論文の内容の要旨および論文審査の結果の要旨

学位申請者氏名：豊田　集　　学 位 の 種 類 ：博士（食品栄養学）
学 位 記 番 号 ：博（健）乙第16号　　学位授与年月日：令和7年3月3日
紹 介 教 員 名 ：高崎健康福祉大学特任教授　　綾部　園子

審　査　委　員：主査　高崎健康福祉大学　教授　村松　芳多子
副査　高崎健康福祉大学　准教授　永井　俊匡
副査　放送大学　教授　朝倉　富子

論文題目

メープルシロップ抽出物が糖質および脂質代謝に与える影響

The effects of maple syrup extract on carbohydrate and lipid metabolism

【論文の内容の要旨】

1. はじめに

糖尿病有病率の増加が問題になっている。糖尿病患者の約 95%は 2 型糖尿病であり、遺伝的要因に加え、肥満などの環境的要因により、インスリン抵抗性を生じることで発症するとされている。インスリン抵抗性により糖質や脂質の代謝異常が誘導されるが、このような病態の予防や改善に寄与する食品成分として、ポリフェノールが注目されていることから、これを多数含むメープルシロップに着目した。メープルシロップは、サトウカエデなどの樹液を煮詰めて作られる甘味料である。色や風味の強度により、4 種類に分類されている。これまでに、メープルシロップの種類ごとの検討により、色が濃い程、血糖上昇抑制作用が強いことが報告されている。色を特徴づける成分として、メイラード反応やカラメル化などの非酵素的褐変反応の生成物の寄与が示唆されているが、定量が難しいことから完全には明らかにされていないのが現状である。一方、色が濃い程、ポリフェノールが多く含まれることが示されており、これまでのところ 67 種類のポリフェノールが同定されている。同定されたもののいくつかについては、血糖上昇や脂肪蓄積を抑制する作用が報告されているが、ほとんどのものについては報告がない。したがって、同様の作用を発揮するポリフェノールが他にも含まれることが期待される。そこで本研究では、メープルシロップの血糖上昇抑制作用の機序を解明するために、ポリフェノール濃度を高めた抽出物を調製し、糖質および脂質代謝に与える影響を解析した。

2. 方法

メープルシロップのブタノール抽出物（maple syrup extract: MSE）とエタノール抽出物（maple syrup extract: MSx）の 2 型糖尿病マウスの糖質および脂質代謝に及ぼす影響、MSx の健常（血糖値が正常な）マウスの血糖への影響を確認するために、MSE と MSx を調製し

た。先ず、2 型糖尿病モデル KK-A^y マウスに、MSE を 0.1%添加した飼料をおよそ 6 週間摂取させた後、血液生化学項目の測定および肝臓のトランスクリプトーム解析を行った。次に、2 型糖尿病モデル KK- A^y マウスに、MSx を 0.05%添加した飼料を 6 週間摂取させ、試験期間中は 1 週間毎に随時（非空腹時）血糖値を測定し、試験終了後には血液生化学項目の測定、および肝臓のトランスクリプトーム解析を行った。さらに、健常なマウスにおける血糖上昇の関係を評価するため、血糖値が正常な（C57BL/6N）マウスを用いて、500 または 1000 mg/kg 体重の MSx と 3 種類の糖質（デンプン、マルトース、またはスクロース）を経口投与し、血糖値を測定した。

3. 結果及び考察

1) ブタノール抽出物（MSE）が 2 型糖尿病マウスの糖質および脂質代謝に与える影響

KK-A^y マウスの血糖値や血中インスリン濃度などの糖代謝関連項目には群間差がみられなかったことから、MSE は糖代謝には影響を与えないことが示された。一方、MSE 群では、血中ケトン体濃度が有意に高値を示し、肝臓では脂肪酸の異化経路の遺伝子群が発現上昇していたことから、MSE 給与により脂肪酸の β-酸化が亢進していることが示唆された。さらに、血中の肝障害マーカーが MSE 群で有意に低値を示した。これらの結果から、肝障害が誘導される一因である脂肪の蓄積が、MSE の摂取で抑制されたことで、肝障害が緩和された可能性が考えられた。

2) エタノール抽出物（MSx）が 2 型糖尿病マウスの糖質および脂質代謝に与える影響

1 週目でのみ随時（非空腹時）血糖値が MSx 群で有意に高値を示したが、その後は対照群と同レベルで推移していた。試験期間終了時の血液測定項目からは、糖代謝への影響は示されなかった。一方、血中 LDL コレステロール（low-density lipoprotein cholesterol）は、MSx 群で有意に低値を示した。KK- A^y マウスは脂質異常症を呈することから、MSx の摂取により、その一部が緩和される可能性が示唆された。肝臓では、コレステロール合成のみならず、異化代謝に関わる遺伝子群が MSx 群で発現上昇していた。この結果から、MSx の摂取により、コレステロールの合成を上回る異化が引き起こされたことで、LDL コレステロールが低下した可能性が考えられた。

3) エタノール抽出物（MSx）が健常なマウスの血糖上昇に与える影響

C57BL/6N マウスにデンプンまたはマルトースを共投与したところ、MSx 群で血糖値の上昇が抑制された。MSx は、これらの糖質分解酵素の阻害活性試験において、α-アミラーゼおよびマルターゼの活性を阻害したことから、MSx による血糖上昇抑制作用は、少なくとも糖質分解酵素の阻害を介している可能性が考えられた。

4. まとめ

2 種類の溶媒を用いて調製したメープルシロップ抽出物が、糖質と脂質代謝に与える影響を、2 種類のマウスを用いて検討した。その結果、糖質分解酵素の阻害を介した血糖上昇抑制作用や、脂肪酸の異化促進作用による肝障害抑制作用および LDL コレステロール低下作用を発揮する可能性が見いだされた。

【論文審査の結果の要旨】

メープルシロップはサトウカエデ（メープル）の樹液を加熱、濃縮したものでカナダの名産品である。日本国内では、埼玉県、山形県、新潟県、北海道、宮崎県の一部地域でイタヤカエデの樹液から採取されるが、その生産量はわずかである。学位申請者らは、カナダ産メープルシロップの機能性成分の効果について動物実験により生理学的およびゲノム学的検討を行っている。

本論文は、第1章「序論」、第2章「メープルシロップのブタノール抽出物が2型糖尿病マウスの糖質および脂質代謝に与える影響」、第3章「メープルシロップのエタノール抽出物が2型糖尿病マウスの糖質および脂質代謝に与える影響」、第4章「メープルシロップのエタノール抽出物が健常なマウスの血糖上昇に与える影響」、第5章「総合討論」から構成されている。

第1章では、研究背景をふまえて、2型糖尿病の健康問題とその代謝に関わる要因について言及したうえで、ポリフェノール類を含むメープルシロップの機能性成分が血糖上昇抑制作用の機序を解明することを本論文の目的とすることを述べている。

第2章では、糖尿病モデル KK-A^y マウスにおけるメープルシロップのブタノール抽出物（MSE）の糖質・脂質代謝の影響を明らかにするために、MSE を添加した飼料を6週間給与した。しかし、MSE の糖質代謝への効果はみられず、糖質分解酵素の阻害作用は可逆的かつ一時的であると考えられた。脂質代謝への影響については、MSE は *Srebf1* 発現低下を介して脂質合成を抑制することが示唆され、糖尿病の悪化危険因子である非アルコール性肝疾患（NAFLD）に関与し糖尿病予防に寄与する可能性が見いだされた。また、血中肝障害マーカーの結果より肝障害の緩和の可能性が確認された。MSE 給与 KK-A^y マウスの肝臓の遺伝子発現より脂肪合成の抑制、および脂肪分解の促進も示唆された。

第3章では、糖尿病モデル KK-A^y マウスに対するメープルシロップのエタノール抽出物（MSx）の糖質・脂質代謝の影響を明らかにするために、MSx を添加した飼料を6週間給与した。①随時（非空腹時）血糖値、②血液生化学値、③肝臓および白色脂肪細胞の遺伝子発現、④肝臓中コレステロールと糞中胆汁酸、⑤腸内細菌叢等を調べている。MSx 給与によって1週目に血糖値が上昇したのは、KK-A^y マウスの生体内防御反応による抵抗であり、2週間目以降に MSx による血糖値変化が観察されなくなったことから、MSx の血糖降下作用は穏やかであると考察している。また、高血糖は炎症によって症状が悪化するが、MSx 給与 KK-A^y マウスの肝臓の遺伝子発現より、免疫系に影響を与える可能性を見いだしている。

第4章では、第3章の結果を踏まえて MSx の血糖上昇に対する影響を C57BL/6N マウスにて検証するために、マウスに MSx を経口投与した後、3種類の糖質（デンプン、マルトース、スクロース）をそれぞれ経口投与し、経時的に血糖値を測定した。その結果、MSx はマルトースとデンプン投与時には血糖上昇抑制作用があることを確認できた。その機序を明確にするためα-アミラーゼ、マルターゼ、スクラーゼに対する MSx 阻害活性を調べたところ、いずれの酵素に対しても MSx は阻害活性を示した。さらにデンプンの消化を強く阻害することなく血糖値の上昇を抑制する特性が興味深く、MSx は腹部膨満、鼓腸、腸閉塞

等の副作用を押さえつつ、血糖値の上昇を穏やかに抑制することが示唆された。

以上、糖尿病モデルKK-A^yマウスに対する2種類のメープルシロップ抽出物（MSE、MSx）の血糖上昇抑制作用機序の解明という観点から、詳細に糖質・脂質代謝機構について明らかにした本成果は、非常に興味深く、学術的価値が高い。

食品の機能性を解析する研究において、実験条件の設定、サンプルの調製など、不均一な天然素材を解析するのは難しい。本研究は可能な限り高精度を確保したうえでの実験であり、解析も緻密であり評価できる。また、網羅的解析では膨大なデータから重要な変化を抽出するのは難しい場合が多いが、本研究においてメープルシロップの糖質・脂質代謝への影響を明確に見いだしており、高く評価できる。ブタノール抽出物とエタノール抽出物で、異なる作用機序の一端を解明できたことは、メープルシロップ中の成分と生体応答との対応を見いだす上で重要な知見とも言える。

本研究の成果が健康増進（未病）に役立つメープルシロップの機能性解明の一助として有用であることが示唆されており、さらなる発展が期待できる。

なお、本論文の第2章ならびに第3章の研究内容は、既に査読のある原著論文（英文）として掲載されている[1, 2]。

論文審査は主査と副査2名による審査（2025年1月15日）と、公開発表の場における最終試験（2025年2月13日）により行われた。本論文は完成度が高く、質疑に対する的確な応答等から、本研究科博士課程に相応しい内容であると言える。

以上のことから、論文審査および最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審議した結果、本論文が博士（食品栄養学）の学位を授与するに値するものと判断した。

1) Tsudoi Toyoda, Asuka Kamei, Tomoko Ishijima, Keiko Abe, Shinji Okada：A maple syrup extract alters lipid metabolism in obese type 2 diabetic model mice, Nutrition & Metabolism, 16:84, 2-8, December 2019. https://doi.org/10.1186/s12986-019-0403-2

2) Tsudoi Toyoda, Kota Iida, Tomoko Ishijima, Keiko Abe, Shinji Okada, Yuji Nakai：A maple syrup extract alleviates liver injury in type 2 diabetic model mice, Nutrition Research, Vol. 73, 97-101, January 2020. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.10.006

【学力の確認の結果の要旨】

本論文の審査を通して学位申請者の学力の確認を行い、博士として十分な学識を有していることが確認できた。さらに専門分野と外国語の試験を課したところ、いずれも高得点（S評価）であった。また、外国語については本論文の研究内容を2報の英語原著論文（査読付き）として掲載されている。審査の結果、十分な専門分野の学識力と語学力が確認できた。

以上より、本学位申請者は博士課程を修了した者と同等以上の学力を有すると判断した。