

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：17601
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2021
課題番号：18K11078
研究課題名(和文) 糖尿病における炎症と異所性脂肪蓄積に關与する好中球とマイクロパーティクルの作用

研究課題名(英文) Action of neutrophils and microparticles involved in inflammation and ectopic fat accumulation in diabetes

研究代表者
服部 秀美 (HATTORI, Hidemi)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：80508549
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病患者数は全世界で増加している。2型糖尿病予防のために肥満予防が重要であるといわれているが、日本人は肥満ではないにもかかわらず糖尿病を発症するケースが多い。しかも欧米人に比べると日本人の1日の摂取カロリー量は少ない。肥満が原因の2型糖尿病発症の研究は数多くなされているが、非肥満の2型糖尿病の研究は数が少ない。そこで、非肥満型2型糖尿病発症のメカニズムの解明について取り組んだ。その結果、1日の摂取エネルギー量を制限しつつ果糖ぶどう糖液糖水を過剰摂取させると、体重は増加しないにもかかわらず、耐糖能異常を誘発した。またそのメカニズムは、年齢で異なることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

果糖ぶどう糖液糖が過剰に含まれている清涼飲料水で空腹を満たしている様子が、しばしば見受けられる。減量のための安易な摂取エネルギー制限は、体重は減少するが耐糖能異常を発症する可能性が明らかとなった。その発症メカニズムは成長期である場合、膵臓のglucose transporter 2や糖代謝酵素、インスリン転写因子の発現が減少することによって生じることが分かった。壮年期の場合は、それらの低下が確認できなかった。成長期においては、適切な食事をとらずに果糖ぶどう糖液糖が大量に含まれる飲料水を過剰摂取することは、膵臓機能を低下させる可能性があることから特に注意が必要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The number of diabetes patients is increasing worldwide. Although obesity prevention is important to prevent type 2 diabetes, many Japanese develop diabetes even though they are not obese. Moreover, Japanese consume fewer calories per day than their Western counterparts. While there have been many studies on the development of type 2 diabetes caused by obesity, there have been only a few studies on non-obese type 2 diabetes. In this study, we investigated the mechanism of the development of non-obese type 2 diabetes using mice. We found that excessive intake of drink containing high fructose corn syrup with controlled daily energy intake induced impaired glucose tolerance without body weight gain. The mechanism differed by age.

研究分野：健康科学

キーワード：糖尿病 耐糖能異常 非肥満 脂肪組織間質細胞 果糖ぶどう糖液糖 成長期 好中球

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国内の糖尿病患者数は、約 328 万 9,000 人以上に上り (2017 年厚生労働省調査) 今後も増加する予測である。日本人の糖尿病のほとんどが 2 型糖尿病である。肥満者の増加に伴い糖尿病患者数は、国内だけでなく全世界でも増加している。肥大化した内臓脂肪組織に活性化 (炎症性) マクロファージが浸潤し、TNF、IL-1、IL-6、MCP-1 などの炎症メディエーターが放出されることによって、炎症が慢性化し、2 型糖尿病などの生活習慣病を悪化させている。炎症のスタートには好中球が動くことから、申請者は、好中球も慢性炎症をコントロールしているのではないかと考えた。

2 型糖尿病は、内臓脂肪組織による慢性炎症の問題だけではない。従来、脂肪細胞がない組織であるはずの骨格筋や肝臓に脂肪が蓄積するという、異所性脂肪も関与している。日本人は肥満でなくても糖尿病を発症するケースが多い。また、2 型糖尿病発症には、インスリン抵抗性とインスリン分泌低下の両方に起因するが、日本人はインスリン抵抗性よりもインスリン分泌低下が優位の 2 型糖尿病患者が多い。

2. 研究の目的

日本でも食の欧米化により脂質摂取量が増加し、肥満者が増加しているといわれているものの、欧米人に比べると日本人の 1 日の摂取エネルギー量は少なく、肥満率も他の諸外国と比べると極端に低い。そこで、本研究は、欧米型の食生活に起因する肥満型の 2 型糖尿病を対象としたものではなく、現代日本人にみられる生活習慣・食生活に起因する肥満ではない 2 型糖尿病発症の機序解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 非肥満 2 型糖尿病モデルマウスの作製及び諸性質の検討

ICR マウス (3 週齢 (成長期に相当) 及び 28 週令 (壮年期に相当)・オス) を 10% 果糖ぶどう糖液糖 (HFCS) 水 (HFCS 群) 及び脱イオン水 (コントロール群) を自由飲水させる 2 群に分けた。さらに、2 群間の摂取エネルギー量が同じになるよう固形餌で調整し 8-12 週間飼育した。開始 7 もしくは 11 週間後にグルコース負荷試験 (OGTT) を、8 もしくは 12 週間後にインスリン負荷試験 (ITT) を行った。その後、膵臓、肝臓・皮下脂肪組織・内臓脂肪組織を採取し定量した後に HE 染色を行った。膵臓のインスリン免疫染色とインスリン (*Ins1*, *Ins2*)、転写因子 (*Pdx1*)、グルコース・フルクトースの transporter (*Glut2*)、glucokinase (*Gck*)、ketohexokinase (*Khk*) の mRNA の発現を real-time PCR により定量した。さらに、血中 TNF、MCP-1、IL-6、adiponectin を ELISA で測定した。

(2) 脂肪組織由来間質細胞 (ASCs)、脂肪細胞、Gr-1 陽性細胞 (好中球) との相互作用

マウスの皮下脂肪組織から ASCs を採取し、脂肪細胞分化誘導培地で脂肪細胞に分化させた。マウスの腹腔にカゼインナトリウムを注入し 24 時間後、腹腔内に浸潤する細胞を採取し Gr-1 陽性細胞を MACS により単離した。ASCs と Gr-1 陽性細胞 (好中球) 及び脂肪細胞と Gr-1 陽性細胞 (好中球) の共培養を行った。24 時間後、培養上清を採取し、サイトカイン・ケモカイン、マイクロパーティクル量を測定した。

(3) ASCs と fibroblast growth factor-2 (FGF-2) の相互作用

マウスの皮下脂肪組織から ASCs を採取し、培地に異なる濃度の FGF-2 を添加し、上清中のサイトカイン・増殖因子を Bio-Plex で測定した。

4. 研究成果

(1) 1 日の摂取エネルギー量を同じにした上で、HFCS 水の過剰摂取の影響を調べた。摂取エネルギー量を同じにすると、週令が異なっても HFCS 群とコントロール群間に体重の差は生じなかった。肝臓、皮下・内臓脂肪組織質量においても、3 週令と 28 週令ともに 2 群間に差はなかった。また、肝臓の脂肪蓄積も観察されなかった。膵臓においては 3 週令の場合には質量の差はなかった。OGTT において、3 週令の HFCS 群はコントロール群と比較して 15、30 分後の血糖値が高くなり、30 分後の血中インスリン値は低くなった。ITT においては、3 週令の場合には 2 群間に差はなかったが、28 週令の場合には投与 60 分後に HFCS 群の血糖値は低下した。膵臓のインスリン免疫染色においては、ランゲルハンス島の大きさ、個数ともに差はなかった。しかし、3 週令の膵臓の *Ins1*、*Ins2* の mRNA の発現量は、HFCS 群の方が低い傾向にあり、*Pdx1* の発現量は HFCS 群が有意に低かった。さらに、*Glut2*、*Gck*、*Khk* の mRNA の発現量も HFCS 群が有意に低かった。また、28 週令の場合には、*Ins2* の mRNA の発現量は HFCS 群の方が低かったが、それ以外では 2 群

間に差はなかった。血中炎症性サイトカイン量は HFCS 群において顕著な上昇を示さなかったが、3 週令の HFCS 群において抗炎症性サイトカインである adiponectin 量は著しく減少していた。3 週令マウスでは HFCS 水の過剰摂取が膵臓の糖代謝機能を低下させ、それによりインスリン分泌能が低下するのではないかと考えられた。

このことから成長期においては、十分な食事をとらずに HFCS が大量に含まれる清涼飲料水を過剰摂取すると、肥満にならずともインスリン分泌能低下による耐糖能異常を誘発する可能性が示唆された。

(2) ASCs(脂肪前駆細胞を含むヘテロな細胞群)あるいは脂肪細胞と Gr-1 陽性細胞(好中球)との相互作用を *in vitro* で検討した。まず、ASCs と Gr-1 陽性細胞(好中球)の共培養は、ASCs の継代数が少ないほど TNF などの炎症性サイトカイン分泌量が高くなり、マイクロパーティクルの発現量も多くなった。脂肪細胞との共培養の場合、未分化の細胞が多いほど炎症性サイトカインの分泌量が高くなった。ただ、炎症性サイトカインの濃度が高い場合は、IL-13 などの抗炎症性サイトカインの分泌量も高くなっていた。これらのことから、炎症と抗炎症作用とのバランスが重要ではないかと推測された。

(3) 増殖因子の一つである FGF-2 は炎症や組織修復の際に発現・分泌され、細胞増殖、血管新生促進、分化能に作用する。ASCs はもともとサイトカイン・増殖因子分泌能が高い。ASCs に FGF-2 を添加すると濃度依存的に VEGF、IL-12、IL-15、IL-18、MIP-1、G-CSF の分泌量が増加した。しかし、KC、MCP-1 に関しては、低濃度の FGF-2 添加では分泌量が増加したが、高濃度の添加では逆に分泌量が低下した。生体内では、複数の細胞の相互作用によって増殖因子・サイトカインの分泌がコントロールされている。FGF-2 は骨格筋中の脂肪細胞形成を促進するという報告があるが、それは FGF-2 の濃度に左右され、さらに浸潤した炎症細胞のキャラクター及び数によって脂肪細胞の形成の程度が変わるのではないかと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hattori H, Hanai Y, Oshima Y, Kataoka H, Eto N	4. 巻 9
2. 論文標題 Excessive Intake of High-Fructose Corn Syrup Drinks Induces Impaired Glucose Tolerance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines9050541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hattori H, Ishihara M	4. 巻 44
2. 論文標題 Fibroblast growth factor-2 and interleukin-4 synergistically induce eotaxin-1 expression in adipose tissue-derived stromal cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Biology International	6. 最初と最後の頁 1124-1132
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cbin.11309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishihara M, Kishimoto S, Nakamura S, Fukuda K, Sato Y, Hattori H	4. 巻 29
2. 論文標題 Biomaterials as cell carriers for augmentation of adipose tissue-derived stromal cell transplantation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bio-Medical Materials and Engineering	6. 最初と最後の頁 567-585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3233/BME-181009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 服部秀美, 花井悠真, 大島佑人, 江藤望
2. 発表標題 果糖ブドウ糖液糖飲料の過飲による非肥満2型糖尿病の誘発
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大島佑人, 花井悠真, 江藤望, 服部秀美
2. 発表標題 果糖ぶどう糖液糖 (HFCS) の過剰摂取による非肥満2型糖尿病の誘発
3. 学会等名 2020年度日本フードファクター学会・日本農芸化学会西日本支部合同大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 服部秀美
2. 発表標題 脂肪組織間質細胞におけるエオタキシン-1の発現
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 花井悠真, 西本沙弥香, 江藤望, 服部秀美
2. 発表標題 果糖ブドウ糖液糖の過剰摂取が若年2型糖尿病発症に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口翔平, 山口貴史, 江藤望, 服部秀美
2. 発表標題 pHとグルコース濃度の違いがC2C12の筋分化に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 服部秀美
2. 発表標題 イミダゾールジペプチドによる抗疲労効果
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口 翔平、榊原 陽一、江藤望、服部 秀美
2. 発表標題 過重力(遠心力)負荷が筋分化に及ぼす影響
3. 学会等名 第43回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口貴史、江藤望、服部秀美
2. 発表標題 高濃度のグルコース存在下におけるフルクトースが脂肪組織由来間質細胞の脂肪分化及び炎症に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口貴史、江藤望、服部秀美
2. 発表標題 フルクトースは皮下脂肪組織の脂肪分化を抑制するが炎症を惹起する
3. 学会等名 平成30年度日本栄養・食糧学会 九州・沖縄支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日高芽衣、花井悠真、大島佑人、江藤望、服部秀美
2. 発表標題 異なる年齢層における果糖ぶどう糖液糖飲料過剰摂取の耐糖能に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒木穰、西本沙弥香、鳥屋尾千佳、江藤望、服部秀美
2. 発表標題 経皮感作による食物アレルギーの皮膚への影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 服部秀美、花井悠真、江藤望
2. 発表標題 果糖ぶどう糖液糖飲料の過剰摂取による非肥満 2 型糖尿病発症機序
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------