

審査結果の要旨

論文題目「後期糖化生成物 (AGEs) を用いた健康状態モニタリング技術に関する研究」

学位申請者 山中 幹宏

本論文は、生活習慣病の発症に伴って生体に蓄積が増加することが知られている糖化反応後期生成物 (AGEs: Advanced Glycation End-products) を非侵襲的に測定する手法を確立し、実際、糖尿病合併症の発症に伴って AGEs 蓄積が増加することを示している。また、ラットでも糖尿病の発症によって耳介の AGEs 蓄積が増加し、さらに、健康効果が提唱されているスポン卵エキスを投与すると、生体 AGEs が低下することを示したものである。本論文の題目が選ばれた社会的背景として、近年の高齢化に伴う生活習慣病の有病率増加があげられる。特に糖尿病は典型的な生活習慣病の一つであり、現在わが国にはその予備軍まで含めると、およそ 2050 万人存在すると言われている。生活習慣病の啓発が謳われているにも関わらずその罹病人口が減らない理由の一つとして、病態の進行過程では痛みがないことがあげられる。したがって、痛みがなく自己意識がもちにくい疾患の予防には、簡便で早期に診断できるシステムが必要となる。既に糖尿病の血糖値のマーカーとしてヘモグロビン A1c (HbA1c) が測定されているが、HbA1c では糖尿病合併症のマーカーとはならないことが知られている。これまでに AGEs は、糖尿病合併症、動脈硬化、アルツハイマー病等の発症に伴って蓄積が増加することから、加齢関連疾患との関与が示唆されている。そこで本論文では、生体 AGEs を再現性高く、かつ非侵襲的に測定する手法を検討し、糖尿病合併症の評価および、AGEs 生成阻害化合物の効果検証に利用している。

まず、生体 AGEs を検出可能な蛍光波長を選択する目的で、既に AGEs 含量が高いことが報告されている透析患者血清を用いて、最適蛍光波長を調べている。その結果、励起波長を 340 nm、蛍光波長を 440 nm で測定すると血清中の蛍光物質が検出され、さらに健常者より透析患者においてその蛍光強度が高いことを確認している。本波長で検出される蛍光物質が糖尿病の発症で如何に変化するかを調べる目的で、マウスに糖尿病を誘発した所、糖尿病誘発 3 ヶ月から耳介における蛍光強度が増加することを確認している。次に、蛍光測定を用いてヒトの皮膚中 AGEs を評価する目的で、皮膚の自家蛍光を測定することに適した部位の選定を行っている。蛍光の測定はメラニン等の褐色色素の沈着によって強く影響を受けることを確認した結果、最終的にメラニン含量が低く、かつ毛細血管のみで静脈がない指尖では測定値の変動が低いことを確認している。さらに、利き腕、非利き腕の人差し指、中指、薬指のうち、どの指尖が蛍光測定にふさわしいかを評価した結果、非利き腕の中指が最も測定値が安定していることを確認し、指尖の自家蛍光が安定して測れるクリップ構造を有する測定装置を作製している。本測定装置を用いて 2 型糖尿病患者の経皮蛍光強度を測定したところ、一患者あたりの糖尿病合併症保有数の増加に伴って有意に蛍光値が上昇することを確認している。本結果は、AGEs 構造の一つであり液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置 (LC-MS/MS) で測定された N^δ-(5-hydro-5-methyl-4-imidazolone-2-yl)-ornithine (MG-H1) の血中濃度と相関しており、本装置で測定される蛍光物質が既知の AGEs 構造と同様の変動を示すことも確認している。また、本ヒト実験では、過去 1-2 ヶ月の血糖値を反映し、糖尿病の指標として用いられている HbA1c も同時に測定しているが、HbA1c では合併症の有無による有意な変動が認められ

ていない。以上のことから、経皮蛍光の測定は糖尿病合併症の予測に利用できるマーカーとなる可能性が示され、実際、本研究にて開発された装置で簡便に糖尿病合併症の有無を評価できると考えられる。

さらに、本研究において開発された経皮蛍光測定装置は、生体で AGEs 生成抑制作用を示す食品成分の探索にも活用できることが期待される。そこで、古来より滋養強壮や生活習慣病予防に利用されてきたスッポン卵(soft shelled turtle eggs: STE)の AGEs 生成抑制効果を評価している。ストレプトゾトシンで誘発した糖尿病のモデルラットに 1% STE, 5% STE 混餌食を投与、また既に AGEs 生成抑制効果が報告されているクエン酸を陽性コントロールとして飲料水 (0.2%溶液) で投与し、3 ヶ月飼育している。解剖後、AGEs 構造の一つである N^ε-(carboxymethyl) lysine (CML)の血清濃度を LC-MS/MS で測定し、さらに耳介および下歯茎の AGEs を経皮蛍光で測定している。その結果、糖尿病罹病において上昇した血清中 CML 値はクエン酸投与同様、スッポン卵エキスの投与によって減少していることを確認している。さらに耳介および下歯茎の AGEs もスッポン卵エキスの投与によって有意に減少していることを経皮蛍光測定で確認している。しかし、スッポン卵エキスの投与によって、酸化反応で生成する CML の血清濃度は低下しているが、糖化反応の前期生成物であるグリコアルブミン濃度は変化していないことから、スッポン卵エキスは単に糖尿病ラットの血糖値を改善したのではなく、生体において酸化反応や炎症反応を改善したことによる可能性にも言及した結論としている。本実験において、これまで民間的に用いられてきたスッポン卵エキスが、糖尿病ラットで蓄積する AGEs の生成を抑制することがはじめて明らかとなり、本エキスが何故健康促進に良いかを理解する一つのメカニズムを提唱している。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。

したがって、申請者 山中 幹宏 は東海大学博士 (農学) の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	農学博士	荒木 朋洋	農学部教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	理学博士	須田 斎	理学部教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士 (医学)	永井 竜児	農学部准教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士 (農学)	安田 伸	農学部准教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士 (工学)	米田 一成	農学部准教授	(生物科学研究科生物科学専攻)