

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15428

研究課題名(和文) 糖代謝指標1,5-アンヒドログルシトールの体内動態と生理作用に関する基礎的検討

研究課題名(英文) Investigations into 1,5-anhydroglucitol dynamics and physiological functions

研究代表者

森田 亜州華 (Morita, Asuka)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：30780902

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：1,5-アンヒドログルシトール(1,5-AG)は、医療現場で血糖コントロール指標として用いられる糖アルコールである。通常血中1,5-AG濃度は一定に維持されているが、体内での1,5-AGの働きに関する詳細は明らかでない。本研究では、生体内での糖代謝における1,5-AGの役割を明らかにすることを目的とした。1,5-AGの糖代謝との関与を検討するために、血中1,5-AG高濃度誘導モデルマウスの作成を試みた。モデルマウスの作成には1,5-AGの持続投与が有効であることを見出し、同モデルを用いた検討により7日間の血中1,5-AG高濃度誘導は個体の糖代謝に顕著な影響をもたらさないことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1,5-アンヒドログルシトール(1,5-AG)はグルコースに次いで血中濃度の高い糖類である。グルコースに似た構造をしているがグルコースのように1,5-AGからエネルギーが産生されるという報告はなく、1,5-AGの体内での役割は明らかでない。本研究は糖代謝における1,5-AGの生体内での役割の解明を目指すものである。その第一歩として1,5-AGの補充が個体レベルでの糖代謝に影響するかを評価した。本研究より1,5-AG摂取の安全性が確認された。さらに7日間の1,5-AG投与が動物個体レベルの糖代謝に不利な影響を及ぼさないことが示されたことから、1,5-AGの補充が生体に有効な可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：1,5-Anhydroglucitol (1,5-AG), a sugar alcohol, is used as a clinical marker for medium range (1-2 weeks), average glucose levels. However, the physiological functions of 1,5-AG as an independent metabolite are yet to be fully understood. In this study, we aimed to elucidate the role of 1,5-AG in glucose metabolism in vivo. Firstly, we attempted to establish a model mouse to induce high concentration of 1,5-AG in blood. 1,5-AG treatment using an osmotic pump effectively increased its levels in blood. Secondly, mice were implanted with the osmotic pumps containing 1, 5-AG for 7 days and were evaluated using an oral glucose tolerance test. The results of this experiment suggested that 1,5-AG treatment for 7 days does not significantly affect the glucose metabolism.

研究分野：薬理学

キーワード：1,5-AG 糖代謝 トランスポーター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1,5-アンヒドログルシトール (1,5-AG)は糖アルコールの一種で、構造はグルコースと酷似している。ヒトの血中に含まれる糖類の中ではグルコースに次いで二番目に多く存在している。1,5-AG は様々な食物(大豆など)に含まれており、90%が食物から摂取され、10%は肝臓で合成される。血中の 1,5-AG はグルコースと同様に腎臓から排泄され、健康人では血中 1,5-AG 濃度は 20~40ug/ml に維持されている [1]。しかしながら、糖尿病患者では血中 1,5-AG が減少する [2]。血中 1,5-AG 濃度は、高血糖時に血中濃度が減少する血糖コントロールのマーカーとして 臨床現場で用いられている。しかしながら、1,5-AG の基礎的検討はほとんど行われておらず、1,5-AG の体内動態の制御機構や 1,5-AG の生理学的作用の解析は長い間行われてこなかった。ところが、2010 年以降臨床と基礎の両分野で 1,5-AG に関する論文が多く発表されている。

2012 年に臨床研究により 1,5-AG は糖尿病でない男女において加齢に伴い減少することが報告され [3]、2016 年には非糖尿病の健康な若年者と高齢者の血中代謝物質を測定・比較した論文で、高齢者の血中 1,5-AG 濃度が若年者より有意に減少していたことが報告された [4]。また、その翌年にはゲノムワイド関連解析により 1,5-AG と糖代謝が密接に関係していることが報告された [5]。これらの報告から、「1,5-AG の生理作用が糖代謝に関与している」という仮説を立てた。

2. 研究の目的

1,5-AG に関する基礎的検討はほとんどされておらず、体内の 1,5-AG がなぜ一定の濃度に制御されているのかはいまだ明らかになっていない。本研究の目的は、1,5-AG の糖代謝に関する役割を明らかにすることである。

3. 研究の方法

以下に示す 2 つの実験を順に実施し、解析を行った。

実験 1: 1,5-AG 投与モデルの作成条件検討

C57BL/6 マウスに皮下注射・尾静脈注射・浸透圧ポンプを用いた皮下投与の 3 つの方法で 1,5-AG を 7 日間連日投与し、7 日目の血中 1,5-AG 濃度を評価した。

実験 2: 1,5-AG 投与モデルを用いた 1,5-AG の糖代謝への影響検討

- (1) C57BL/6 マウス(8 週齢、♂) に 1,5-AG を浸透圧ポンプにて 7 日間連続皮下投与した。投与スケジュールを以下に示す (図 1)。
- (2) 連日体重を測定し、6 日時点での血中 1,5-AG 濃度と血糖を測定した。
- (3) 7 日経過時点で、経口ブドウ糖負荷試験を行い、耐糖能を評価した。ブドウ糖負荷量は 1g/kg 体重とし、負荷前、負荷後 30 分、60 分、90 分、120 分の血糖を測定した。
- (4) ブドウ糖負荷試験後全採血と臓器摘出を行った。得られた血液を用いて血中 1,5-AG 濃度測定と肝機能および腎機能指標の生化学検査を行った。摘出した臓器は、それぞれ重量を測定した。

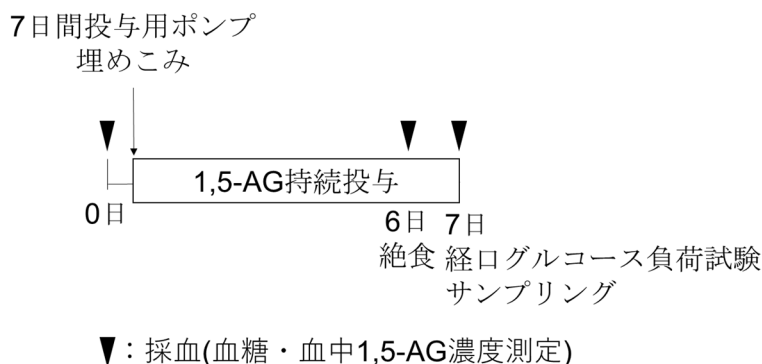


図1. 投与スケジュール

4. 研究成果

実験 1:

血中 1,5-AG を高濃度に維持した動物モデルを作成するため、まず投与方法の検討を行った。C57BL/6 マウスに皮下注射・尾静脈注射・浸透圧ポンプの 3 つの方法で 1,5-AG の連日投与を行い、投与前と 7 日投与時点での血中 1,5-AG 濃度の変化を評価した。皮下注射群および尾静脈注射群に対し、浸透圧ポンプ投与群において最も高い血中 1,5-AG 濃度が得られた (図 2)。浸透圧ポンプを用いた 1,5-AG 投与において投与量の増加に伴う血中 1,5-AG 濃度の上昇も見られたが、高濃度の投与における血中 1,5-AG 濃度の増加は限定的であった。投与中止による血中 1,5-AG 濃度の減少も確認された。これらの検討により、血中 1,5-AG を高濃度に維持する方法として浸透圧ポンプによる持続皮下投与方法が適当であることが示唆され、血中 1,5-AG 高濃度誘導モデルマウス作成の条件決定に至った。

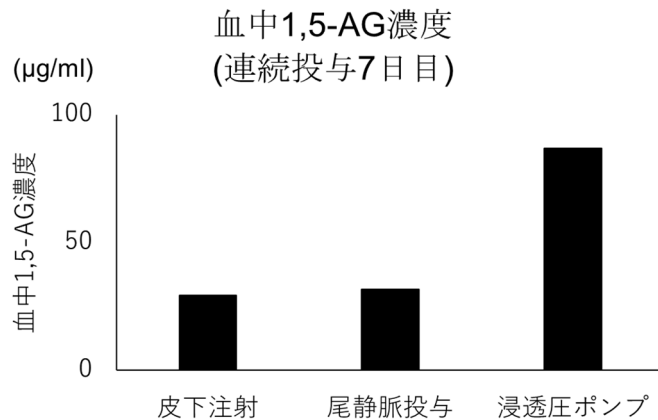


図2. 1,5-AG投与マウスの血中1,5-AG濃度

実験 2:

実験 1 の結果を元に浸透圧ポンプを用いてマウスへ 1,5-AG を 7 日間持続皮下投与し、血中 1,5-AG 高濃度誘導モデルを作成した。さらに、同モデルにて in vivo での 1,5-AG による糖代謝の変化を検討した。1,5-AG 投与マウスでは投与量に依存して血中 1,5-AG 濃度の増加を認めた。投与量によらず体重と随時血糖に変化は認めなかった。さらに 1,5-AG 投与による耐糖能の変化を検討するため、経口ブドウ糖負荷試験を行った。負荷前後の血糖変化において、非投与群と 1,5-AG 投与群間で投与量によらず有意な差を認めなかった。また、1,5-AG の合成臓器である肝臓と排出臓器である腎臓において、1,5-AG 投与による萎縮あるいは肥大の有無を検討するため、ブドウ糖負荷試験後にそれぞれの臓器を摘出して重量を測定した。肝臓・腎臓ともに 1,5-AG 投与による重量の明らかな変化は認めなかった。さらに、肝臓と腎臓の機能を動物用生化学分析装置ベトスキャン VS2 を用いて生化学検査にて評価したが、1,5-AG 投与による有意な変化は認めなかった。

血中 1,5-AG 高濃度誘導モデルマウスにおける糖代謝の評価により、7 日間の 1,5-AG 持続投与は個体の血糖コントロールに顕著な変化を誘導しないことが示唆された。

<引用文献>

- [1] Yamanouchi T, Tachibana Y, Akanuma H, Minoda S, Shinohara T, Moromizato H, Miyashita H, Akaoka I. Origin and disposal of 1,5-anhydroglucitol, a major polyol in the human body. *Am J Physiol.* 1992. 263(2 Pt 1):E268-73.
- [2] Akanuma H, Ogawa K, Lee Y, Akanuma Y. Reduced levels of plasma 1,5-anhydroglucitol in diabetic patients. *J Biochem.* 1981. 90(1):157-62.
- [3] Ouchi M, Oba K, Yamashita H, Okazaki M, Tsunoda M, Ohara M, Sekimizu K, Watanabe K, Suzuki T, Nakano H. Effects of sex and age on serum 1,5-anhydroglucitol in nondiabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2012. 120(5):288-95.
- [4] Chaleckis R, Murakami I, Takada J, Kondoh H, Yanagida M. Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016. 113(16):4252-9.
- [5] Man L, Park L, Bodine R, Ginsberg M, Zaninovic N, Man OA, Schattman G, Rosenwaks Z, James D. Engineered endothelium provides angiogenic and paracrine stimulus to grafted human ovarian tissue. *Sci Rep.* 2017. 7(1):8203.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Asuka Morita, Motoshi Ouchi, Keitaro Satoh, Misao Terada, Hiroe Kon, Hidefumi Wakashin, Keitaro Hayashi, Naohiko Anzai, Kenzo Oba, Akira Shimizu, Tomoe Fujita	4. 巻 69
2. 論文標題 Development of an Organ Bath Technique for Isolated Rat Pancreas Preparations to Assess the Effect of 1,5-AG on Insulin Secretion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 127-134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1538/expanim.19-0059	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 Asuka Morita, Motoshi Ouchi, Keitaro Satoh, Shunsuke Kobayashi, Misao Terada, Hidefumi Wakashin, Hiroe Kon, Keitaro Hayashi, Naohiko Anzai, Akira Shimizu, Hitoshi Sugihara, Kenzo Oba, Tomoe Fujita	4. 巻 -
2. 論文標題 The Effects of Trypsin Inhibitor on Insulin Secretion Using Rat Pancreas in an Organ Bath	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 In vivo	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大内基司、森田亜州華、佐藤慶太郎、今弘枝、寺田節、安西尚彦、藤田朋恵
2. 発表標題 オルガンバスを用いインスリン分泌評価確立を目指した実験的検討
3. 学会等名 第49回日本消化吸収学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田亜州華、大内基司、今弘枝、林啓太郎、安西尚彦、寺田節、藤田朋恵
2. 発表標題 オルガンバスを用いたインスリン分泌評価法の有効性検討
3. 学会等名 第25回日本未病システム学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Asuka Morita, Motoshi Ouchi, Keitaro Satoh, Hidefumi Wakashin, Keitaro Hayashi, Naohiko Anzai, Tomoe Fujita
2. 発表標題 Improvement of the method for evaluating insulin secretion from rat pancreas using organ bath technique
3. 学会等名 7th China-Japan Joint meeting of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田亜州華、大内基司、佐藤慶太郎、若新英史、今弘枝、安西尚彦、藤田朋恵
2. 発表標題 膵分泌実験系としてのex vivoモデルの至適化
3. 学会等名 第50回日本消化吸収学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大内基司、森田亜州華、佐藤慶太郎、若新英史、寺田節、安西尚彦、大庭建三、藤田朋恵
2. 発表標題 糖類似体によるインスリン分泌能解析の初期検討
3. 学会等名 第50回日本消化吸収学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Motoshi Ouchi, Asuka Morita, Keitaro Satoh, Hidefumi Wakashin, Hiroe Kon, Misao Terada, Tomoe Fujita
2. 発表標題 Improvement of organ bath technique as ex vivo systems in the insulin secretion assay
3. 学会等名 The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田亜州華、大内基司、佐藤慶太郎、藤田朋恵
2. 発表標題 オルガンパス実験系を用いたラット膵の内外分泌の同時評価
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田亜州華、大内基司、佐藤慶太郎、小林俊介、安西尚彦、大庭建三、杉原仁、清水章、藤田朋恵
2. 発表標題 ラット摘出膵を用いた簡易インスリン分泌評価実験系の有効性検討と至適化
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大内基司、森田亜州華、佐藤慶太郎、小林俊介、清水章、安西尚彦、杉原仁、大庭建三、藤田朋恵
2. 発表標題 ラット膵インスリン分泌評価におけるEX vivo実験系の応用 1,5-AGの効果を検証する先行研究
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田亜州華、大内基司、佐藤慶太郎、藤田朋恵
2. 発表標題 ラット摘出膵臓の内外分泌能におけるトリプシン活性阻害の影響
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田亜州華、大内基司、寺田節、大庭建三、藤田朋恵
2. 発表標題 浸透圧ポンプによる血中1,5-アンヒドログルシトール高濃度モデルマウスの作成
3. 学会等名 第27回日本未病学会学術総会
4. 発表年 2020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
---------	---------