



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ケンフェロールのミトコンドリア機能向上作用の解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	櫻井, 知子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(保健科学)
Dissertation Number	甲第16329号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94909
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Akiko_Sakurai_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（保健科学）

氏名：櫻井 知子

審査委員	主査	教授	石津 明洋
	副査	教授	恵 淑萍
	副査	教授	本間 直幸（北海道情報大学）

学位論文題名

ケンフェロールのミトコンドリア機能向上作用の解明

当審査は令和7年1月22日実施の公開発表にて行われた。（出席者61名）

非アルコール性脂肪性肝疾患（Nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD）は2023年に代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（Metabolic Dysfunction Associated Steatotic Liver Disease: MASLD）と新たに定義され、世界中で有病率が急増している。NAFLDに酸化ストレスや炎症などが加わると予後不良の非アルコール性脂肪性肝炎（Non-alcoholic steatohepatitis: NASH）に進行するが、現在NAFLD/MASLDに承認された治療薬は無い。そのため、NAFLD/MASLDの予防/治療法の開発が期待されている。本研究では、NAFLD患者においてミトコンドリア機能異常が生じることを糸口に、ミトコンドリアの機能向上や回復を標的としてMASLDの予防/治療法を探ることとした。本研究ではフラボノイドのKaempferol（KMP）に注目した。KMPは脂肪肝あるいはNAFLDモデルにおいて脂肪肝の改善効果が報告されている。しかし、ミトコンドリア機能改善のメカニズムに着目したNAFLD/MASLDにおけるKMPの効果の報告は無い。そこで第I章および第II章では、肝培養C3A細胞を用いた非脂肪肝および脂肪肝モデルにおけるKMPのミトコンドリア機能への効果を調査した。

第I章および第II章では細胞外フラックス解析により、KMPがC3A細胞においてATP産生を含むミトコンドリア呼吸機能を増強することが明らかになったと共に、そのメカニズム解析が行われた。メカニズム解析ではまずcarnitine palmitoyltransferase 1A（CPT1A）が注目された。CPT1Aはミトコンドリア外膜に局在し、linoleic acid（LA）などの長鎖脂肪酸をミトコンドリアに輸送し、 β 酸化の活性化に関連してATP産生に寄与する。本研究では、KMPがCPT1Aの遺伝子発現を増加させた。したがって、KMPが β 酸化の増加に寄与した可能性が示された。さらにミトコンドリア膜脂質であるCardiolipin（CL）が着目された。CLはミトコンドリアのエネルギー代謝に必要な脂質である。また、18:2アシル鎖（18:2）を4つ含むCL72:8はCL分子種の中でも成熟した機能的な形態である。本研究により、KMPはCL72:8だけでなくCLの総量も増加させることが初めて示された。さらに、tafazzin（TAZ）はCLの合成時に優先的に18:2をMonolyso-cardiolipin（MLCL, CLの代謝産物）に結合させる酵素である。TAZの活性については、CL72:8 / MLCL 54:6の比によって18:2の取り込みを表現することで推定した。この結果、TAZ活性の指標がKMP添加で増加した。このことから、KMPはTAZ活性に関与してCL72:8の合成を促進させたと考えられる。以上より、

KMP によるミトコンドリアのエネルギー代謝を活性化させるメカニズムは以下の通りと考えた。KMP の添加は、CPT1A を介する LA をはじめとする脂肪酸のミトコンドリアへの取り込みを促進させた。ミトコンドリア内に増えた脂肪酸は β 酸化に使われ、 β 酸化で生じた電子が電子伝達系に渡り ATP の産生が増加した。さらには、LA は CL の合成に使われ、KMP によって TAZ も活性化し、その結果 CL72:8 の生合成が促進され、ミトコンドリア膜の質が改善されてミトコンドリアが活性化したと考えられた。

第 III 章では、(1) KMP とリポタンパク質との結合について調査すること、および、(2) KMP の high-density lipoprotein (HDL) および low-density lipoprotein (LDL) に対する抗酸化能について中心的に調査した。これまでに、KMP が oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) の酸化を抑制するとの報告があるが、LDL の構成要素のうち何の分子の酸化を抑制したのかなどの詳細な機序はわかっていない。HDL に対する KMP の酸化抑制効果については今のところ報告がない。KMP がリポタンパク質と結合して血中で存在し得るかについても不明な点が多い。そこで本研究では、HDL と LDL の表面を構成する脂質である phosphatidylcholine (PC) とその過酸化物である phosphatidylcholine hydroperoxides (PC-OOH) およびコアを構成する脂質である cholesteryl ester (CE) とその過酸化物である cholesteryl ester hydroperoxides (CE-OOH) を分析し、KMP のリポタンパク質に対する抗酸化能を評価した。

今回 KMP が HDL を始め各リポタンパク質と結合することを確認できた。本研究では、LDL の脂質のうち、具体的に、酸化による PC-OOH と CE-OOH の KMP による形成抑制が証明された。また、今回初めて HDL に対する KMP の抗酸化効果を明らかにした。過酸化脂質の抑制効果のある KMP は、酸化ストレス性疾患である MASH の発症リスクを軽減する作用が期待された。

以上より、血中において KMP は、LDL や HDL の血中リポタンパク質に結合して、強い抗酸化作用を発揮することが示された。今回、*in vitro* における LDL および HDL に対する抗酸化作用を立証した本研究成果は、今後の MASLD/MASH の有用な予防/治療法の開発に繋がると考えられた。

これを要するに、本研究では肝培養細胞を用いて KMP がミトコンドリアにおける β 酸化の活性化や膜脂質の改善に寄与しミトコンドリアのエネルギー代謝を活性化することが示された。また、KMP が LDL や HDL に結合し、抗酸化作用を発揮することが初めて明らかとなった。これは KMP が血中リポタンパク質の抗酸化に有用である仮説をサポートする。本研究より脂肪肝モデル細胞を使用して得られた知見、およびリポタンパク質への結合とその酸化抑制試験の知見は、将来の動物およびヒト試験に繋がっていくと結論づけられた。

よって著者は、北海道大学博士（保健科学）の学位を授与される資格があるものと認める。