

氏 名 : 関目 綾子
学 位 の 種 類 : 博士 (学術)
学 位 記 番 号 : 博甲第 26 号
学位授与の日付 : 平成 26 年 3 月 18 日
学位授与の要件 : 東京家政大学大学院学位規程第 3 条第 2 項該当
家政学研究科 人間生活学専攻
学位論文題目 : 肥満と性差についての研究
論文審査委員 : (主査) 教 授 宮坂 京子
教 授 木元 幸一
教 授 佐藤 吉朗
教 授 森田 幸雄
准教授 大西 淳之

論文の内容の要旨

現在の日本では、肥満やメタボリックシンドローム該当者割合は、男性の方が女性より高率であり、メタボリックシンドローム及び予備軍該当者数は平成 23 年で男性 50.2%、女性 17.6%である。メタボリックシンドロームの増加の理由には脂質の摂取割合の増加が考えられる。昭和 22 年には脂質からのエネルギー摂取割合は 7%であったが、平成 22 年には 26%に増加した。一方で、日常の脂肪の摂取比率は、男性の方が女性より多いわけではなく、男性の方が肥満やメタボリックシンドロームの発生頻度が高い理由は不明である。本研究では肥満・メタボリックシンドロームの発現における『生物学的な性差』の重要性について検討した。また、コレステロール胆石は戦後の 50 年で急激に発生頻度が増加したが、これもまた脂肪摂取の増加、肥満、脂質代謝異常の結果と考えられている。胆嚢収縮機能異常を呈するコレシストキニン 1 受容体ノックアウト型(CCK-1RKO)マウスを用いて、野生型と比較することで胆石発生頻度の変化もあわせて検討した。

本研究は第 I 章から第 IV 章までの構成となっている。第 I 章は、研究に使用する実験動物である CCK-1RKO マウスについて、および同マウスの遺伝子型確認の方法について記述した。第 II 章は、第 I 章のマウスを用いて、飼料の栄養バランスの変化により、肥満や脂質異常症、胆砂および胆石発生が引き起こされるか、またそれらの発現に性差が見られるか、検討を行った。第 III 章は、II 章の実験で見られた雄マウスの食餌誘導性肥満・脂質異常症発症のメカニズムを解明するため、精巣除去手術を行った雄マウスで実験を行った。第 IV 章では、糖尿病に食餌誘導性の発現増加がみられるか、さらに発現増加に精巣 (テストステロン) が関与するかどうか検討を行った。

第 I 章は、研究に使用する実験動物である CCK-1RKO マウスについて、および同マウスの遺伝子型確認の方法について記述した。CCK とはペプチドホルモンの一種で、古典的な消化管ホルモンであるとともに、神経ペプチドとしての働きもある。消化管において CCK は上部小腸の I 細胞から分泌され、膵臓からの消化酵素分泌促進、胆嚢を収縮させ胆汁を分泌させる、脳に満腹感を伝える等の作用がある。

CCK の受容体には 1 と 2 の 2 種類が知られており、マウスでは CCK-1R は膵臓・胆嚢などに存在し、CCK-2R は主に胃や脳に存在する。

本研究で使用する CCK-1RKO マウスは遺伝子操作により、CCK-1R を作る遺伝子配列の一部を LacZ という遺伝子配列に置き替えている。このマウスでは CCK-1R が存在しないため、CCK の働きがあらわれず、胆嚢収縮不全がみられ、胆石が発現しやすい。CCK-1RKO ヘテロ型マウス同士の交配で得られたマウスに PCR 法による遺伝子型確認を行い、野生型(wild)、CCK-1RKO 型、ヘテロ型に分け、次章の実験に使用した。

第 II 章は、第 I 章のマウスを用いて、飼料の栄養バランスの変化により、肥満や脂質異常症、胆石が引き起こされるか、またそれらの発現に性差が見られるか、検討を行った。戦後の日本人の栄養バランスの変化を再現した飼料、すなわち総カロリーは普通食と同じであるが、たんぱく質と脂質の割合を数%ずつ高く（たんぱく質 22.6%→27.6%、脂肪 5.6%→7.9%）し、代わりに糖質の割合を減らした（炭水化物 53.8%→43.8%）飼料(高たんぱく質-高脂肪食)を実験に使用した。

雌雄 wild および CCK-1RKO 型マウスに、普通食または高たんぱく質-高脂肪食を 3 ヶ月齢から 12 ヶ月齢までの 9 ヶ月間投与し、体重、血漿総コレステロール、血漿中性脂肪を測定し、胆嚢所見を観察した。

雄マウスでは、どちらの遺伝子型でも普通食投与群より高たんぱく質-高脂肪食投与群で有意に体重が重く、血漿脂質も高たんぱく質-高脂肪食投与群が高値であった。雌では、体重、血漿脂質ともに飼料による差はみられなかった。胆嚢所見は、雌雄ともに CCK-1RKO マウスの方が wild マウスよりも、有意に（胆嚢混濁などの）所見有りが多かった。しかし、飼料の違いによる有意の影響は、みとめられなかった。一方、雄 wild マウスでは、普通食では胆嚢に所見が認められなかったが、高たんぱく質-高脂肪食投与群では胆嚢の混濁等の所見が 9 匹中 2 匹に認められた。

食餌誘導性肥満・脂質異常症の発現には性差が見られ、雄マウスの方が雌マウスよりも高率であった。

第 III 章は、II 章の実験で見られた食餌誘導性肥満・脂質異常症発現における性差のメカニズムを解明するため、性ホルモンに注目した。精巣除去手術を行うことで、精巣(テストステロン)の影響を減らした雄マウスで実験を行った。

精巣除去手術または偽手術を行った雄 CCK-1RKO マウスに高たんぱく質-高脂肪食を 3 ヶ月齢から 12 ヶ月齢まで投与し、体重、血漿総コレステロール、血漿中性脂肪を測定し、胆嚢所見を観察した。

精巣除去マウスは偽手術マウスよりも体重・血漿脂質が有意に低値であり、食餌誘導性肥満・脂質異常症の発現が抑制された。胆嚢所見には差がみられなかった。

食餌誘導性肥満・脂質異常症の発現が雌マウスより雄マウスの方が高率である理由には、精巣の働き（テストステロン）が関与していると考えられる。

第 IV 章では、糖尿病に、食餌誘導性の発現増加がみられるか、さらに発現増加に精巣の働きが関与するかどうか検討を行った。雄 CCK-1RKO マウスおよび精巣除去雄 CCK-1RKO マウスに高たんぱく質-高脂肪食を投与し、糖尿病判定検査を行った。

高たんぱく質-高脂肪食投与群は、普通食投与群より血糖値が高く、精巣を除去すると血糖値上昇が抑えられる傾向であった。従って、糖尿病にも食餌誘導性の発現増加が見られ、発現には精巣の働きが関与することが示唆された。

本研究にて肥満やメタボリックシンドロームの発現における『生物学的な性差』の重要性について検討した結果、雄マウスの方が、食餌によって、肥満や脂質代謝異常、糖代謝異常が生じやすいこと、発現に精巣の働きが関与している可能性がある、という知見が得られた。

論文審査の結果の要旨

肥満やメタボリックシンドローム該当割合に男女差が存在すること（圧倒的に男性の方が発生頻度が高い）に着目し、生物学的な性差の重要性を、野生型およびコレシストキニン(CCK) 1 受容体(R)欠損 (KO) マウスを用いて解明しようとしたものである。戦後 60 年における日本人の食事内容は大きく変化し、タンパク質や脂肪の摂取が増加した。日本人の食事内容の変化に合わせて、タンパク質と脂肪の含有量を数パーセントずつ高くし、炭水化物の含有量を減らすことで総エネルギー量を従来の飼料と同じにした飼料をマウスに9ヶ月間投与してその影響をしらべた。

この研究の特筆すべき点の一つとして、胆嚢収縮機能異常とコレステロール胆石を発症しやすい CCK-1RKO マウスをモデル動物として用いたことにある。また飼料を、戦後の日本人の栄養バランスの変化を再現して調整している点も注目に値する。

結果は、雄マウスでは、遺伝子型にかかわらず、摂取エネルギーは従来の飼料と同程度であるにも関わらず、体重は増加し、血中脂質濃度も増加し、胆石胆砂の発生頻度も増加した。一方、雌マウスでは、飼料の相違による影響は、いずれの遺伝子型においても、認められなかった。すなわち、雄マウスでは食餌誘導性肥満が生じていたが、雌マウスでは食餌誘導性肥満は認められなかった。その理由として、精巣-男性ホルモンの関与を想定して、精巣摘出を行っている。結果は、精巣摘出により、肥満、脂質異常、耐糖能異常のすべてが改善された。

- ・ 結果として、新規性のある以下の4点を明らかにした。
- ・ 野生型および CCK-1RKO マウスでは、ともに食餌誘導性肥満・脂質異常症の発現は雄マウスに特有である。
- ・ 精巣除去した雄 CCK-1RKO マウスでは食餌誘導性肥満・脂質異常症の発現が有意に抑制された。（この内容に関しては、日本消化吸収学会 天野学術奨励賞を受賞している。）
- ・ CCK-1RKO 雄マウスでは高タンパク質-高脂肪食投与した場合、体重増加および糖尿病の発症率が普通食より高い
- ・ 精巣除去した CCK-1RKO 雄マウスでは食餌誘導性の糖尿病発症を抑えることができた。

以上の内容を評価し、審査員一同は、本論文が本学の学位申請において、合格に値すると認める。