

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：32636

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00885

研究課題名(和文) AGEs生成に着目した低糖質食による動脈硬化発症リスクの検討

研究課題名(英文) The influence of the low-carbohydrate diet on AGEs production

研究代表者

蕪木 智子 (Kaburagi, Tomoko)

大東文化大学・スポーツ健康科学部・准教授

研究者番号：40339479

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、非肥満状態における低糖質食(LC)および中鎖脂肪酸を含むLC食(MCT-LC)の摂取が及ぼす影響を、実験モデルマウスを用いて検討した。LC食は、体重および血糖値に影響を与えず、腎系球体の肥大と細動脈の硝子化を伴う腎重量の増加を示した。MCT-LC食では、副睪丸周囲脂肪重量の抑制および脂肪細胞面積の肥大抑制効果が認められた。また、腎臓ではケトン体より生成されるAGEsのN<sup>-</sup>-(carboxyethyl)lysineが、MCT-LC食で有意に低下した。非肥満状態におけるLC食は、肥満抑制はなく、脂質代謝低下や腎臓への負担増大などで生活習慣病を誘発リスクが高まることが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the impact on intake of a low-carbohydrate (LC) diet and an LC diet containing a medium-chain triglyceride (MCT-LC) on non-obese condition, using an experimental mouse model. The body weight and blood glucose levels did not differ between groups. In the LC diet, increment of renal weight, and glomerular hypertrophy and arteriolar hyalinosis were observed. In the MCT-LC diet, suppression of epididymal adipose tissue and adipocyte area hypertrophy were observed. In the level of renal AGEs production, N<sup>-</sup>-(carboxyethyl)lysine was lower in the MCT-LC group. Therefore, the LC diet in the non-obese condition has no antiobesity effect, indicating that has the risk of health damage is high such as a decrease in lipid metabolism and an increase in burden on the kidney and the liver.

研究分野：栄養学、栄養生理学、栄養生化学

キーワード：低糖質食 非肥満状態 中鎖脂肪酸 脂肪細胞 腎臓 最終糖化産物

1. 研究開始当初の背景

低糖質食 (Low-Carbohydrate diets; LC 食) は、血糖値コントロールや肥満改善に有効とされる一方で<sup>1-2)</sup>、動脈硬化性疾患を惹起する可能性が報告されるなど<sup>3-4)</sup>、その安全性が危惧されている。さらに、LC 食による肥満・糖尿病予防効果を期待し、非肥満者 (健康者) でも LC 食を実施する人々も存在する。しかし、非肥満者における LC 食の影響については AGEs 生成を含め十分な検討がされていない。

申請者はこれまでに非肥満状態における LC 食が酸化ストレスを増加させることを確認しているが、動脈硬化リスクを示す酸化 LDL 生成との関連は認められなかった (科研費課題番号 25870740)。よって、LC 食は酸化 LDL 以外の機序により、動脈硬化性疾患を誘発している可能性がある。

生体における糖化反応は、最終糖化産物 (Advanced glycation endproducts; AGEs) 生成による糖尿病の発症・合併症の進展をはじめ、動脈硬化など生活習慣病発症に関与する。これまで、低糖質食 (LC 食) は血糖値上昇を抑制し、AGEs 生成を抑えるとの考えから、糖尿病、動脈硬化など生活習慣病予防に有効であるとの報告が多くなされてきた<sup>5)</sup>。しかし、AGEs 生成は血糖を原因とする以外に、脂肪酸分解によるケトン体や酸化ストレスを原因として生じることが明らかとなっている<sup>6)</sup>。つまり、高血糖状態のみが AGEs 生成の誘発原因でないということである。LC 食は、体内の脂肪酸の分解進行によるケトン体生成増加と酸化ストレスを増大させる 2 つの知見から、と AGEs 生成に影響する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、非肥満状態における LC 食および中鎖脂肪酸含有 LC 食が AGEs 生成に与える影響について、実験モデルマウスを用いて解析を行った。LC 食の安全性と生活習慣病発症との関連を明らかにすると共に、生活習慣病予防に向けた食事療法の開発を目指すものである。

3. 研究の方法

1) 実験動物

6 週齢 C57BL6/j 雄マウスについて、各実験食各群 5 匹、計 15 匹使用した。

2) 実験飼料

低糖質食として、AIN-93G をベースとした Control 食 (糖質 60%、大豆油 20%) から LC 食 (糖質 20%、大豆油 20%、ラード 25%)、MCT-LC 食 (糖質 20%、大豆油 20%、MCT 油 25%) を作成した。

3) 実験方法

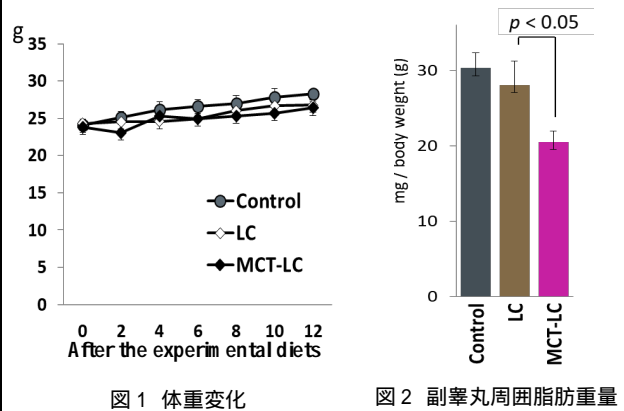
各実験飼料をそれぞれ 2 週間または 12 週間自由摂取させ、解剖時に採血および副睾丸周囲脂肪、腎臓、肝臓を採取し以下について検討を行った。

4) 検討項目

- ・ 体重 (2 回 / week)、摂餌量測定 (2 回 / week)
- ・ 各種臓器 (肝臓、腎臓) 重量および副睾丸周囲脂肪重量
- ・ 血清生化学値、ケトン体 (β-ヒドロキシ酪酸) 含む
- ・ 免疫組織学的 AGEs の検出
- ・ グリコールアルデヒド (動脈硬化発症に関連するたんぱく修飾因子)
- ・ 肝臓組織における脂肪肝評価 (HE 染色および Sudan Rot B 染色)

4. 研究成果

(1) 非肥満状態における LC 食の体重、副睾丸周囲脂肪蓄積量への影響



体重変化は各実験食により有意な影響は見られなかった (図 1)。副睾丸周囲脂肪重量は、MCT-LC 食でのみ、Control 食に比し有意に低値を示した (図 2)。

よって、非肥満状態において、単に糖質を減らした LC 食は体重減少や内臓脂肪抑制効果はないが、脂質を中鎖脂肪酸に置き換えることで、その効果が得られる可能性が示された。

(2) 血糖値および血清中ケトン体レベル  
 随時血清中のケトン体レベルは、MCT-LC 群が、空腹時血清中では LC 食と MCT-LC 食で有意に高い値を示し、特に MCT-LC 食の摂取は慢性的にケトン体生成が高まっていることが確認された (表 1)。血中グルコースは、各群間に有意な差異を認めなかった。

表 1 血清中ケトン体 (β-ヒドロキシ酪酸) および血糖値

	Postprandial serum		Fasting serum	
	血糖値 (mg/dl)	ケトン体 (μmol/ml)	血糖値 (mg/dl)	ケトン体 (μmol/ml)
Control	300.5 ± 9.15	1.48 ± 0.08	185.5 ± 25.50	0.08 ± 0.01
LC	333.8 ± 23.80	1.65 ± 0.17	204.2 ± 21.85	0.31 ± 0.03
MCT-LC	264.9 ± 37.74	1.72 ± 0.18	141.2 ± 7.09	0.45 ± 0.12

(3) 腎臓重量および糸球体の組織学的観察  
 腎臓では、LC 食および MCT-LC 食において、糸球体小血管の肥大および硝子化を伴う、重

量の増大が示された(図 3a,3b)。

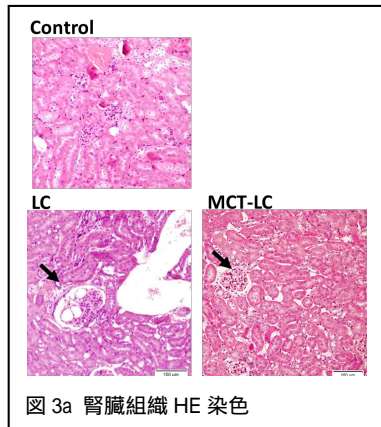


図 3a 腎臓組織 HE 染色

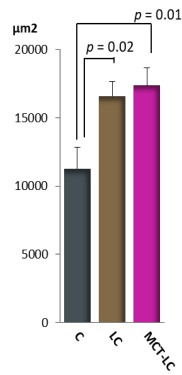


図 3b 糸球体面積

#### (4) 腎臓における AGEs の検出

ケトン体由来 AGEs である carboxyethyl-lysine (CEL) は、腎臓ホモジネート上清において MCT-LC 食による有意な低下を示した(図 4)。

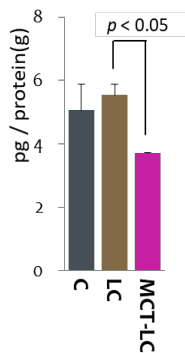


図 4 腎臓ホモジネート上清中 CEL

(5) 肝臓組織におけるグリコーゲン蓄積量 LC 食により肝臓のグリコーゲン蓄積量は著しく低下した。MCT-LC 食は LC 食に比較するとグリコーゲン蓄積低下が緩やかとなる傾向が認められ、中鎖脂肪酸の摂取によりケトン体がエネルギー源として優先的に消費されている可能性が示された(図 5)。

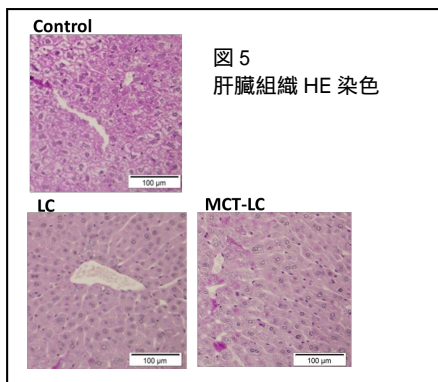


図 5 肝臓組織 HE 染色

#### (6) 副睾丸周囲脂肪細胞への影響

脂肪細胞は肥大により、アディポサイトカイン分泌機能が崩れ、高血圧、動脈硬化等生活習慣病の誘発因子となることが知られている。今回、非肥満マウスにおいて、脂肪細胞面積は LC 食による有意な変化はなかったが、MCT-LC 食により著しく肥大抑制が起こる事が確認された(図 6)。

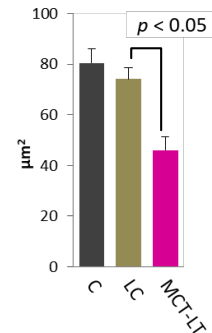


図 6 副睾丸周囲脂肪面積

#### (7) まとめ

本研究では、非肥満状態における低糖質食の影響を検討した。結果、非肥満状態での LC 食は、肥満で報告されている体重、内臓脂肪抑制効果、血糖値コントロールなどの効果は認められなかった。一方で、非肥満状態では、LC 食により腎系球体肥大や AGEs 蓄積により腎機能低下を引き起こす危険性が示唆された。我々は、非肥満マウスでは、LC 食により肝臓の脂質代謝機能が低下することもすでに確認している<sup>7)</sup>。

よって非肥満状態における LC 食は、腎臓や肝臓への負担増大、脂質代謝低下などにより生活習慣病を誘発する可能性が高いことが示された。一方で、LC 食と中鎖脂肪酸を併行摂取することで、内臓脂肪抑制や腎臓での AGEs 蓄積、脂肪細胞肥大の抑制が示されたことは、アスリートなどで高たんぱく食を好む非肥満者において、健康維持に向けた食事療法としての活用が期待できる。

#### <引用文献>

- 1) American Diabetes Association. Nutrition recommendations and interventions for diabetes. Diabetes Care, 2008.
- 2) Bernstein R. Dr. Bernstein's diabetes solution Newly revised & Updated. Little Brown and Company, New York, 2007.
- 3) Ligiou P et al. BMJ 2012.
- 4) Long-Term Low Carbohydrate Diet Leads to Deleterious Metabolic Manifestations in Diabetic Mice. PLOS one, 2014
- 5) Hession M et al. Arch Intern Med 2006

- 6) Nagai R et al. Diabetes 2002  
 7) Kadowaki S, Kaburagi T. Diabetes & Obesity Int J 2;3:1-9, 2017

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 4 件)

- 1) Kaburagi T, Kizuka Y, Kitazume S, Taniguchi N. The Inhibitory Role of  $\alpha$ 2,6-Sialylation in Adipogenesis. J Biol Chem 10:2278-2286, 2017.
- 2) Kadowaki S, Kaburagi T. Different effects on hepatic lipid metabolism of low carbohydrate diet on obese and non-obese mice. Diabetes & Obesity Int J 2;3:1-9, 2017.
- 3) Kadowaki S, Kaburagi T. Effect of a Low Carbohydrate-High Protein Diet in Non-obese Mice. Jap J Nutr Diet 7:51-59, 2016.
- 4) Shibuya T, Kaburagi T, Nagai R, Oshiro S. The effects of moderate exercise on secretory IgA production in mice depends on dietary carbohydrate intake. J Clin Biochem Nutr 571:44-49, 2015.

### 〔学会発表〕(計 6 件)

- 1) Kaburagi T, Kizuka Y, Kitazume S, Taniguchi N. Inhibitory Role of  $\alpha$ 2,6-Sialylation in Adipogenesis. RIKEN international symposium: Systems Glycobiology and Beyond (Wako, Saitama), 2017
- 2) 金木一馬、高野樹、蕪木智子. 低糖質食および中鎖脂肪酸摂取は腎機能および AGEs 産生を変化させる. 第 27 回日本メイラード学会(坂戸), 2017
- 3) Kadowaki S, Kaburagi T. Low carbohydrate diet effects on the metabolic regulation system in obese and non-obese mice.the 12th Asian Congress of Nutrition (Yokohama), 2016
- 4) Oshiro S, Kadowaki S, Kaburagi T. Proteomic analysis of rat saliva proteins for restraint stress biomarkers. The 25th Meeting of International Society For Neurochemistry (Cairns, Australia), 2016
- 5) 金木一馬、高野樹、蕪木智子. AGEs 生成に低糖質食および中鎖脂肪酸摂取が与える影響. 第 71 回日本栄養・食糧学会大会 (沖縄、那覇), 2016
- 6) 蕪木智子、木塚康彦、川口しのぶ、谷口直

之.糖転移酵素 ST6GAL1 による肥満の抑制. 第 71 回日本栄養・食糧学会大会 (沖縄、那覇), 2016.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

大学ホームページ

<https://gyouseki.jm.daito.ac.jp/dbuhp/KgApp?kyoinId=yemdegeomggo>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

蕪木 智子 (KABURAGI, Tomoko)  
 大東文化大学・スポーツ・健康科学部・准教授  
 研究者番号：40339479

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし

### (4)研究協力者

大塚 裕子 (OTSUKA, Yuko)  
 大東文化大学・スポーツ・健康科学部・実験助手