

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：30105

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19158

研究課題名（和文）食後の消化管ホルモン分泌応答や栄養吸収の時空間的解析とその栄養学的意義

研究課題名（英文）Study on postprandial nutrient and gut hormone responses in different intestinal regions

研究代表者

原 博（Hara, Hiroshi）

藤女子大学・人間生活学部・教授

研究者番号：70198894

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000 円

研究成果の概要（和文）：本申請課題は、食事摂取後の消化管ホルモンの分泌応答や、栄養素あるいは食品成分の吸収が、消化管のどの部位で、どのような経時的变化を示すのかを明らかにすることを目的としている。そのための、下部消化管（回腸部）の腸間膜静脈からの経時的採血を可能とするカニューレション手技の確立を初期段階の目標とした。

実験動物（ラット）の門脈または回腸部腸間膜静脈にカテーテルを留置して、経時的血液採取を可能とした。糖質含量、タンパク質含量の異なる食事を経口投与すると、採血部位によって血糖値、消化管ホルモン濃度の変動が異なることが観察され、この手法により消化管部位別の変動を解析できることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請課題は、「覚醒状態での消化管の異なる部位からの経時採血を可能とする手技」を確立することを目的の一つとしている。

この試験手技の確立は、様々な条件下（異なる食事組成、肥満や各種病態など）での部位別の消化管ホルモン分泌応答の評価に加え、栄養素や各種食品成分、腸内代謝物の吸収を部位別、経時的に評価する試験にも容易に転用可能な点において、高い発展性を伴う。さらに門脈や末梢血では見られなかった消化管局所の現象を捉えることで、これまでの知識を覆し得る学術的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：Changes in plasma nutrient (glucose) levels and gut hormone levels after meal, in different intestinal regions have not been well characterized.

We established experimental rat model equipped with a catheter inserted into the ileal mesenteric vein, or the portal vein. After the oral administration of meal having different compositions, plasma glucose levels and gut hormone levels had different responses, dependent on the meal composition, and on the intestinal region of blood sampling.

These results demonstrate that the rat model is available for investigating regional nutrient absorption and gut hormone secretion under a physiological condition.

研究分野：食品栄養学

キーワード：食後栄養素吸収 食後消化管ホルモン分泌 門脈 回腸部腸間膜静脈

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

消化管で産生されるホルモン(消化管ホルモン)の分泌は、食事摂取直後から大きく変動し、消化酵素分泌や消化管運動、食欲、糖代謝など多様な生理応答を調節する(1)。それぞれの消化管ホルモンを産生する細胞は、消化管各部に偏在しその役割も異なる。

申請者は、種々の食品成分の消化吸收機構や、食品成分による消化管ホルモン分泌促進機構を調べる中で、既存の概念では説明できない現象を見出した。主に下部消化管で産生される消化管ホルモン GLP-1 の分泌が、食事摂取や食品ペプチドの経口投与後即座(15分以内)に高まること、同じ細胞(L細胞)で産生される GLP-1 と PYY の分泌が必ずしも同調しないことなど、食品成分が、「消化管のどの部位で作用し?」、「どの部位からの消化管ホルモン分泌を促しているのか?」、といった疑問が生じた。

これに加え、「種々の栄養素が共存する実際の食事摂取後に、上部・下部消化管からどのように栄養素が吸収されるのか?」、という極めて基礎的な現象が、生理的条件下で詳細には調べられておらず、これを明らかにする必要があると考えた。

2. 研究の目的

本申請課題は、食事摂取後の、消化管ホルモンの分泌応答や、栄養素あるいは食品成分の吸収が、消化管のどの部位で、どのような経時的変化を示すのかを明らかにすることを期間中の目的としている。そのための、覚醒下での下部消化管(回腸部)の腸間膜静脈からの経時的採血を可能とするカニューレーション手技の確立を初期段階の目標とする。

消化管の静脈系は、絨毛内の毛細血管、各消化管部位からの細静脈(上・下)腸間膜静脈門脈という順に集合し、肝臓へ送られる。腸管静脈は各部位からの静脈血が支流として合流することから、腸管局所の血液成分を強く反映すると考えられる。従って、回腸部腸間膜静脈と門脈の血中成分比較により、採血時点での局所的な消化管ホルモンの分泌や、食品成分の吸収を小腸の部位別(上下)に比較することが可能となる。

これまでに腸管、門脈、頸静脈、リンパ管などへのカニューレーション手術により、主に食品成分の消化吸收に関する機構解明に取り組んできた。さらに、これらの手技に改良を加えつつ、新たに腸管部位別のカテーテル留置技術を確立した(2~4)。しかし、腸間膜静脈へのカテーテル留置は繊細な操作が必要で、失敗することも多く、これは麻酔下での試験でのみ用いていた。本申請課題では、カテーテル留置後、回復期間を経て覚醒下でも試験に用いることができるよう、申請者ならびに研究分担者のこれまでの技術、経験の蓄積を生かして研究を推進する。

この手技の確立は、食事の組成やその順序、摂取する側の状況(病態や概日リズム)での違いなど、栄養学のみならず生理学、薬理学など多様な分野への展開が可能と期待される。

3. 研究の方法

実験動物として7~8週齢の Sprague Dawley 系雄性ラットを用いた。麻酔下で開腹し、門脈(直径 1 mm 程)または門脈に比べてさらに細い回腸部腸間膜静脈(直径 0.5 mm 程)へ採血用のシリコンカテーテルを留置、固定した。

カテーテルを挿入後に閉腹し、これを体外に出した状態(頸背部収納)でラットを回復させた。試験の際は、無麻酔下で、空腹時の血液をカテーテルより採取した。食事摂取後あるいは試料投与後に経時的に血液をカテーテルより採取した。採血の際に一時的にラットを保定したが、それ以外はケージ内で自由に行動可能とした。

この回腸部腸間膜静脈カテーテル留置ラットならびに門脈カテーテル留置ラットを用い、食後の消化管ホルモン分泌応答や、グルコースの吸収動態を門脈、回腸部腸間膜静脈で比較した。

4. 研究成果

(1) 回腸部腸間膜静脈カテーテル留置手術ラットならびに門脈カテーテル留置ラットを用い、食後継時的にそれぞれのカテーテルより血液を採取し、血漿中のグルコース濃度、消化管ホルモン濃度を測定した。

試験の際には、絶食後に通常食あるいは無タンパク食を一定量(10 g/kg)与えたが、一部のラットは与えた飼料をすぐには摂取しなかったため、30分以内に飼料をほぼ完食(90%以上)した個体のデータを採用した。

門脈血中のグルコース濃度はコントロール食群に比べて無タンパク食で高い値で推移し、食事に含まれる糖質の量を反映していた。一方で回腸部腸間膜静脈では両群ともに同様に推移した。このことから、食後に糖質は上部小腸で速やかに消化吸收されることが、覚醒ラットを用いた生理的条件下で明らかとなった。

回腸部腸間膜静脈血の GLP-1 濃度は、コントロール食群において 15 分で高い値を示し、その後 0 分値と同程度の値となった。一方無タンパク群では、コントロール食群のような分泌の上昇は見られなかった。門脈血では、両食事摂取による GLP-1 濃度の増加は見られなかった。食事時の約 60%が糖質であるにもかかわらず、25%のタンパク質を除くことで GLP-1 分泌が消失したことは、GLP-1 分泌における食事タンパク質の寄与が大きい、すなわち食事時のタンパク質が下部小腸からの GLP-1 分泌を促すことが明らかとなった。

(2) 上記のような、絶食後に試験飼料を自発的に摂取させる試験系は最も生理的であるが、試

験食を摂取する時間 (meal time) に個体差が生じることと、一定時間内 (30 分) に完食できない個体があり、取得できるデータに限りがあったため、ここでは水に懸濁した飼料を強制経口投与し、個体間の投与量、時間を同一とする試験系とした。

タンパク質を含有する普通食、タンパク質を除いてデキストリンに置換した無タンパク食を脱イオン水に懸濁し、3 g/kg にてフィーディングチューブを用いて強制経口投与した。

血中グルコース濃度の推移は、門脈血、回腸部腸間膜静脈血とちらにおいても、両食事負荷 15 分後にピーク値となり、その後 120 分までに徐々に基礎レベルに戻った。しかし、30 分以降の血中グルコース濃度は門脈血の方が回腸部腸間膜静脈血よりも高く推移し、懸濁液で強制投与した場合でも、上部消化管での吸収が優勢であることが示された。一方で 15 分値においては部位間の差がなかったことから、投与直後において回腸部に一部の投与飼料が到達し、空腸部と同様に消化吸収されることが考えられた。

また、門脈においては、無タンパク質飼料投与の方が普通食投与よりも明確に高い血中グルコース濃度推移を示したが、回腸部腸間膜静脈においては無タンパク質飼料投与の方が普通食投与よりもやや高い血中グルコース濃度推移を示した。このことから、食事に含まれる糖質含量が増加した場合でも、上部小腸でのグルコース吸収が盛んであることが明らかとなった。

GLP-1 については、無タンパク食の方が高い分泌応答を誘導する傾向が見られた。この結果は、飼料を自発的に摂取させた前述の試験結果とは異なる。その他にも投与量 (10 g/kg vs 3 g/kg)、投与形態 (粉末 vs 懸濁液) など試験条件が異なることがその要因と考えられた。この結果から、懸濁液として投与した食事に対する GLP-1 分泌応答においては、食事に含まれる糖質の寄与が大きいものと考えられた。

無タンパク質食に対する GLP-1 分泌応答は門脈血と回腸部腸間膜静脈血の間に違いは見られなかったが、普通食に対する GLP-1 分泌応答は門脈血よりも回腸部腸間膜静脈血で高い傾向が見られた。このことは、食事に含まれるタンパク質に対する GLP-1 分泌応答は、下部小腸の寄与が大きい可能性を示している。その要因としては、食品タンパク質が上部小腸での消化を受けた状態よりも、それらが下部小腸に達する間にさらに消化を受けた状態、すなわちより断片化されたペプチドが GLP-1 分泌を強く促すことが考えられた。他方で、回腸部の GLP-1 産生細胞は糖質よりもペプチドへの感受性が高い可能性も考えられた。

<参考文献>

1. Gribble FM, Reimann F. Enteroendocrine Cells: Chemosensors in the Intestinal Epithelium. *Annu Rev Physiol.* 2016;78:277-99.
2. Hira T, Mochida T, Miyashita K, Hara H. GLP-1 secretion is enhanced directly in the ileum but indirectly in the duodenum by a newly identified potent stimulator, zein hydrolysate, in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;297(4):G663-71.
3. Mochida T, Hira T, Hara H. The corn protein, zein hydrolysate, administered into the ileum attenuates hyperglycemia via its dual action on glucagon-like peptide-1 secretion and dipeptidyl peptidase-IV activity in rats. *Endocrinology.* 2010;151(7):3095-104.
4. Ishikawa Y, Hira T, Inoue D, Harada Y, Hashimoto H, Fujii M, Kadowaki M, Hara H. Rice protein hydrolysates stimulate GLP-1 secretion, reduce GLP-1 degradation, and lower the glycemic response in rats. *Food Funct.* 2015;6(8):2525-34.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 比良 徹
2. 発表標題 食品成分による消化管内分泌系のコントロール 主にGLP-1に関して
3. 学会等名 第98回北海道医学大会生理系分科会・日本生理学会北海道地方会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 蒲地 美南、原 博、比良 徹
2. 発表標題 ラット門脈ならびに回腸部腸間膜静脈における食後のグルコース濃度と消化管ホルモン濃度の変動
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
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
研究分担者	比良 徹 (Hira Tohru) (10396301)	北海道大学・農学研究院・准教授 (10101)	