

平成 30 年 5 月 15 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21251

研究課題名(和文)UCP1遺伝子多型に基づいたフコキサンチンによるヘモグロビンA1c改善効果の検証

研究課題名(英文)Reduction of HbA1c levels by fucoxanthin on UCP1 gene polymorphism

研究代表者

三上 奈々(Mikami, Nana)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：80700278

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、褐藻フコキサンチン(Fx)の8週間投与が健康者のHbA1cを低下させ、特に肥満や糖尿病のハイリスクであるUCP1 -3826A/GのG/G型保有者で顕著な効果が得られた先行研究について、耐糖能低下者においても同様の効果がみられるか検証した。その結果、先行研究とは一致した効果は認められず、対象集団のHbA1c値の分布や試験期の外気温がFxの糖代謝改善作用の発現に關与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文):In our previous study, we showed 8-week fucoxanthin administration reduced HbA1c levels of healthy people especially in G/G allele carriers of UCP1 -3826A/G polymorphism. Because the carriers are known to be high risk population for onset of obesity and type 2 diabetes, we verified the Fx effects targeting on 120 people with prediabetes in this study. As a result, no significant differences were detected on HbA1c levels between UCP1 genotypes. These results suggest that Fx effects on UCP1 polymorphism may be associated with HbA1c distribution of target population (healthy or prediabetic) and outdoor temperature of trial period.

研究分野：食品機能性

キーワード：UCP1遺伝子多型 フコキサンチン ヘモグロビンA1c

1. 研究開始当初の背景

フコキサンチン (Fx) はワカメやコンブといった褐藻類に特徴的なカロテノイド色素であり、自然界に存在する総カロテノイド量の約 10% を占める資源量の豊富な成分である。アレン構造やエポキシドといったユニークな分子構造を持つことから、生活習慣病の予防・改善作用が期待され、細胞や動物を用いた有効性の報告が蓄積されてきた。しかしヒトを対象にした研究では、ロシア人の肥満女性に対する抗肥満効果 (Diabetes Obes Metab. 2010, 12(1):72-81) が報告されているが、日本人における有効性は不明である。また、個人の体質によって得られる効果には大小があるが、遺伝的背景と効果との関連を調べたデータも得られていない。このような背景から、研究代表者らは日本人における Fx の健康機能性について日本人の遺伝体質にも注目しながら研究を進めてきた。

その結果として、健康成人への 8 週間の Fx 含有 (2mg) カプセル投与が、血糖コントロールの指標であるヘモグロビン A1c (HbA1c) を有意に改善することを見出した。特に、その効果は被験者の UCP1 遺伝子多型によって異なり、節約遺伝子である G/G 型保有者では他の遺伝子型保有者よりも有意な HbA1c 改善効果が示された (この成果を以下、先行研究と呼ぶ)。

UCP1 (Uncoupling protein 1) はミトコンドリア内膜に存在し、糖や脂質などのエネルギー物質を熱にして散逸させるタンパク質である。この遺伝子に起こる -3826A/G 多型はプロモーター領域の一遺伝子変異であり、変異が起こった G アレルの保有者では腹腔内脂肪組織における UCP1 mRNA 発現量の低下 (J Lipid Res. 1998, 39(4): 834-844.) や安静時代謝量の低下 (Endocr J. 2011, 58(12): 1079-1086.) がみられ、エネルギー節約体質であることから肥満や糖尿病発症のリスク遺伝子型であると考えられている。欧米人と比べると東アジア人には G/G 型保有者が多く、日本人の約 25% がこれに該当するため、Fx のような糖尿病予防効果が期待できるテラメイド機能性成分を有効に活用し、その詳細を検証していくことは非常に意義深い。

2. 研究の目的

本研究ではリスク集団への糖尿病予防の観点から、耐糖能低下状態における UCP1 遺伝子多型 G/G 型保有者での Fx 摂取が特異的に HbA1c を改善することを検証する。さらに、HbA1c 同様、高血糖状態で起こる非酵素的糖化反応によって生成されるグリコアルブミン等の糖化産物を調べ、Fx 摂取による HbA1c 改善が生体内全体の糖化反応の抑制によって誘導されたものか検証する。

3. 研究の方法

本研究では北海道留萌市に作られた臨床研究フィールド「るもいコホートピア」を実施基盤として、留萌地域に住む成人男女を対象とした二重盲検無作為化比較試験を行った。Fx による HbA1c 改善効果が得られた先行研究より、本介入は糖尿病予防に役立つことが期待されるため、将来糖尿病を発症するリスクが非常に高い耐糖能低下者 (糖尿病予備軍、採択基準: HbA1c (NGSP) 5.4~6.4%) をターゲットとした。サンプルサイズは先行研究より得られた効果量、標準偏差より設定した $\alpha=0.05$ (両側)、 $\beta=0.10$ 、留萌地域の G/G 型保有者率が 16% であったことから、G/G 型保有者数は 9 名 (1 グループ) \times 2 グループ = 18 名必要であり、試験全体では 120 名の参加が必要であると見積った (下図参照)。



上記のデザインをふまえ、るもいコホートピアが研究参加者のリクルートを行い、HbA1c のスクリーニング検査にて採択基準を満たした者を適格者とした。研究説明会にて同意が得られた方 120 名を単純無作為抽出法によってプラセボ (A) 又はフコキサンチン (Fx 2mg/日) (B) カプセルのグループに割り付けた。参加者は 8 週間の試験期間中、1 日 1 粒、夕食後にカプセルを摂取した。

8 週間の摂取前後で採血を実施し、得られた血液から糖代謝関連因子 (HbA1c、空腹時血糖値、インスリン) や SNP (Single nucleotide polymorphism: 一塩基多型) 解析によって UCP1 -3826A/G 遺伝子多型 (A/A、A/G、G/G) を調べた。研究参加者を UCP1 遺伝子多型毎に層別化し、耐糖能低下者においても Fx 摂取による HbA1c 改善効果が得られるか、特に G/G 型保有者で強い効果が見られるかを調べた。また、Fx は消化管内で代謝され、フコキサンチノールとして生体内に吸収される (J Nutr. 2002, 132(5):946-951.) ことから、研究代表者らが開発した LC-MS/MS による定量法 (J Nutri. Med. Diet Care 2:019, 2016) を用いて血中フコキサンチノール量を測定し、カプセル成分の生体内への取り込みの確認、UCP1 遺伝子多型による代謝物の取り込み量への影響の確認を行った。

さらに、HbA1c と並ぶ血糖コントロールの

指標であり、生体内の非酵素的糖化反応によって生成される糖化物であるグリコアルブミンを測定した。この糖化物を調べることにより、FxによるG/G型保有者でのHbA1c改善効果は生体内全体の糖化反応の抑制によって誘導されたものであるか検討した。

4. 研究成果

本研究では糖尿病発症のリスクが高い耐糖能低下者(HbA1c5.4~6.4%)の男女を対象とし、先行研究の効果量、標準偏差、G/G型保有率から見積ったサンプルサイズ(合計120名)の研究参加者をリクルートすることができた。そのうち99%以上の参加者が8週間のカプセル摂取と検査を完了し、脱落が非常に少なくフォローアップの良い試験となった。

研究参加者120名の摂取開始時の特性は、平均年齢55.7歳、平均BMI24.6で、HbA1cは平均5.8、中央値5.7の集団であった。日本人を対象とした以前の研究では、HbA1cが5.7~6.4の人が4.7年後までに糖尿病を発症する危険度はそれ以下の人の6倍であったことを報告している(Lancet, 2011, 378(9786):147-155)。このことを踏まえると本研究の対象集団の半数(HbA1c5.7以上)が将来糖尿病を発症するリスクが高い糖尿病予備軍であると推測できた。

Fx群とプラセボ群で比較すると、開始時のHbA1cや空腹時血糖、インスリンは群間で差がなく、偏りなく2群に割り付けられたことが確認できた。また、UCP1遺伝子型(A/A、A/G、G/G)保有者の割合についても、Fx群では27%、55%、18%、プラセボ群では27%、57%、17%であり、2群間に差のない見積り通りの分布となった。

カプセル8週間摂取後の血清フコキサンチノール量については、Fx群ではプラセボ群と比較して有意な上昇がみられ、Fx群の参加者の生体での代謝物の吸収が検出でき、Fxカプセルの摂取が確認できた。

本研究の主要評価項目であるカプセル摂取によるHbA1cの変化量をプラセボ群とFx群で比較すると、両群の間には有意な差はなく($p=0.98$)、FxによるHbA1cの改善効果は再現されなかった。また、HbA1cと並んで血糖コントロールの指標として用いられ、生体内の代表的な非酵素的糖化産物であるグリコアルブミンにおいても同様に差はなかった。これらの結果より、Fxによる生体内の糖化反応の抑制は確認できず、研究代表者が行った先行研究の知見とは一致しなかった。

先行研究と本研究で結果が異なった理由として、いくつかの要因が推察された。1つ目に、対象集団のHbA1cの違いが考えられる。先行研究と本研究の対象集団を試験開始時のHbA1cの分布で比較すると、先行研究では健常成人を対象としHbA1cの採択基準を設定

しなかったせいか、幅広い分布(4.7-6.6)であり、それに対して本研究では耐糖能低下者を対象として採択基準(スクリーニング時:5.4-6.4)の枠にほぼ収まる5.2-6.5(カプセル摂取開始前日の値)であった。統計的にこの2つの対象集団を比較すると、異なる集団であることが分かった($p=0.0005$)。

2つ目に、外気温とUCP1の機能の関わりが挙げられる。前述のようにUCP1は糖や脂質といったエネルギー物質を熱に変えるタンパク質である。UCP1は寒冷刺激によってその発現が活性化され、UCP1に依存する褐色脂肪の出現も夏より冬に活性化されることが報告されている(Diabetes, 2009, 58(7):1526-1531)。季節変動に対するUCP1遺伝子多型の研究は多くは行われていないが、3013人の日本人を対象にした研究では、健常人の年間を通した内臓脂肪面積(VFA)をUCP1遺伝子型別に調べると、冬から春(2~5月頃)にかけてG/G型保有者で他の遺伝子型よりもVFAが有意に増加し、外気温との相関があったことを報告している(PLoS One, 2013, 8(9):e74720)。すなわち、UCP1遺伝子型におけるVFAの違いは、外気温の低い時期(寒冷刺激の影響を受ける時期)にのみ検出される季節特異的な効果であることを示した。この報告ではUCP1遺伝子多型ごとのHbA1cと外気温の関連については言及していないが、このような遺伝子型による代謝パラメータの違いがHbA1cでも起こっていると仮定すると、研究実施期間は、先行研究が12~3月(冬から春)、本研究は7~12月(夏から冬)であり、暑い期間を含む本研究ではUCP1活性の影響が寄与していない可能性が考えられた。Gアレル保有者では腹腔内脂肪組織におけるUCP1 mRNA発現量の低下(J Lipid Res, 1998, 39(4):834-844)がみられ、Fxはマウスの白色脂肪組織においてUCP1の発現を上昇させること(Biochem Biophys Res Commun, 2005, 332(2):392-397)も報告されているため、先行研究ではFxがUCP1遺伝子多型間における活性の違いに何らかの形で関わっていたと推察されるが、本研究ではそれに加え外気温の条件もFxの作用に影響を与えることを示唆した。

これらのことより、先行研究と本研究では、(1)対象集団(健常者と耐糖能低下者)のHbA1c値の分布、(2)試験実施時期(外気温)などが異なっていたことが一致した結果が得られなかった要因の一部として挙げられるが、これらがUCP1遺伝子多型におけるFxの糖代謝改善作用発現に関与したことが推察され、作用メカニズムを解明する上で重要な知見が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

1. N. Mikami, M. Hosokawa, K. Miyashita, H. Sohma, Y. M Ito, Y. Kokai. Reduction of HbA1c levels by fucoxanthin-enriched akamoku oil possibly involves the thrifty allele of UCP1: a randomized controlled trial in normal-weight and obese Japanese adults. J Nutr Sci. 6: e5, 1-9, 2017. DOI: 10.1017/jns.2017.1 (査読あり)
2. N. Mikami, M. Hosokawa, M. Abe, K. Miyashita, H. Sohma, Y. Kokai. A protocol for human serum fucoxanthinol quantitation using LC-MS/MS system. J Nutri. Med. Diet Care 2:019, 2016. DOI: 10.23937/2572-3278.1510019(査読あり)

〔学会発表〕(計7件)

1. Nana Mikami, 「Reduction of HbA1c levels by fucoxanthin on UCP1 Polymorphism in Japanese and its availability as tailored applications. 」 (Oral presentation), Fucoxanthin Seminar, Cawthron Institute, Nelson, New Zealand, February, 2018.
2. 三上奈々・細川雅史・宮下和夫・相馬仁・小海康夫, 「UCP1 遺伝子型に基づいたフコキサンチンによるヘモグロビン A1c の低下効果」(口頭発表) 第8回学際的脂質創生研究部会講演会、東広島、2018年1月
3. 三上奈々, 「地域フィールドを活用した臨床研究の取り組みとフコキサンチンの健康機能性」(口頭発表) 第29回夏期油脂・コレステロール研究会、箱根、2017年7月
4. 三上奈々・細川雅史・宮下和夫・相馬仁・小海康夫, 「UCP1 遺伝子多型に基づいたフコキサンチンによるヘモグロビン A1c 低下効果」(ポスター発表) 第71回日本栄養・食糧学会大会、宜野湾、2017年5月
5. Nana Mikami, Masashi Hosokawa, Kazuo Miyashita, Hitoshi Sohma, Yoichi M. Ito, Yasuo Kokai, 「Fucoxanthin Improves HbA1c in G/G Allele Carriers of UCP1 Polymorphism in Japanese: Rumoi Fucoxanthin Study. 」 (Oral presentation), 2017 AOCs Annual Meeting and Industry Showcases. Orlando, Florida, USA, April, 2017.
6. 伊藤綾香・三浦靖・田村直司・宮下和夫・嵯峨直恆・宮下和士・南憲吏・宇治利樹・

小海康夫・三上奈々, 「三陸沿岸産褐藻アカモクから調製したフコキサンチン素材の理化学的特性」(口頭発表) 日本食品科学工学会 第63回大会、名古屋、2016年8月

7. 三上奈々・細川雅史・宮下和夫・相馬仁・小海康夫, 「日本人を対象としたフコキサンチンのヘモグロビン A1c 低下効果」(口頭発表) 第70回日本栄養・食糧学会大会、西宮、2016年5月

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕
 ホームページ等、なし

6. 研究組織

- (1)研究代表者
 三上 奈々 (Mikami Nana)
 札幌医科大学医学部・フロンティア医学研究所・助教
 研究者番号：80700278
- (2)研究分担者
 なし
- (3)連携研究者
 なし
- (4)研究協力者
 小海 康夫 (Kokai Yasuo)

札幌医科大学医学部・フロンティア医学研
究所・教授
研究者番号：20178239

相馬 仁 (Sohma Hitoshi)
札幌医科大学医療人育成センター・教育開
発研究部門・教授
研究者番号：70226702