

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16205

研究課題名(和文) 転写因子THRSPを標的とした小腸吸収機能制御と心血管疾患リスク低減への展開

研究課題名(英文) Regulation of absorptive function via THRSP in the small intestine and the development for risk reduction of cardiovascular disease

研究代表者

島田 昌也 (SHIMADA, Masaya)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：10576755

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)：転写因子THRSPと小腸糖質消化吸收関連遺伝子および肝臓脂肪酸合成系遺伝子との関連性を検討した。高グルコース食と比較し、高フルクトース食を摂取したラット小腸では、フルクトース輸送体 GLUT5の遺伝子発現が著増したが、THRSPの遺伝子発現には影響を与えなかった。また、高グルコース食と比較し、高フルクトース食を摂取したラット肝臓では、脂肪酸合成系遺伝子(ACACA, FASN, SCD1)だけでなくTHRSP遺伝子の発現も著増した。

研究成果の概要(英文)：We examined the relationship between a transcription factor THRSP and genes related to carbohydrate digestion/absorption in the small intestine and to fatty acid synthesis in the liver. Small intestinal expression of GLUT5 gene, not THRSP gene is significantly higher in rats fed a high-fructose diet than those fed a high-glucose diet. Hepatic expression of THRSP gene as well as fatty acid synthesis genes (ACACA, FASN, SCD1) is significantly higher in rats fed a high-fructose diet than those fed a high-glucose diet.

研究分野：分子栄養学

キーワード：THRSP フルクトース

1. 研究開始当初の背景

(1) 糖質に応答する転写因子である Thyroid hormone responsive protein (THRSP) は、主に脂肪合成組織 (肝臓、白色脂肪組織など) に発現し、脂肪合成に関与する遺伝子と同調して変動することが報告されている。この糖応答性の転写因子 THRSP は小腸にも発現することはわかっているものの、その機能は未だ不明な点が多い。日本人の総摂取エネルギーの 60% が糖質で占められていることを踏まえ、日々の食生活・食習慣によって摂取した糖質の増減により、実質的な栄養素吸収の入り口である小腸の THRSP が鋭敏に応答することが推察される。

(2) 小腸の消化吸収関連遺伝子は、陰窩の未分化な増殖細胞が吸収上皮細胞へと分化しながら絨毛へ移動する過程で発現し、流入する栄養素の吸収に対応する。これまでの研究により研究代表者は、小腸上部へグルコースの流入が増大するような食餌をげっ歯類 (ラットおよびマウス) に継続的に摂取させると、小腸上部における糖質の吸収関連遺伝子 (管腔側に局在する Na⁺-グルコース共輸送体 SGLT1、消化酵素マルターゼ・グルコアミラーゼ MGAM など) の発現が亢進するだけでなく、転写因子 THRSP の発現も亢進することを明らかにしてきた。小腸上部に多くの単糖 (グルコースおよびフルクトース) が流入するような食生活・食習慣が続くと、THRSP の発現 (核内移行) の亢進を介して、糖質の消化吸収関連遺伝子の転写を活性化することが推察される。これら糖質消化吸収関連遺伝子の転写活性化から誘導され糖質の消化酵素および輸送体のタンパク質発現の増大は、食後の高血糖や門脈を介した肝臓脂質蓄積 (脂肪肝) をさらに亢進させ、心血管疾患のリスクを増大させるという仮説に至った。

2. 研究の目的

(1) 食餌中の糖質の質を変動させた際に、転写因子 THRSP が小腸の糖質消化吸収に関連する遺伝子の発現の制御に関与するか否かを *in vivo* で解明することを目的とする。

(2) 食餌中の糖質の質を変動させた際に、転写因子 THRSP が肝臓の脂肪酸合成に関連する遺伝子の発現の制御に関与するか否かを *in vivo* で解明することを目的とする。

(1)、(2) による THRSP を標的とした小腸の糖質消化吸収機能の制御および肝臓の脂質蓄積機能の制御は、心血管疾患の重要なリスク因子である食後の高血糖や脂肪肝の予防に貢献する。

3. 研究の方法

(1) デンプンの分解物である二糖類マルトースを糖質の供給源 (20% 含有) とした

食餌を対照とし、消化吸収遅延作用がある二糖類トレハロースを糖質の供給源 (20% 含有) とした食餌をラットに摂取させ小腸糖質消化吸収に及ぼす影響を検討した。

(1) デンプンの分解物である二糖類マルトースを糖質の供給源 (40% 含有) とした食餌を対照とし、消化吸収遅延作用がある二糖類トレハロースを糖質の供給源 (40% 含有) とした食餌をラットに摂取させ小腸糖質消化吸収に及ぼす影響を検討した。

(1) 単糖類グルコースを糖質の供給源 (65% 含有) とした食餌を対照とし、強力なリポジェニック作用が報告されている単糖類フルクトースを糖質の供給源 (65% 含有) とした食餌をラットに摂取させ小腸糖質消化吸収に及ぼす影響を検討した。

(2) 単糖類グルコースを糖質の供給源 (65% 含有) とした食餌を対照とし、強力なリポジェニック作用が報告されている単糖類フルクトースを糖質の供給源 (65% 含有) とした食餌をラットに摂取させ肝臓の脂質代謝に及ぼす影響を検討した。

4. 研究成果

(1) 体重増加量、総食餌摂取量、肝臓重量および腸間膜脂肪重量は、マルトース食とトレハロース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。小腸上部 (空腸) のスクラーゼ活性、マルターゼ活性およびトレハラーゼ活性は、マルトース食とトレハロース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。肝臓トリグリセリド濃度、血清トリグリセリド濃度および血清グルコース濃度は、マルトース食とトレハロース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。

(1) 体重増加量、総食餌摂取量、肝臓重量および腸間膜脂肪重量は、マルトース食とトレハロース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。小腸上部 (空腸) のスクラーゼ活性、マルターゼ活性およびトレハラーゼ活性は、マルトース食とトレハロース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。肝臓トリグリセリド濃度は、マルトース食を摂取させたラットと比較し、トレハロース食を摂取させたラットにおいて有意 ($P < 0.05$) に増加した。血清トリグリセリド濃度および血清グルコース濃度は、マルトース食とトレハロース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。2.5% トレハロース溶液を 8 週間にわたって長期的に飲ませたマウスでは、2.5% グルコース溶液を飲ませたマウスと比較して、腸間膜脂肪細胞のサイズが低下したという報告がある。本研究では、40% という高濃度のトレハロースを含有する食餌を摂取させたラットでは、肝臓トリグリセリド濃度が増加した。それゆ

え、低濃度のトレハロースを長期的に摂取することが、小腸においてトレハロースの糖質消化吸收遅延作用および脂質蓄積抑制作用を発揮することに繋がるかもしれない。

(1) 体重増加量および総食餌摂取量は、グルコース食とフルクトース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。小腸上部(空腸)の管腔側に局在するSGLT1の遺伝子発現量および基底膜側に局在する促進拡散型グルコース輸送体GLUT2の遺伝子発現量は、グルコース食とフルクトース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。空腸の管腔側に局在する促進拡散型フルクトース輸送体GLUT5の遺伝子発現は、グルコース食を摂取させたラットと比較し、フルクトース食を摂取させたラットにおいて有意($P < 0.01$)に増加した。これらの結果は、すでに報告されているフルクトースを還流させたラット小腸における輸送体の遺伝子発現の変動と類似した。空腸のTHRSPおよびTHRSPを標的とする転写因子である糖質応答配列結合タンパク質ChREBPの遺伝子発現量は、グルコース食とフルクトース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。研究代表者は、小腸へのグルコースの流入量を変動させると、それに同調してTHRSPおよびChREBPの発現が変動することをすでに報告しているが、今回の結果は、フルクトースによるGLUT5発現の誘導にはTHRSPおよびChREBPが関与しない新規の機構が存在することを示唆する。

(2) 体重増加量、総食餌摂取量および肝臓コレステロール濃度は、グルコース食とフルクトース食を摂取させたラットの間で有意な差はなかった。肝臓重量、肝臓トリグリセリド濃度、血清中性脂肪濃度および血清総コレステロール濃度は、グルコース食を摂取させたラットと比較し、フルクトース食を摂取させたラットにおいて有意に増加した(図1)。

図1. 身体・生化学パラメーター

	グルコース	フルクトース
増体量(g)	48 ± 4	44 ± 2
総摂食量(g)	155 ± 7	147 ± 4
肝重量(g/100g体重)	4.2 ± 0.1	5.4 ± 0.2 **
肝臓トリグリセリド濃度(mg/g肝臓)	29 ± 9	100 ± 26 *
肝臓コレステロール濃度(mg/g肝臓)	12 ± 1	16 ± 2
血清トリグリセリド濃度(mg/dL)	140 ± 8	228 ± 25**

血清総コレステロール濃度(mg/dL)	89 ± 4	124 ± 9**
---------------------	--------	-----------

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

肝臓における脂肪酸合成酵素FASNのタンパク質発現量ならびに果糖分解系酵素KHK, ALDOB, 脂肪酸合成系酵素ACACA, FASN, SCD1および脂肪合成系転写因子CHREBP, THRSPの遺伝子発現量をイムノプロットおよびリアルタイム定量PCRによって測定したところ、グルコース食を摂取させたラットと比較し、フルクトース食を摂取させたラットにおいて有意に増加した(図2)。

図2. 果糖分解および脂肪合成に関する酵素の発現量

	グルコース	フルクトース
KHK mRNA	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.1*
ALDOB mRNA	1.0 ± 0.1	2.2 ± 0.2**
ACACA mRNA	1.0 ± 0.1	3.8 ± 0.7**
FASN mRNA	1.0 ± 0.2	5.3 ± 1.5*
SCD1 mRNA	1.0 ± 0.1	2.3 ± 0.4**
ChREBP mRNA	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.1*
THRSP mRNA	1.0 ± 0.2	3.4 ± 0.8*

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

脂肪酸合成酵素FASNプロモーター上への転写因子ChREBPの結合をクロマチン免疫沈降法によって測定したところ、グルコース食を摂取させたラットと比較し、フルクトース食を摂取させたラットにおいて有意に増加した。一方、転写因子THRSPは、グルコース食を摂取させたラットと比較し、フルクトース食を摂取させたラットにおいてその核移行量は増加傾向を示したが、FASNプロモーター上への結合を検出することは困難であった。これらの結果から、*in vivo*では、フルクトース分解系・脂肪酸合成系遺伝子とChREBPとの関連性はみられたが、THRSPとの関連性については、今後さらなる検討が必要である。しかしながら、*in vivo*でFASNプロモーター上へのChREBPの結合がフルクトースで誘導されたという知見が得られたことは、極めて重要な成果であるといえる。

<引用文献>

- Endocrinology.*, 147: 4044-4047, 2006.
J. Nutr. Sci. Vitaminol., 55: 139-148, 2009.
J. Nutr. Biochem. 24: 606-612, 2013.
J. Agric. Food Chem., 59: 1464-1469, 2011.
Mol. Nutr. Food Res., 54: 1445-1451, 2011.
J. Agric. Food Chem. 57: 8049-8055, 2009.
Nutr. Res., 30: 840-848, 2010.
Am. J. Physiol. 272: G446-453, 1997.
Biochim. Biophys. Acta., 1782, 341-348,

2008.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Shimada, M., Hibino, M., Takeshita, A.,
Dietary supplementation
with myo-inositol reduces hepatic
triglyceride accumulation and expression
of both fructolytic and lipogenic genes in
rats fed a high-fructose diet. *Nutr. Res.*:
47, 21-27, 2017 査読有
DOI: 10.1016/j.nutres.2017.08.005.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

島田 昌也 (SHIMADA, Masaya)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：10576755