

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 4月 1日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21300277

研究課題名（和文）

食生活での栄養素相互作用と臓器代謝調節ネットワーク機構の解明

研究課題名（英文）

Nutritional functions and its organ metabolism network

研究代表者

武田 英二（TAKEDA EIJI）

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：00144973

研究成果の概要（和文）：パラチノース（P）とオレイン酸（O）およびシュクロース（S）とリノール酸（L）の組み合わせでみられる相互作用は、臓器の脂肪酸組成の変化を介した作用であることが明らかになった。線維芽細胞増殖因子 21（FGF21）発現は摂食刺激および空腹刺激で増加したことから、FGF21 は栄養代謝を調節する生体防御因子であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：In this research, it is clarified that synergistic effects of combination of palatinose and oleic acid or sucrose and linolic acid are explained by changes of fatty acid components in various organs and that fibroblast growth factor 21 is an important metabolically protective factor because increased expression is observed in both hunger and satiety stimuli.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2010年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2011年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：栄養素、相互作用、パラチノース、オレイン酸、線維芽細胞増殖因子 21（FGF21）

1. 研究開始当初の背景

1) 近年、メタボリックシンドロームでみられる食後高血糖が心血管死と密接に関連することが明らかとなり、食後高血糖の抑制が欧米人および日本人にとっても重要である。食品・栄養素の相互作用ではパラチノースとオレイン酸を組み合わせた

食事は動物およびヒトで食後血糖値およびインスリン分泌を抑制し、インスリン感受性や脂質代謝を改善した。

2) 肝臓での FGF21 遺伝子発現量は肝臓中脂質含量と逆相関し、肝臓中の脂質利用を調節しており、FGF21 遺伝子発現がグルカゴンにより制御されることも見出しており、肝臓一

膵臓間での FGF21-Glucagon axis を介した相互代謝調節系の存在が示唆される。

2. 研究の目的

1) 糖・脂質代謝障害が生じる時期や早期に障害をうける臓器を特定し、糖質と脂質の組み合わせが糖・脂質代謝変化および炎症反応を生じるメカニズムを解明する。

2) FGF21 による栄養代謝調節ネットワーク機構および肥満やメタボリックシンドロームなどの代謝異常状態における FGF21 の役割を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 栄養素の組み合わせと脂肪酸代謝の関係解明

正常および代謝障害モデルラットに、生理作用の異なる 2 種類の糖質（パラチノース、シュクロース）と 2 種類の脂肪酸（オレイン酸、リノール酸）を組み合わせた 4 種類の食餌を投与し、投与開始時（0 週）から、4 週、8 週、12 週、20 週目に解剖を行って、肝臓、脂肪組織、膵臓の膜脂肪酸組成変化、炎症反応、糖・脂質代謝機能を経時的に解析する。

2) FGF21 による栄養代謝調節ネットワーク機構の解明

正常および代謝障害モデルラットに、種々の食事を摂取させて、FGF21 の発現量と末梢組織の代謝変化や栄養素代謝に及ぼす影響について評価する。

4. 研究成果

1) 食品・栄養素の生体におよぼす相互作用の解明

パラチノース (P) とオレイン酸 (O) を選択的に組み合わせることで肥満および 2 型糖尿病の発症リスクを低減させること、一方でシュクロース (S) とリノール酸 (L) の組み合わせにより膵臓の障害が亢進

すること、すなわち糖・脂肪毒性の相互作用が生じることを明らかにした。そこで、膵臓に対する糖・脂肪毒性の相互作用の機序について検討した。糖質 (P 又は S) と脂肪酸 (O 又は L) を組み合わせることで 4 種類の餌 (P0, PL, SO, SL) を調製し、肥満モデル動物 Zucker fatty ラットに 4 週間投与後、膵臓の形態、機能および脂肪酸組成について解析を行った。

(1) S 群は P 群に比し、膵島の肥大化および線維化を認めた。(2) L 群は O 群に比し、アポトーシスの割合が高く、 β 細胞量の減少が観察された。(3) ラット単離膵島のグルコース刺激性インスリン反応は P0 群で最も保たれ、その他 3 群では膵臓 β 細胞機能低下が見られた。(4) 膵臓のリン脂質脂肪酸組成は、O 群ではオレイン酸の割合が高く、L 群ではリノール酸およびアラキドン酸が増加した。(5) この現象は SL 群で顕著となったことから、膵臓リン脂質脂肪酸組成は、糖質の違いによる影響を受けた。(6) 膵臓に対する糖・脂肪毒性の相互作用機序の一つとして、アラキドン酸から産生される脂質メディエーターが考えられた。

これらの研究成果は栄養素組み合わせの生体に対する相互作用が組織リン脂質組成の変化を介していることを示唆しており、国内外にインパクトを与えている。

2) FGF21 の栄養代謝調節機能の解明

(1) 脂肪肝発症と FGF21 機能の解明

過剰コレステロール摂取によりおこる脂肪肝と FGF21 の関係を解明する目的で、6 週齢の ddy マウスに 2%コレステロール含有食を 5 日および 15 日間摂取させ、血液中、肝臓中の脂質濃度をおよび肝臓における FGF21mRNA 発現を検討した。雄マウスにおいて、血中および肝中 TG および T-cho 濃度は 5 日間のコ

レステロール摂取により上昇したが、FGF21 発現に有意な差はなかった。15 日間のコレステロール摂取により、肝臓中 TG および T-cho 濃度はさらに上昇し、FGF21 発現は低下した。これらのコレステロール摂取の影響は、絶食時に比べ、摂食時に強く見られた。さらに FGF21 発現低下は雌マウスでも同様に見られ、コレステロール摂取による FGF21 発現抑制には性差がないと考えられた。過剰コレステロール摂取により引き起こされる脂肪肝に FGF21 が関与することが明らかになった。

(2) FGF21 の誘導機構の解明

グルコースおよびインスリンの FGF21 発現制御への影響を明らかにするために、グルコース・インスリン刺激と FGF21 発現との関係を検討した。ヒト肝癌細胞(HepG2)において、FGF21mRNA, 発現は高グルコース・インスリン刺激により上昇した。マウス初代培養肝細胞においてもグルコース濃度依存的な FGF21mRNA 発現上昇が見られた。さらに、グルコース応答性転写因子である Carbohydrate response element binding protein(ChREBP)活性化作用のある Xylitol 刺激によっても FGF21mRNA 発現は上昇した。ヒト FGF21 プロモーターを用いて転写調節への影響を検討した結果、ヒト FGF21 は2つのグルコース応答領域を有することがわかった。これらの領域は Carbohydrate response element (ChoRE)を含んでおり、グルコースのみならず Xylitol にも応答することから ChREBP の関与が考えられた。核タンパク質を用いてゲルシフト法による DNA への結合を検討した結果、Xylitol 刺激により DNA への結合が増強され、この結合は ChREBP 抗体を前処理することにより抑制された。このように、ヒト FGF21 遺伝子発現はグルコースに応答する ChREBP を介した転写調節機構を有してい

ることが明らかになった。

以上、FGF21 発現は摂食刺激および空腹刺激で増加したことから、FGF21 は栄養代謝を調節する生体防御因子であることを示唆する成果であり、国際的インパクトを与えている。

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 12 件)

1) Shirakawa J, Amo K, Ohminami H, Orime K, Togashi Y, Ito Y, Tajima K, Koganei M, Sasaki H, Takeda E, Terauchi Y: Protective Effects of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) Inhibitor against Increased β Cell Apoptosis Induced by Dietary Sucrose and Linoleic Acid in Mice with Diabetes. J BIOL Chem 286(29): 25467-25476, 2011、査読有、DOI: 10.1074/jbc.M110.217216

2) Taniguchi-Fukatsu A, Yamanaka-Okumura H, Naniwa-Kuroki Y, Nishida Y, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E: Natto and viscous vegetables in a Japanese-style breakfast improved insulin sensitivity, lipid metabolism and oxidative stress in overweight subjects with impaired glucose tolerance. Br J Nutr 7: 1-8, 2011、査読有、DOI: 10.1017/s0007114511004156

3) Uebanso T, Taketani Y, Yamamoto H, Amo K, Tanaka S, Arai H, Takei Y, Masuda M, Yamanaka-Okumura H, Takeda E: Liver X receptor negatively regulates fibroblast growth factor 21 in the fatty liver induced by cholesterol-enriched diet. J Nutr Biochem 2011 Sep 1、査読有、DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.03.023

4) Uebanso T, Taketani Y, Yamamoto H, Amo K, Ominami H, Arai H, Takei Y, Masuda M,

Tanimura A, Harada N, Yamanaka-Okumura H, Takeda E: Paradoxical Regulation of Human FGF21 by Both Fasting and Feeding Signals: Is FGF21 a Nutritional Adaptation Factor? PLoS One. 6(8):e22976, 2011、査読有、
DOI: 10.1371/journal.pone.0022976

5) Amo K, Arai H, Uebanso T, Fukaya M, Koganei M, Sasaki H, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E: Effects of xylitol on metabolic parameters and visceral fat accumulation. J Clin Biochem Nutr. 49(1):1-7, 2011、査読有、
DOI: 10.3164/jcfn.10-111

6) Shirakawa J, Fujii H, Ohnuma K, Sato K, Ito Y, Kaji M, Sakamoto E, Koganei M, Sasaki H, Nagashima Y, Amo K, Aoki K, Morimoto C, Takeda E, Terauchi Y: Diet-Induced Adipose Tissue Inflammation and Liver Steatosis Are Prevented by DPP-4 Inhibition in Diabetic Mice. Diabetes. 60: 1246-1257, 2011、査読有、
DOI: 10.2337/db10-1338

7) Arai H, Awane N, Mizuno A, Fukaya M, Sakuma M, Harada N, Kawaura A, Yamamoto H, Okumura H, Taketani Y, Doi T, Takeda E: Increasing early insulin secretion compensate adequately for hepatic insulin resistance in CCI4-induced cirrhosis rats, The Journal of Medical Investigation 57(1-2): 54-61, 2010、査読有、
DOI: org/10.2152/jmi.57.54

8) Yamanaka-Okumura H, Nakamura T, Miyake H, Takeuchi H, Katayama T, Morine Y, Imura S, Shimada M, Takeda E: Effect of long-term late-evening snack on health-related quality of life in cirrhotic patients, Hepatology Research 40 (5) : 470-476, 2010、査読有、

DOI: 10.111/j.1872-034X.2010.00637.x

9) Shiota A, Hada T, Baba T, Sato M, Yamanaka-Okumura H, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E: Protective effects of glycoglycerolipids extracted from spinach on 5-fluorouracil induced intestinal mucosal injury. J Med Invest 57(3,4): 314-320, 2010、査読有、
DOI: org/10.2152/jmi.57.314

10) Sakuma M, Yamanaka-Okumura H, Naniwa Y, Matsumoto D, Tsunematsu M, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E: Does-dependent Effects of Barley Cooked with White Rice on postprandial Glucose and Desacyl Ghrelin Levels. J Clin Biochem Nutr 44(2) 151-159, 2009、査読有、
DOI: org/10.3164/jcfn.08-232

11) Sakuma M, Arai H, Mizuno A, Fukaya M, Matsuura M, Sasaki H, Yamanaka-Okumura H, Yamamoto H, Taketani Y, Doi T, Takeda E: Improvement of Glucose Metabolism in Patients with Impaired Glucose Tolerance or Diabetes by Long-Term Administration of a Palatinose-Based Liquid Formula as a Part of Breakfast, J Clin Biochem Nutr 45: 155-162, 2009、査読有、
DOI: org/10.3164/jcfn.09-08

12) Uebanso T, Taketani Y, Fukaya M, Sato K, Takei Y, Sato T, Sawada N, Amo K, Harada N, Arai H, Yamamoto H, Takeda E: Hypocaloric high-protein diet improves fatty liver and hypertriglyceridemia in sucrose-fed obese rats via two pathways. Am J Physiol Endocrinol Metab. 297: E76-E84, 2009、査読有、
DOI: 10.1152/ajpendo.00014.2009

[学会発表] (計 27 件)

- 1) 大南博和、阿望幾久子、竹谷豊、佐藤佳瑞智、新井英一、小金井恵、佐々木一、奥村仙示、山本浩範、武田英二：食餌中の糖・脂質の異なる組合せが Zucker fatty ラットのインスリン感受性と骨格筋の脂肪酸組成に及ぼす影響、第15回日本病態栄養学会 2012年1月14-15日、京都国際会議場、京都市
- 2) Mukai R, Kawamura T, Nemoto H, Nikawa T, Yamamoto H, Takeda E, Terao J: Flavonoid Derivatives Prevent Disuse Muscle Atrophy, The International Conference on Food Factors 2011 (ICoFF 2011)、2011年11月20-23日、Taipei International Convention Center, 台北、台湾
- 3) 竹谷豊、上番増喬、大南博和、武田英二：ヒト FGF21 は絶食・飽食シグナルを感知する栄養代謝の変化に応答する因子である第32回日本肥満学会 2011年、9月23-24日、淡路夢舞台会議場、兵庫県
- 4) Takeda E, Taniguchi-Fukatsu A, Naniwa-Kuroki Y, Nishida Y, Yamamoto H, Taketani Y, Yamanaka-Okumura H: Natto And Viscous Vegetables Improved Insulin Sensitivity, Lipid Metabolism and Oxidative Stress in Impaired Glucose Tolerance Subjects 7th APCCN 2011, 2011年6月5-9日, the Sofitel Centara Grand Bangkok, バンコク、タイ
- 5) 大南博和、阿望幾久子、竹谷豊、上番増喬、佐藤佳瑞智、深谷牧子、新井英一、小金井恵、佐々木一、山本浩範、武田英二：組織の脂肪酸組成に対して食餌性糖・脂質の組合せが与える影響と、インスリン抵抗性への関連性、第53回日本糖尿病学会学術集会、2011年5月27-29日、岡山コンベンションセンター、岡山市
- 6) 山本浩範、佐々木一、武田英二：パラチノースとオレイン酸の組合せ食による肥満モデルラットの糖・脂質代謝異常抑制効果、JDDW2010 (第41回日本消化吸収学会総会・第18回日本消化器関連学会)、2010年10月13-16日、パシフィコ横浜、横浜市
- 7) Yamanaka-Okumura H, Yamauchi R, Urano E, Katayama T, Imura S, Utsunomiya T, Shimada M, Takeda E: IDENTIFICATION OF LABORATORY BIOMARKER REFLECTING NON PROTEIN RESPIRATORY QUOTIENT (NPRQ) IN HEPATIC CIRRHOSIS、32nd ESPEN Congress、2010年9月5-8日、the Nice Acropolis Congress and Exhibition Centre, ニース、フランス
- 8) Kawakami Y, Yamanaka-Okumura H, Sakuma M, Matsumoto Y, Sato T, Takeda E: GENE EXPRESSION PROFILING OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD IS AFFECTED BY THE DIFFERENCES IN GLYCEMIC AND INSULINEMIC RESPONSES TO FOOD INTAKE、32nd ESPEN Congress、2010年9月5-8日、the Nice Acropolis Congress and Exhibition Centre, ニース、フランス
- 9) Uebanso T, Taketani Y, Yamamoto H, Amo K, Arai H, Takei Y, Masuda M, Tanimura A, Yamanaka-Okumura H, Takeda E: Human FGF21 is Paradoxically Induced by both Fasting and Over-Feeding Signals - Is FGF21 a Nutritional Adaptation Factor?、American Diabetes Association (ADA) 70th Annual Scientific Sessions、2010年6月25-29日、Orange Country Convention Center, オーランド、アメリカ合衆国
- 10) Amou K, Ominami H, Taketani Y, Sato K, Fukaya M, Uebanso T, Arai H, Koganei M, Sasaki H, Yamamoto H, Takeda E: The Interaction of Dietary Carbohydrate and Fat on Pancreatic Islet Dysfunction

Mediated by Glucolipototoxicity, American Diabetes Association (ADA) 70th Annual Scientific Sessions, 2010年6月25-29日、Orange Country Convention Center, オランダ、アメリカ合衆国

11) Ominami H, Amou K, Taketani Y, Uebanso T, Sato K, Fukaya M, Arai H, Koganei M, Sasaki H, Yamamoto H, Takeda E: Combined Effects of Dietary Carbohydrate and Fat on Tissue Fatty Acid Composition and Insulin Resistance, American Diabetes Association (ADA) 70th Annual Scientific Sessions, 2010年6月25-29日、Orange Country Convention Center, オランダ、アメリカ合衆国

12) Shirakawa J, Takeda E, Terauchi Y: Increased Cell Apoptosis with Multiorgan Glucolipototoxicity by a Combination of Dietary Sugar and Fatty Acid and Protective Effects of DPP-4 Inhibitor Des-Fluoro-Sitagliptin Against Them, American Diabetes Association (ADA) 70th Annual Scientific Sessions, 2010年6月25-29日、Orange Country Convention Center, オランダ、アメリカ合衆国

13) 阿望幾久子、大南博和、竹谷豊、佐藤佳瑞智、深谷牧子、上番増喬、新井英一、小金井恵、佐々木一、山本浩範、武田英二: 糖・脂肪毒性の相互作用を介した膵β細胞障害の発症機序の解明、第53回日本糖尿病学会学術集会、2010年5月27-29日、岡山コンベンションセンター、岡山市

14) 奥村仙示、山内利香、浦野恵利、居村暁、宇都宮徹、島田光生、武田英二: 肝疾患患者に対するテーラーメイド栄養管理の血液生化学指標についての検討、第33回日本栄養アセスメント研究会、2010年5月14-15日、千里ライフサイエンスセンター、大阪府

15) 上番増喬、竹谷豊、山本浩範、阿望幾久

子、新井英一、竹井悠一郎、増田真志、谷村綾子、原田永勝、奥村仙示、武田英二: FGF21はグルコースにより誘導される、第13回日本病態栄養学会年次学術集会、2010年1月9-10日、京都国際会議場、京都市

16) Uebanso T, Taketani Y, Fukaya M, Sato K, Takei Y, Sato T, Sawada N, Amo K, Arai H, Harada N, Yamamoto H, Takeda E: Hypocaloric Carbohydrate Restricted Diet Improves Fatty Liver and Hypertriglyceridemia in Sucrose-fed Obese Rats via Two Pathways, American Diabetes Association 69th Scientific Sessions, 2009 June 5-9, Memorial Convention Center, ニューオーリンズ、アメリカ合衆国

17) 上番増喬、竹谷豊、深谷牧子、佐藤佳瑞智、阿望幾久子、新井英一、奥村仙示、山本浩範、武田英二: 低エネルギー高タンパク食は肥満ラットにおいて2つの経路を介して脂肪肝、高TG血症を改善する、第52回日本糖尿病学会年次学術集会、2009年5月21-24日、大阪

〔図書〕(計8件)

武田英二、池田翔子、香西美奈: メタボリックシンドローム、第8章各疾患の栄養管理、キーワードでわかる臨床栄養改訂版栄養で治す! 基礎から実践まで、2011年8月10日、株式会社羊土社

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 英二 (TAKEDA EIJI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号: 00144973

(2) 研究分担者

竹谷 豊 (TAKETANI YUTAKA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

研究者番号: 30263825