

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 細川 陽子  
 学位 博士 (農学)  
 学位記番号 新大院博 (農) 第 194 号  
 学位授与の日付 令和元年 9 月 20 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
 博士論文名 血液生化学自動分析装置を用いた酵素活性多項目同時測定法の開発と応用

論文審査委員 主査 教授・城 斗志夫  
 副査 教授・藤村 忍  
 副査 教授・北岡 本光  
 副査 准教授・原 崇

博士論文の要旨

生体系における代謝機能の研究は酵素活性の測定を中心に発展してきた。しかし、従来から行われている手分析による測定は、時間や手間がかかる上、測定者の技術が結果に影響するなど問題が多い。そこで本研究では、臨床検査で多用されている血液生化学自動分析装置を酵素活性の測定に適用し、栄養・代謝機能研究のためのツールとして活用することを試みた。

本研究では自動分析装置として **Biolis 24i Premium** (東京貿易メディシス株式会社製) を用いた。最初に、糖質・脂質代謝関連酵素の活性測定に適用するため、測定手法の開発とメソッドの構築を行った。肝臓中の代表的な 8 種類の酵素 (グルコキナーゼ (GK), ピルビン酸キナーゼ (PK), グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PD), クエン酸シンターゼ (CS), イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH), アセチル-CoA カルボキシラーゼ (ACC), 脂肪酸シンターゼ (FAS), カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT2)) について、従来の吸光光度計を用いた手分析による測定と、自動分析装置を用いた測定を行い、両手法間の再現性の有無を確認し、データの比較・検討を行った。その結果、8 種類の酵素全てにおいて、手分析と自動分析との間で高い再現性 (相関係数  $R^2 = 0.77 \sim 0.99$ ) を示すことが確認され、自動分析装置により多検体・多酵素の同時測定が可能であることが示された。次に、自動分析装置の応用例として、ラット肝臓中の糖質・脂質代謝関連酵素の活性に摂食/絶食時間がどのような影響を与えるのかを調べた。制限給餌したラットに絶食 (8 時間/24 時間) 及び再摂食を行い、自動分析装置で肝臓中の 8 種類の酵素活性を測定したところ、糖質代謝関連酵素及び脂肪酸合成系酵素は、絶食時間が長くなるにつれ活性が抑制される傾向にあったが、脂肪酸の  $\beta$  酸化関連酵素は逆に絶食時間が長くなるにつれ活性化される傾向が見られた。一方、TCA 回路の酵素は絶食時間の長さに関わらず恒常的に作用していることが確認された。さらに、難消化性デンプン (RS) 含量の多さや消化速度の低下といった特徴を持つ高アミロース米や湿熱処理米が、中アミロース米や未処理米と比較して生体内の糖質・脂質代謝にどのような影響を及ぼすかを調べた。アミロース含量の異なる米品種 (コシヒカリ (KH) 及び越のかおり (KK)) の未処理玄米と湿熱処理 (HMT) 玄米を調製し、各々精米した白米試料を高脂肪飼料に添加してラットに長期間摂

取させ、アミロース含量と玄米に対する HMT がラットのエネルギー代謝に及ぼす影響を検討した。米粉の成分分析より RS 含量と食物繊維含量は高アミロース米の方が多く、湿熱処理で増加する傾向があり、デンプン消化速度の結果と対応していた。飼料の違いによるラットの成長への影響は見られなかったが、高アミロース米摂取による糞重量の有意な増加が確認された。血液成分の分析から、空腹時血糖値と血中トリグリセリドは、湿熱処理米の摂取により値が有意に低下した。また、湿熱処理によって ACC 活性は低下したが、GK, PK, CPT2 活性は増加したことから、解糖系の代謝は促進され、脂肪酸合成系の代謝は抑制される傾向にあると推測された。これらの結果より、高アミロース米や湿熱処理米の摂取によってデンプンの消化速度が低下し、血糖値上昇が緩やかになった結果、血中インスリン濃度が低下し、脂肪酸合成が抑制され、血中トリグリセリド濃度の低下が生じると推察された。

#### 審査結果の要旨

本論文は、臨床検査で多用されている血液生化学自動分析装置を酵素活性の測定に適用し、栄養・代謝機能研究のためのツールとして活用することを試みた論文である。糖質・脂質代謝に関連する 8 種類の酵素の自動分析装置を用いた一斉自動分析法を確立するとともに、その応用例として、ラット肝臓中の糖質・脂質代謝関連酵素の活性に摂食／絶食時間が及ぼす影響と高アミロース米や湿熱処理米の摂取が生体内の糖質・脂質代謝に及ぼす影響を調べている。その結果は、本分析法が様々な栄養・代謝研究に利用可能であることを示しており、その成果は高く評価される。

また、本論文の主な内容は、申請者を筆頭著者として「米アミロース含量と玄米に対する湿熱処理が高脂肪飼料投与ラットの糖質・脂質代謝に及ぼす影響」と題する論文として日本食物繊維学会が発行するルミナコイド研究 23 巻, 1 号に掲載が決定している。

よって、本論文は博士（農学）の博士論文として十分であると認定した。

# 最終試験の結果の要旨

報告番号	甲 第 194 号	氏 名	細川 陽子
審査委員氏名	主査 教授・城 斗志夫 副査 教授・藤村 忍 副査 教授・北岡 本光 副査 准教授・原 崇		
<p>最終試験の結果の要旨</p> <p>令和元年8月6日の午後2時00分より2時40分まで、新潟大学農学部大会議室で開催された生命・食料科学専攻の学位申請論文公開発表会における20分の口頭発表ならびにその後の質疑応答をもって最終試験とした。</p> <p>申請者は、生体系における代謝研究の課題について説明した後、糖質・脂質代謝に関連する8種類の酵素の血液生化学自動分析装置を用いた一斉自動分析法の確立と高アミロース米や湿熱処理米の摂取が生体内の糖質・脂質代謝に及ぼす影響の解析への応用について述べ、その内容は確立した分析法が様々な栄養・代謝研究に利用可能であることを示す有用な結果であった。</p> <p>発表は全体としてわかりやすくまとめられ、その後の質疑応答では予定時間を超える活発な議論が交わされた。質疑では、詳細な酵素活性の測定方法や解析方法、当該研究の意義などについて質問されたが、その応答は的確であり、本研究に関する知識が十分に備わっていると認められる内容であった。</p> <p>本発表終了後に審査委員会を開催して審議した結果、全員一致で最終試験は合格と判定した。</p>			