



Title	トウモロコシタンパク質由来 GLP-1 分泌誘導成分の同定および有効性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	野口, 洋樹
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15752号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91916
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NOGUCHI_Hiroki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（農学） 氏名 野口 洋樹

審査担当者 主査 准教授 比良 徹
副査 教授 園山 慶
副査 教授 石塚 敏
副査 准教授 加藤 英介

学位論文題名

トウモロコシタンパク質由来 GLP-1 分泌誘導成分の同定および有効性に関する研究

現代では、健康寿命の向上を目指し、食環境や運動などの日常生活行動を中心に据え、疾病の予防や健康維持・増進に重点が置かれるようになってきた。食環境については、特定保健用食品や機能性表示食品など、食品の機能性に焦点を当てた製品が制度化されており、新規有効性成分の探索と製品開発の重要性が高まっている。

グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) は、食後の糖代謝調節に深く関与する消化管ホルモンの一種で、インスリンの分泌促進作用に加えて、膵外作用（食欲調節、抗炎症、血管機能改善など）に寄与することが示されている。GLP-1 受容体作動薬などのインクレチン薬の使用は、糖尿病や肥満関連疾患の予防と治療に注目されているが、副作用のリスクがあるとともに糖尿病や肥満の予備軍への適用性においては制約もある。そのため、生体内の GLP-1 利用能を高めるための栄養学的アプローチが代替または補完的な解決策として考えられている。実験動物を用いた先行研究において、トウモロコシ由来タンパク質 (Zein) から調製した加水分解物 (ZeinH) が GLP-1 分泌を促進し、その後のインスリン分泌を促進することで食後高血糖を抑制することが明らかにされた。本研究では、その有効成分を同定し、さらに、臨床試験においてその有効性を検証した。

ZeinH 由来の GLP-1 分泌誘導ペプチドの探索

ZeinH は多数のペプチド断片を含む混合物であり、その作用本体は特定されていない。当試験では、ZeinH の活性ペプチドの特定を試みた。その結果、ZeinH のプロナーゼ処理前後での質量分析とペプチド同定を行い、処理前後で共通のペプチド 12 種類を ZeinH の活性成分候補として同定した。合成したペプチドの GLP-1 分泌活性は GLP-1 分泌細胞を用いて評価したが、いずれも活性を確認できなかった。今回の試験条件では、ZeinH の GLP-1 分泌活性において寄与度の高いペプチドを特定できなかった。

トウモロコシタンパク質水抽出物 (ZeinS) の GLP-1 分泌誘導作用の検討

ZeinH と ZeinS の活性画分は一部共通であると考え、ZeinS の GLP-1 分泌活性を細胞試験と動物試験 (ラット) で評価した。その結果、ZeinS の GLP-1 分泌誘導と血糖上昇抑制効果を確認し

た。これにより、ZeinS が ZeinH の活性画分として寄与する可能性が示された。

ZeinS の活性成分の特定

ZeinS の固相抽出・HPLC 分画と質量分析によって活性成分の特定を試みた。その結果、細胞試験で GLP-1 分泌活性を示す画分を特定し、その活性画分の質量分析と同定化合物の活性評価の結果から、単独で活性を示す γ -アミノ酪酸 (GABA) と、GABA との併用で相乗活性を示すフェニルアラニン (Phe) を特定した。

ZeinS および活性成分の GLP-1 分泌促進機構の検討

ZeinS および GABA と Phe の併用による GLP-1 分泌活性の作用メカニズムを解明するために、細胞試験で候補受容体の阻害剤を用いた活性変化を評価した。その結果、GLP-1 分泌は GABA_A 受容体およびカルシウム感受性受容体の阻害剤で抑制された。ZeinS の GLP-1 分泌活性はこれらの受容体を介することを明らかにした。

ZeinS 由来活性成分の追加探索

GABA の適切な摂取量に関する安全性情報は十分だが、Phe については不十分であった。そこで、Phe の代替としてリンゴ酸 (MA) の有効性を評価した。その結果、定量分析によって MA が ZeinS に含まれ、細胞試験で GABA と MA の併用が相乗的に GLP-1 分泌を誘導することが確認された。これにより、MA の有効性が示唆された。

GABA と MA の単回同時摂取が健康成人の GLP-1 分泌誘導および食後血糖応答に及ぼす影響

健康成人を対象に無作為化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー比較試験を実施した。食事前に GABA と MA またはプラセボを単回摂取し、食事後 180 分間の血中 GLP-1 (総・活性型)、グルコース、インスリン濃度変化を評価した。その結果、GABA と MA の摂取により食後の血中 GLP-1 (総・活性型) 濃度および曲線下面積 (0-180 分) が増加した。一方、血中グルコースとインスリン濃度には GABA と MA の摂取による変動を認めなかった。

本研究は、ZeinH の有効性に寄与する関与成分として GABA、Phe、および MA の相乗作用が寄与することを明らかにした。また、ヒト試験において GABA と MA の併用による相乗的な GLP-1 分泌増加の可能性も提示された。GLP-1 の糖代謝調節作用や膵外作用に対する栄養学的アプローチは、糖尿病や肥満の予備軍や健康意識の高い人々において疾病予防や健康維持に寄与するものと考えられる。

よって、審査員一同は、野口洋樹氏が博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。