



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ビタミンB6 欠乏時肝臓脂質蓄積とメチオニン代謝異常の関連

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2018-08-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 北川, 絵里奈 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/56221

氏 名 (本 国 籍)	北川 絵里奈 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 6 7 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 9 年 3 月 1 3 日
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	ビタミン B ₆ 欠乏時肝臓脂質蓄積とメチオニン代謝 異常の関連
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教 授 中 川 智 行 副査 岐阜大学 教 授 早 川 享 志 副査 静岡大学 教 授 河 合 真 吾

論 文 の 内 容 の 要 旨

ビタミン B₆ (B6) は種々の生体内代謝に関わっており、その不足はホモシステイン血症など現在注目されている代謝異常の原因となる。申請者は B6 欠乏下でメチオニン負荷が高い場合に安定して発症する肝臓脂肪蓄積についてその要因をメチオニン代謝異常との関連で明らかにしようとした。

第 1 章緒論においては、ビタミン B6 のメチオニン代謝への関わりについて現在の知見を記述し、本実験の動機づけとして、メチオニン代謝異常との関連について予測した。

第 2 章においては、B6 欠乏時肝臓脂質蓄積に対するコリン、ホスファチジルコリン (PC)、ベタインの段階的添加効果について検討した。Exp. 1 では、B6 欠乏飼料に Met 代謝関連物質として葉酸、コリン、ホスファチジルコリン (PC) を添加して、肝臓脂質蓄積に及ぼす効果を検討した。4 週齢の Wistar 系雄ラットを 5 群に分け ($n=7$)、コントロール飼料、B6 を除いた B6 欠乏飼料、葉酸 (8 mg/ kg 飼料)、コリン (2 g/ kg 飼料)、もしくは PC (6.3 g/ kg 飼料) をそれぞれ添加した B6 欠乏飼料を各群のラットに 35 日間与えた。ただし、すべての飼料には、L-Met (9 g/ kg 飼料) を負荷した。その結果、B6 欠乏群では肝臓に脂質が蓄積したが、コリンおよび PC 添加群では肝臓脂質蓄積が改善傾向であった。また、B6 欠乏群では血漿 VLDL+LDL コレステロール ((VLDL+LDL) -C) 濃度が低下したが、コリンおよび PC 添加群では回復傾向であった。改善効果は PC の方がコリンより高かった。VLDL は肝臓から全身へ脂質を運搬するリポタンパク質であり、球状構造の内部にトリグリセリド (TG) やコレステロールなどの脂質を含み、表面をリン脂質やアポタンパク質が覆っている。従って、B6 欠乏時肝臓脂質蓄積は VLDL の分泌が低下するために惹起されたが、コリンおよび PC 添加により VLDL 分泌が回復し、肝臓脂質蓄積が改善した可能性が示唆された。

第3章においては、B6 欠乏時肝臓脂質蓄積に対するコリン、PC、ベタインの段階的添加の効果について検討した。Exp. 2 では、B6 欠乏飼料にコリンを 2, 4, 6 g/ kg 飼料それぞれ添加し、効果を検討した。その結果、4 g/ kg 飼料以上のコリン添加で、肝臓総脂質、TG、およびコレステロールの蓄積が改善し、B6 欠乏により低下した血漿 (VLDL+LDL) -C 濃度が回復した。また、肝臓および血漿中で増加した Hcy がコリン添加により有意に減少した。Exp. 3 では、B6 欠乏飼料に PC を 3.15, 6.3, 12.6 g/ kg 飼料それぞれ添加し、効果を検討した。その結果、6.3 g/ kg 飼料以上の PC 添加で、肝臓脂質の蓄積や血漿 (VLDL+LDL) -C 濃度の低下といった一連の脂質代謝異常が改善傾向であった。また、肝臓および血漿 Hcy、肝臓 S-アデノシルホモステイン (SAH) の蓄積が PC 添加により改善傾向であった。以上より、コリンおよび PC 添加により脂質代謝異常が改善したことから、B6 欠乏時にはコリンや PC が不足することで肝臓脂質蓄積が惹起されることが示唆された。また、VLDL の構成成分である PC が不足し、VLDL 分泌が減少することが予想された。さらに、Hcy 蓄積が改善した要因として、PC からコリン、コリンからベタインが合成されることで、Hcy をメチル化する基質が補給され、Hcy の蓄積が改善したと考えられた。Exp. 4 では、B6 欠乏飼料にベタインを 1, 2, 4 g/ kg 飼料それぞれ添加し、効果を検討した。その結果、4 g/ kg 飼料のベタイン添加で、脂質代謝異常が改善傾向であった。また、肝臓および血漿 Hcy、肝臓 SAH の蓄積がベタイン添加により改善傾向であった。従って、ベタイン添加で肝臓脂質蓄積が改善したことから、Met 代謝の改善を介して B6 欠乏時肝臓脂質蓄積が改善することが明らかとなった。また、B6 欠乏により肝臓ミクロソーム中のホスファチジルエタノールアミン (PE) が蓄積し、PC/PE 比が低下した。B6 欠乏が惹起した SAH の蓄積により、PE のメチル化による PC 合成が抑制されたことが示唆された。また、PE 由来の PC は VLDL 合成に必要であるため、PE のメチル化の阻害により VLDL 合成および分泌が低下したと考えられた。

第4章では、B6 欠乏時肝臓脂質蓄積に対するコリンおよびベタインによる改善効果の比較を行った。Exp. 5 では、B6 欠乏飼料にベタイン (2 g/ kg 飼料) およびコリン (4.3 g/ kg 飼料) を物質量としてそれぞれ 17 mmol/ kg 飼料となるよう統一添加し、さらに両者を同時添加して改善効果を比較した。その結果、脂質代謝異常およびメチオニン代謝異常がいずれも改善し、17 mmol/ kg 飼料のベタインもしくはコリンの添加は B6 欠乏時の代謝異常を改善する十分量であることが示唆された。そこで、Exp. 6 では両者の添加量を半減し、B6 欠乏飼料にベタイン (1 g/ kg 飼料) およびコリン (2.15 g/ kg 飼料) を物質量としてそれぞれ 8.5 mmol/ kg 飼料となるよう統一添加し、改善効果を比較した。その結果、コリン添加では Met 代謝異常の改善傾向が認められ脂質代謝異常が改善したが、ベタイン添加ではいずれも有意な改善は認められなかった。従って、コリンの方がベタインより改善効果が高いことが示された。また、コリン添加により、肝臓ベタイン量が有意に増加した。そのため、コリンを摂取した方が効率良く吸収され、肝臓でベタインとして利用されやすいことが示唆された。

第5章では、以上の結果に基づく考察をおこなった。L-Met を負荷した B6 欠乏時には、肝臓に Hcy が蓄積することで SAH も蓄積し、それにより PE からの PC 合成

が低下し、PC/PE 比が低下することを明らかにした。すなわち B6 欠乏により PC 合成が低下することで正常な VLDL 合成が阻害され、肝臓から VLDL 分泌が減少し、肝臓に脂質が蓄積する機構を提唱した。一方、PC、コリン、ベタインの添加により、肝臓脂質蓄積が改善した。これは、PC からコリン、コリンからベタインが合成されることで、ベタインが Hcy の再メチル化の基質となり Hcy の過剰な蓄積が抑制されたため、一連の代謝異常を改善できたと考えられる。改善効果については、物質量を統一して飼料中に添加した場合、PC、コリン、ベタインの順に効果が高く、これらの小腸での吸収効率や肝臓での利用率などが影響している可能性を示唆した。

審 査 結 果 の 要 旨

ビタミン B6 (B6) はメチオニン (Met) 代謝に関わっており、近年認知症との関連で注目されているホモシステイン (Hcy) 血症は、B6 不足により増強され、葉酸の強化により改善することが明らかにされている。この研究過程で、B6 欠乏飼料への L-Met 添加を高めた場合、Hcy の蓄積増加に伴い肝臓重量の増加を認めた。申請者は、この肝臓重量の増加は肝臓における脂質蓄積によることを見出し、栄養学的改善法を明らかにするとともに、この蓄積機構を Met 代謝の観点から解明を行った。

1. B6 欠乏により惹起される肝臓脂質蓄積に対する関連物質の効果の解明

実験 1 では、Met 代謝関連物質として葉酸、コリン、ホスファチジルコリン (PC) を添加した場合の肝臓脂質蓄積に対する効果について検討を行った。L-Met (9 g/ kg 飼料) を負荷した B6 欠乏飼料で惹起される肝臓脂質蓄積は、コリンおよび PC 添加群では肝臓脂質蓄積が改善傾向であった。また、B6 欠乏群では血漿 VLDL+LDL コレステロール ((VLDL+LDL) -C) 濃度が低下したが、コリンおよび PC 添加群では回復傾向で、改善効果は PC の方がコリンより高かった。本実験により、B6 欠乏時肝臓脂質蓄積は VLDL の分泌が低下するために惹起されるが、コリンおよび PC 添加により VLDL 分泌が回復し、肝臓脂質蓄積が改善した可能性を示した。

2. B6 欠乏時肝臓脂質蓄積に対するコリン、PC、ベタインの段階的添加の効果

実験 2 では、B6 欠乏飼料にコリンを 2, 4, 6 g/ kg 飼料それぞれ添加した。その結果、4 g/ kg 飼料以上のコリン添加で、肝臓総脂質、中性脂肪 (TG) およびコレステロールの蓄積が改善し、B6 欠乏により低下した血漿 (VLDL+LDL) -C 濃度が回復すること、肝臓および血漿中で増加した Hcy がコリン添加により有意に減少することを明らかにした。実験 3 では、B6 欠乏飼料に PC を 3.15, 6.3, 12.6 g/ kg 飼料それぞれ添加した。その結果、6.3 g/ kg 飼料以上の PC 添加で、肝臓脂質の蓄積や血漿 (VLDL+LDL) -C 濃度の低下といった脂質代謝異常や、肝臓および血漿 Hcy、肝臓 S-アデノシルホモシステイン (SAH) の蓄積が改善傾向であった。実験 4 では、PC やコリンから供給可能なベタインを B6 欠乏飼料に 1, 2, 4 g/ kg 飼料それぞれ添加した。その結果、4 g/ kg 飼料のベタイン添加で、脂質代謝異常や肝臓および血漿 Hcy、肝臓 SAH の蓄積が改善傾向であった。以上より、ベタインの改善効果は、Met 代謝の改善を介することを明らかにするとともに、B6 欠乏により肝臓ミクロソーム中のホスファチジリエタノールアミン (PE) が蓄積し、PC/PE 比が低下し、B6 欠乏に

より惹起された SAH 蓄積により, PE のメチル化による PC 合成が抑制され, VLDL 合成および分泌の低下を招いたことによると結論づけた。

3. B6 欠乏時肝臓脂質蓄積に対するコリンおよびベタインによる改善効果の比較

コリンとベタインの改善効果の比較のため, 物質量としてそれぞれ 17 mmol/ kg 飼料 (実験 5) および 8.5 mmol/ kg 飼料 (実験 6) を飼料に添加して実験を行った。その結果, 実験 5 では, 脂質代謝異常およびメチオニン代謝異常がいずれも改善し, 17 mmol/ kg 飼料のベタインもしくはコリンの添加は B6 欠乏時の代謝異常を改善するのに十分量であることが明らかとなった。続いて, 実験 6 では, コリン添加では Met 代謝異常の改善傾向が認められ, 脂質代謝異常が改善したが, ベタイン添加ではいずれも有意な改善は認められなかった。従って, コリンの方がベタインより改善効果が高いことを明らかにした。

以上の結果より, B6 欠乏時には, 肝臓に Hcy が蓄積することで SAH も蓄積し, それにより PE からの PC 合成が低下し, PC/PE 比が低下することが明らかとなった。すなわち B6 欠乏により PC 合成が低下することで正常な VLDL 合成が阻害され, 肝臓から VLDL 分泌が減少し, 肝臓に脂質が蓄積する機構を明らかにした。

以上について, 審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

【学位論文の基礎となる学術論文】

1. Kitagawa E, Yamamoto T, Yamamoto K, Nakagawa T, Hayakawa T: Accumulation of lipid in rat liver was induced by vitamin B₆ deficiency and was ameliorated by supplemental phosphatidylcholine in the diet. Biosci. Biotechnol. Biochem., 79: 1320-1326, 2015.

2. Kitagawa E, Yamamoto T, Fujishita M, Ota Y, Yamamoto K, Nakagawa T, Hayakawa T: Choline and betaine ameliorate liver lipid accumulation induced by vitamin B₆ deficiency in rats. Biosci. Biotechnol. Biochem., 81: 316-322, 2017.

【既発表学術論文】

1. 北川絵里奈, 平塚ちあき, 岡見雪子, 関豪, 佐々木敏, 辻とみ子 母親の食育実行度と微量栄養素摂取量との関連性 名古屋文理大学紀要 13, 175-183, 2013