

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17946

研究課題名(和文)生活習慣病の新たな栄養管理法の基盤となる糖・脂質の相互作用の解明

研究課題名(英文) Possible interaction of dietary carbohydrate and lipid in the prevention of obesity-related disorders

研究代表者

大南 博和(OHMINAMI, Hirokazu)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・助教

研究者番号：90803057

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)：本研究では、栄養素の相互作用の観点から食事の質を評価するために、糖質と脂質の相互作用が生活習慣病の病態に及ぼす影響について検討した。肥満モデル動物に糖・脂質組成の異なる試験食を投与したところ、骨格筋の糖・脂質代謝やストレス応答に早期の変化が認められた。さらに、筋線維断面積や筋線維タイプにも異なる影響を及ぼすことが明らかとなり、糖・脂質の相互作用が運動機能や筋萎縮を制御することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食事には様々な成分が含まれているため、食事の質を正しく評価するためにはそれらの相互作用も考慮しなければならない。なかでも糖質と脂質は食事の主要な栄養素であり、それらの摂取量や質は健康・発病を大きく左右するが、本研究により新たに相互作用の重要性が示されたことから、糖・脂質組成を考慮した栄養管理が生活習慣病やサルコペニアの予防・治療に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have focused on potential interactions between dietary carbohydrate and lipid in the development of obesity-related metabolic disorders. In this study, we demonstrated that dietary intervention with different combination of carbohydrate and lipid in obese Zucker fatty (fa/fa) rats initially affected glucose and lipid metabolism and some stress response in the skeletal muscle. In addition, a specific combination synergistically induced morphological changes in both muscle fiber size and fiber type, which leads to muscle atrophy and sarcopenic condition. This evidence supports that a novel dietary approach based on the nutritional interaction of carbohydrate and lipid is beneficial for obese subjects.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：栄養素相互作用 生活習慣病 サルコペニア 脂肪酸組成

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病患者の増加の背景には、食事の「量的変化」だけでなく、食事の「質的变化」が指摘されている。とくに糖質や脂質の種類は、食事の「質」を大きく左右し、飽和脂肪酸やショ糖(スクロース)の過剰な摂取は生活習慣病のリスクを高める。一方、糖質や脂質は通常、食事成分として“同時に”摂取される。それぞれの代謝経路は生体内でクロストークし、互いにエネルギー代謝を調節しているが、この機構の破綻はインスリン抵抗性や糖尿病の原因となる。したがって、このような生体内の栄養素代謝ネットワークから考えると、食事の糖質と脂質の組み合わせ方も食事の潜在的な「質」と捉えられるが、科学的エビデンスは乏しい。

我々はこれまでに、特定の糖・脂質の組み合わせが、肥満モデル動物である Zucker fatty ラットの病態を著しく悪化させることを明らかにし、肥満の食事管理における糖・脂質組成の重要性をはじめ報告した。とくに、膵臓の細胞障害と骨格筋の糖・脂質代謝異常や小胞体ストレスが早期に生じることを見出した。興味深いことに、これらの組織の脂肪酸組成はそれぞれ食餌組成特有の変化がみられた。

近年、肝臓や骨格筋内の脂肪酸バランスの異常が、エネルギー代謝障害やインスリン抵抗性の誘因となることが注目されている。食事の脂肪酸組成が生体組織に反映されることは知られていたが、我々の先行研究から、同時に摂取する糖質との相互作用によっても生体内の脂肪酸組成が変動することが分かり、これらの相互作用に基づく特異的な変化が肥満の病態を左右することが予想された。したがって、生体内に異常な脂肪酸バランスをもたらす糖・脂質の相互作用の詳細を明らかにできれば、糖・脂質組成の視点から食事の「質」が最評価され、糖質と脂質の組み合わせを考慮した食事管理が生活習慣病の新しい治療戦略になると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究は、食事が栄養素の混合物であることを重視し、健康・発病をコントロールする栄養素の相互作用を解明するものである。これまでに、糖・脂質組成の異なる食餌を肥満モデルラットに投与すると、骨格筋の糖・脂質代謝や小胞体ストレス応答に対して食餌組成特有の変化がみられたことから、骨格筋は糖質と脂質の相互作用に対し感受性の高い臓器であることが予想される。また、骨格筋はエネルギー代謝の中心臓器であるとともに、運動・身体活動を発揮する効果器でもある。筋量の減少や運動機能の低下は筋減弱症(サルコペニア)を引き起こし、フレイルや悪液質の病態基盤となることから、介護予防、疾患管理のうえでも健全な骨格筋の維持が重要な課題である。骨格筋量はタンパク質の合成と分解のバランスで調節されているため、タンパク質摂取量の充足が食事療法の鉄則である。一方、骨格筋の栄養素代謝が糖質や脂質の影響を受けやすいとすると、糖・脂質の積極的な食事管理によりサルコペニアの予防・治療効果が高まる可能性もあるが、糖・脂質の相互作用が筋タンパクの恒常性や運動機能に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では、新たに食餌中の糖質と脂質の組み合わせの違いが骨格筋の運動機能に及ぼす影響を検討し、それらの相互作用に関わる分子メカニズムを解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 飼育計画

11週齢の Zucker fatty (fa/fa) ラットをランダムに4群に分け、糖・脂質組成の異なる試験食を pair-feeding 法にて投与した。

#### (2) 解剖

12時間の絶食後、セボフルラン麻酔下にて開腹し、下大静脈より採血を行い、肝臓、精巢上体周囲脂肪および骨格筋を摘出し、液体窒素中で急速凍結した。組織学的解析用の骨格筋サンプルは、トラガカントゴムでコルクに垂直に立て、液体窒素で冷却したイソペンタン中で凍結した後、乾燥しないように密封し、それぞれ解析に用いるまで-80℃で保存した。

#### (3) 血液生化学

解剖時の血糖値および、血漿トリグリセライド、総コレステロール濃度、および血漿インスリン濃度はそれぞれ市販のキットを用いて測定した。

#### (4) 遺伝子発現解析

ビーズ式破碎装置および市販のRNA抽出キットを用いて、骨格筋から total RNA を抽出し、それを鋳型として 37℃ 15分、50℃ 5分、98℃ 5分の条件で逆転写反応を行い、cDNA を合成した。遺伝子発現解析には、StepOne Plus system (Applied Biosystems) を用いた。

#### (5) 組織学的解析

凍結切片作製用に処理した筋組織の中腹部を、クライオスタット (Leica CM1850) で 10 μm の厚さに薄切し、スライドガラスに貼り付け、以下の染色を施した。

#### ヘマトキシリン・エオジン染色

凍結切片を冷アセトンで固定し、マイヤーヘマトキシリン液で 20 分間染色後、温水にて色出しを行い、エオジン溶液で 30 秒間染色した。

#### ミオシン ATPase 染色

未固定の凍結切片を barbital acetate 溶液 (pH 4.45) で 5 分間前処理し、ATP 溶液 (pH 9.4) で 25 分間反応させた。1%  $\text{CaCl}_2$  溶液で 10 分間洗浄後、2%  $\text{CoCl}_2$  溶液に 10 分間反応させた後、2% 黄色硫化アンモニウム液で 30 秒間染色させた。

各染色画像は、蛍光顕微鏡 (BZ-9000、KEYENCE) で取得し、筋線維の横断面積は ImageJ (National Institutes of Health) を用いて計測した。

#### (6) 統計解析

GraphPad Prism ver.5 (Graphpad Software) を使用し、 $P < 0.05$  を有意水準とした。

#### 4. 研究成果

各試験食を 4 週間投与した結果、体重、血液生化学および骨格筋を含む各臓器重量に有意な差は認めなかった。

一方、骨格筋の組織学的変化を検討したところ、食餌中の糖・脂質組成の違いにより、筋線維のサイズや線維タイプに異なる影響がみられた。これらの変化は骨格筋重量の変化に先行する所見と考えられる。このように、これまでの研究で示されているように、骨格筋は早期に糖・脂質相互作用の影響を受けやすい標的臓器であることが確認できた。

筋タンパク質分解系の一つであるユビキチン-プロテアソーム系に関わる MuRF1 や Atrogin-1、筋再生マーカーである MyoD や Myogenin の遺伝子発現に差は認められなかったことから、これらの相互作用を引き起こす分子メカニズムには筋合成系やオートファジー系が関与しているのではないかと考え、現在解析をすすめている。

以上より、相互作用の分子メカニズムは不明なままであるが、特定の糖・脂質の組み合わせは、筋萎縮とともに筋線維の変化を引き起こすことが明らかになった。これらの結果は、食餌中の糖・脂質組成が骨格筋の量的・質的变化に影響を及ぼすことを示唆するものであり、生活習慣病だけでなくサルコペニアなど筋減弱症に対する新たな食事管理法の基盤としても期待される。

## 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 0件）

1. 著者名 Tajiri Mari, Nakahashi Otoki, Kagawa Tomohiro, Masuda Masashi, Ohminami Hirokazu, Iwano Masayuki, Takeda Eiji, Taketani Yutaka, Yamamoto Hironori	4. 巻 66
2. 論文標題 Association of increased renal Cyp24a1 gene expression with low plasma 1,25-dihydroxyvitamin D levels in rats with streptozotocin-induced diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 49 ~ 56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcbr.19-79	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 Masuda Masashi, Yamamoto Hironori, Takei Yuichiro, Nakahashi Otoki, Adachi Yuichiro, Ohnishi Kohta, Ohminami Hirokazu, Yamanaka-Okumura Hisami, Sakaue Hiroshi, Miyazaki Makoto, Takeda Eiji, Taketani Yutaka	4. 巻 477
2. 論文標題 All-trans retinoic acid reduces the transcriptional regulation of intestinal sodium-dependent phosphate co-transporter gene (Npt2b)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Journal	6. 最初と最後の頁 817 ~ 831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20190716	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 Sakai Maiko, Ohnishi Kohta, Masuda Masashi, Ohminami Hirokazu, Yamanaka-Okumura Hisami, Hara Taichi, Taketani Yutaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Isorhamnetin, a 3'-methoxylated flavonol, enhances the lysosomal proteolysis in J774.1 murine macrophages in a TFEB-independent manner.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2020.1727309	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Masashi MASUDA, Hironori YAMAMOTO, Yuichiro ADACHI, Kohta OHNISHI, Hirokazu OHMINAMI, Hisami YAMANAKA-OKUMURA, Makoto MIYAZAKI, Eiji TAKEDA, Yutaka TAKETANI
2. 発表標題 All-trans-retinoic-acid reduces intestinal phosphate uptake by the transcriptional regulation of sodium-dependent phosphate co-transporter gene (Npt2b)
3. 学会等名 ASBMR 2019 Annual Meetnig (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新居 紗知, 勝本 美咲, 榎崎 遥子, 世古 千裕, 山崎 通世, 石谷 さとの, 奥村 仙示, 山本 浩範, 増田 真志, 大西 康太, 大南 博和, 竹谷 豊
2. 発表標題 SNPrs1697421が血清リン濃度に及ぼす生理学的影響とその分子機序
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂井 麻衣子, 大西 康太, 大南 博和, 増田 真志, 奥村 仙示, 竹谷 豊
2. 発表標題 mTORC2シグナルはマクロファージ様細胞において遺伝子発現調節を介してリソソーム活性を制御する
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村仙示, 井端知咲, 多々納浩, 山口智勢, 窪田友華, 近藤知佳, 大西康太, 大南博和, 増田真志, 竹谷豊
2. 発表標題 カロリー密度に注目した「デンシエット」弁当事業化への取り組み
3. 学会等名 第66回日本栄養改善学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井田裕樹, 増田真志, 吉澤和香, 足立雄一郎, 大西康太, 大南博和, 内田貴之, 奥村仙示, 二川健, 山本浩範, 山本浩範, 竹谷豊
2. 発表標題 慢性腎臓病モデルラットの骨格筋における脂肪酸代謝異常が及ぼす筋萎縮への影響
3. 学会等名 第66回日本栄養改善学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Oda Naoko, Sugihara Kohei, Ikeda, Miho, Higashimura Yuho, Takashi Uebanso, Ohminami Hirokazu, Ohnishi Kohta, Masuda Masashi, Yamanaka-Okumura Hisami, Taketani Yutaka
2. 発表標題 Dietary Phosphate Disturbs of Gut Microbiome In Mice
3. 学会等名 ASN Kidney Week 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohta Ohnishi, Moe Fujimoto, Maiko Sakai, Teppei Fukuda, Aika Ohnishi, Hirokazu Ohminami, Masashi Masuda, Hisami Yamanaka Okumura, Yoshichika Kawai, Yutaka Taketani
2. 発表標題 Exploration of bioactive food factors for the control of autophagy flux
3. 学会等名 ICoFF2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Maiko Sakai, Kohta Ohnishi, Masashi Masuda, Hirokazu Ohminami, Hisami Yamanaka-Okumura, Taichi Hara, Yutaka Taketani
2. 発表標題 Elucidation of the molecular mechanism underlying lysosomal activation in J774.1 cells by isorhamnetin treatment
3. 学会等名 ICoFF2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村 仙示, 多々納 浩, 平山 明由, 渡邊 果りん, 大西 康太, 大南 博和, 増田 真志, 栗原 綾子, 原田 成, 武林 亨, 曾我 朋義, 富田 勝, 竹谷 豊
2. 発表標題 血漿や尿から肉・魚介類の摂取を評価する栄養検査開発の取り組み
3. 学会等名 第23回日本病態栄養学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田 咲季, 奥村 仙示, 宮崎 照雄, 今井 愛菜, 大西 康太, 大南 博和, 増田 真志, 本多 彰, 島田 光生, 竹谷 豊
2. 発表標題 肝切除周術期に特異的な血漿アミノ酸濃度変動からみた術後の新規栄養療法の検討
3. 学会等名 第23回日本病態栄養学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新井田 裕樹, 増田 真志, 吉澤 和香, 足立 雄一郎, 大西 康太, 大南 博和, 内田 貴之, 奥村 仙示, 二川 健, 山本 浩範, 竹谷 豊
2. 発表標題 慢性腎臓病による骨格筋の脂肪酸代謝異常を介した脂肪毒性(Lipotoxicity)は筋萎縮(サルコペニア)を惹起する
3. 学会等名 第23回日本病態栄養学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田村 行識, 赤木 里衣, 吉本 和樹, 武内 風香, 水野 善教, 森本 満里奈, 堀川 陽子, 大南 博和, 佐々木 康人
2. 発表標題 糖尿病マウスにおける筋骨格系の異常に対する亜鉛投与の効果
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田村 行識, 堀川 陽子, 川勝 美里, 中原 晴未, 那須 楓, 塩山 佳奈, 内藤 梨都, 松田 夏美, 大南 博和, 佐々木 康人
2. 発表標題 ラットにおける蛋白質摂取量の違いがシヨ糖嗜好性および糖・脂質代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----