

氏名 (本籍)	Feten ZAR KALAI (チュニジア)		
学位の種類	博 士 (学術)		
学位記番号	博 甲 第 7112 号		
学位授与年月日	平成26年 7月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Anti-Obesity Effects of Tunisian Halophyte <i>Nitraria retusa</i> (Forsk.) Asch. Through Modulation of Lipid Metabolism (チュニジア塩生植物 <i>Nitraria retusa</i> (Forsk.) Asch.の脂質代謝調節による抗肥満活性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	博士(農学)	礒田博子
副査	筑波大学教授	博士(農学)	丸山幸夫
副査	筑波大学教授	理学博士	繁森英幸
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	韓 峻奎

## 論 文 の 要 旨

塩生植物 (Halophyte) は抗酸化能が高く、厳しい環境条件に対抗することができるため、多くの2次代謝産物を持っていることが報告されている。近年、抗肥満研究において薬用植物や食品由来成分による肥満予防および脂質代謝促進効果に関する研究は注目されている。薬用植物の抗肥満作用のメカニズムは *in vitro* あるいは *in vivo* によって研究されている。

本研究では、伝承薬効を有する北アフリカチュニジア産 6 種類の食用塩生植物 (*Nitraria retusa*, *Tamarix gallica*, *Mesembryanthemum edule*, *Atriplex inflata*, *Arthrophytum scoparium* and *Rhanterium sueavelons*) の抽出物について、ポリフェノール含量および抗酸化活性測定を行った。さらに、前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞を用いて塩生植物の脂肪細胞分化に及ぼす影響を調べた。脂肪細胞の脂肪滴を Oil Red O にて染色し、塩生植物が脂肪細胞分化のマーカーである脂肪滴の蓄積に与える効果を評価した。その結果、*Nitraria retusa* extract の処理によって濃度依存的に脂肪細胞内の脂肪滴の蓄積が著しく抑制されることを見出した。脂肪細胞において細胞毒性が見られなかったことから、*Nitraria retusa* は脂肪細胞の肥大化を制御することで、脂肪細胞内の脂肪滴蓄積を抑制する可能性を見出した。この効果は *Nitraria retusa* 処理が脂肪細胞分化過程において小型脂肪細胞への分化を誘導・維持する可能性が示唆された。また、脂肪細胞の分化に関連する遺伝子である *CEBP- $\alpha$* , *PPAR- $\gamma$* 、脂肪細胞の脂質生成・代謝に関与する遺伝子である *FAS*, *LPL*, *SREBP-1c* の発現への *Nitraria retusa* の影響を定調べたところ、*Nitraria retusa* 処理によって、脂肪細胞の分化に関連する遺伝子、脂肪細胞の脂質生成に関与する遺伝子共に発現量が増加することを確認した。

*in vivo* 実験では、2種類の肥満モデルマウスを用いて *Nitraria retusa* の抗肥満効果を検証した。1つ目の *in vivo* 実験である高脂肪食による肥満誘導マウスを使用して実験においては、*Nitraria retusa* の経口投与(4週間)により、脂肪食による肥満誘導マウスの体重増加および白色脂肪組織重増加の抑制が見られた。さらに、血中の肥満関連項目の評価においては、*Nitraria retusa* の経口投与によりグルコース量の低下、脂質(トリグリセリド)量の減少、善玉として知られている HDL コレステロールの増加が確認された。

肝臓においても *Nitraria retusa* の経口投与により脂質代謝に関連する遺伝子発現増加が見られた。これらの結果から、*Nitraria retusa* は脂質生成・代謝に関わる遺伝子の発現を制御し、肝臓の脂質代謝活性を高めることで、肥満予防・制御できることが示唆された。

2つ目の *in vivo* 実験である糖尿病モデルマウスを用いて *Nitraria retusa* の抗肥満効果の検証を行った。肥満誘導性の糖尿病モデルマウスである *db/db* マウスに *Nitraria retusa* を 30 日間経口投与し、体重増加および白色脂肪組織重を測定した。その結果、*Nitraria retusa* 経口投与により *db/db* マウスの体重増加・白色脂肪組織重増加の抑制効果が見られた。さらに、*Nitraria retusa* 経口投与により *db/db* マウスの血中の脂質(トリグリセリド)の低下、悪玉として知られている LDL コレステロールの減少が確認された。肝臓においては脂質代謝に関連する遺伝子の発現量の影響を調べた結果、*Nitraria retusa* 経口投与により *db/db* マウスの脂質代謝に関する遺伝子の発現増加が見られた。*db/db* マウス試験において脂肪食による肥満誘導マウスの結果と同様の結果が得られたことから *Nitraria retusa* は脂質生成・代謝に関わる遺伝子の発現を制御し、肝臓の脂質代謝活性を高めることで、肥満予防・制御できることが考えられる。

成分分析実験においては *Nitraria retusa* を逆相高速液体クロマトグラフィーにて分析した結果、脂質代謝制御や抗肥満活性が報告されているフラボノイドである luteolin7-*O*-glucoside, isorhamnetin-3-*O*-rutinoside, isorhamnetin, quercetin が多量に *Nitraria retusa* に含まれることを明らかにした。このことから *Nitraria retusa* に含まれている上記の成分が抗肥満における相乗効果を誘導している可能性を示唆した。

## 審 査 の 要 旨

本研究において、食用塩生植物である *Nitraria retusa* 及びその成分による、*in vitro* における脂肪細胞の小型脂肪細胞化および、2つのモデルマウスの *in vivo* 実験による脂質代謝と脂質生成のバランス調節作用について遺伝子レベルで確認し、肥満と肥満により誘導される疾患を予防する新たな食資源シーズを見出した。*Nitraria retusa* の脂肪細胞分化抑制効果および脂質代謝促進効果は本研究で初めて明らかにした研究成果である。食用塩生植物である *Nitraria retusa* は、地中海圏において長く食経験がある伝承薬草であり、今後、生活習慣病発症のリスクを軽減させるための手段の一つになる可能性を示した。さらに、本研究で発見した結果が *Nitraria retusa* の新しい機能性であることから食用塩生植物の機能性食品開発研究に大いに貢献できることが期待される。

平成26年5月27日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。