については、インスリン抵抗性の改善に加えて、小腸における食事性コレステロールの吸収を抑制することによるものと考えられた。

【結論】

本研究において、CA は 2 mg/kg 以上で血糖低下作用を有することが示され、それは骨格筋における GLUT4 のトランスロケーションの促進による糖の取り込みの増大、インスリン抵抗性の改善によるものと考えられた。また、その一方で、CA は小腸においてスクロ

ースの加水分解を阻害することによって耐糖能を改善することが示された。さらに、CAは小腸における食事性コレステロールの吸収を抑制することにより、血中コレステロール値と肝コレステロール量の上昇を抑制する作用を示した。本研究においてCAが食事性コレステロールによる高コレステロール血症を抑制する作用を有することが初めて示された。

審査結果の要旨

コロソリン酸 (CA) は東南アジア諸国で糖尿病等の治療に用いられてきた薬用植物由来の活性成分で構造的にはウルサン型トリテルペンに属する。高木聖氏は、CA の血糖低下作用機序を明らかにする目的で、遺伝的 2 型糖尿病モデルマウスに CA を経口投与し、血糖値の測定および筋形質膜へのグルコース輸送タンパク質 GLUT 4 のトランスロケーションの解析を行った。この結果、CA は血糖値を有意に低下させ、筋形質膜への GLUT 4 のトランスロケーションを増加させるという先行研究の結果を確認した。また、CA の小腸における作用を検討するために、正常モデルマウスにて糖負荷試験を行い、CA の二糖類分解酵素の活性におよぼす影響について解析した。その結果、CA はスクロース負荷 60 分後の血糖値を有意に低下させ、小腸におけるスクラーゼの活性を減少させることを明らかにした。以上の結果より、CA の血糖低下作用は骨格筋における GLUT 4 の膜移行増加による糖の筋組織への取り込み促進および小腸でのスクラーゼ (α -グルコシダーゼ) の阻害による糖の腸管吸収抑制が貢献していると結論した。また、高木氏は糖尿病に合併する食事性高コレステロール血症に CA のおよぼす影響についても検討し、CA は食後の血中コレステロール値を有意に抑制することを見出した。これらの研究成果は、伝統薬による糖尿病治療のメカニズム解明に迫る意義あるものである。当委員会は高木聖氏による学位申請論文の審査および口述による試問を行った結果、博士 (保健衛生学) の学位を授与されるに値すると判断した。

博士学位論文
内容の要旨および審査結果の要旨

第10号
2011年3月

発行 鈴鹿医療科学大学大学院
〒510-0293
三重県鈴鹿市岸岡町1001番地1
TEL 059-383-8991