

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11582

研究課題名(和文) 低出生体重-やせ型糖尿病の病態解明と乳清たんぱく質による新たな栄養療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the pathophysiology of low birth weight-non-obese diabetes and development of new nutritional therapy using whey protein

研究代表者

長野 伸彦 (NAGANO, Nobuhiko)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：90794701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルを用いて、非肥満型高血糖の発症機序の要因が、ミトコンドリア機能低下に伴う除脂肪重量減少による筋原性インスリン抵抗性の増加であることを明らかにした。そして、乳清(ホエイ)たんぱくがカゼインたんぱくと比較して、抗酸化作用と抗炎症作用を有し、体脂肪減少に伴うインスリン抵抗性改善効果を有することを明らかとした。また高脂肪食負荷小児肥満マウスモデルにおいても、ホエイたんぱくはカゼインたんぱくと比較して、肝臓において脂質代謝関連遺伝子(PPAR α)の発現を亢進し、 β 酸化を促進させることでインスリン抵抗性改善効果を有することも明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ホエイたんぱくの投与がカゼインたんぱくと比較して、インスリン抵抗性の改善、内臓脂肪の減少および血中脂質プロファイルの改善効果があることを明らかにした。その機序は、ホエイたんぱくにより酸化の促進と抗炎症作用および抗酸化作用が増加するためである。低出生体重児では内臓脂肪の蓄積や筋肉量の不足により成人期における2型糖尿病の発症リスクが増加する。また低出生体重児では酸化ストレスが高いという報告もあり、ホエイたんぱくには低出生体重児の2型糖尿病発症の予防効果がある可能性がある。今後実臨床に応用していくために、ホエイたんぱくとカゼインたんぱくを異なる比率で混合した飼料で研究を行う必要がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, using a mouse model of low birth weight-non-obese type hyperglycemia, we clarified that the increase in skeletal muscle insulin resistance due to decreased adipose tissue weight associated with mitochondrial dysfunction is a factor in the onset mechanism of non-obese type hyperglycemia. Furthermore, we demonstrated that whey protein, compared to casein protein, possesses antioxidant and anti-inflammatory effects and has an insulin resistance-improving effect associated with reduction in body fat. Additionally, in a high-fat diet-induced pediatric obesity mouse model, whey protein was shown to enhance the expression of lipid metabolism-related genes (PPAR α) in the liver compared to casein protein, thereby promoting β -oxidation and improving insulin resistance.

研究分野：DOHaD

キーワード：ホエイたんぱく 酸化ストレス PPAR α ミトコンドリア機能 2型糖尿病 インスリン抵抗性 栄養学的介入 マウスモデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本では総出生数は減少しているが低出生体重児は減少しておらず、その低出生体重児の将来の健康障害を減らすことが医療的・経済的・社会的に求められている。低出生体重児は、成人期に肥満や2型糖尿病などの生活習慣病の発症リスクが高く、その予防法の開発が喫緊の課題である。また、乳幼児期から持続する小児肥満症も2型糖尿病および生活習慣病の発症に関連している。若年成人期に2型糖尿病を発症する患者の特徴として、酸化ストレスの増加に伴う内臓脂肪の増加がある。そこで、本研究では、牛乳の成分の1つである乳清(ホエイ)たんぱくに着目した。ホエイたんぱくは、骨格筋のたんぱく質合成促進、内臓脂肪組織の中性脂肪分解促進効果を持つ。我々は、乳幼児期からホエイたんぱくによる栄養学的な介入をすることにより、肥満を伴う2型糖尿病の発症を防ぐことができる可能性を考えた。

2. 研究の目的

動物実験委員会の承認のもと、研究1:雄マウスにおけるホエイたんぱくの体脂肪減少効果をカゼインたんぱくと比較すること、研究2:妊娠中から高脂肪食を負荷し、小児期も高脂肪食を摂取させた高脂肪食負荷小児肥満モデルマウス(雄)にホエイたんぱくを投与し、その効能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

研究1:動物実験委員会承認のもと、ICR系妊娠マウスにプラグチェック陽性の翌日から、ホエイ食、カゼイン食を与えた。出生後に雄の新生仔マウスに生後12週までホエイ食[ホエイ(W)群、n=6]、カゼイン食[カゼイン(C)群、n=6]を継続して与えた(図1)。体重を週1回測定し、12週齢で内臓脂肪重量、空腹時血糖(FBG)、インスリン(IRI)、インスリン抵抗性指数(HOMA-IR)、コレステロール(Cho)、トリグリセリド(TG)、および、肝臓の脂質代謝関連遺伝子発現量と脂肪のメタボローム解析を比較した。

研究2:動物実験委員会承認のもと、ICR妊娠マウスにプラグチェック陽性の翌日から分娩まで高脂肪食を与えた。出生した仔マウスは、4週齢まで高脂肪食餌の母マウスの母乳、4~8週齢まで高脂肪食を与えた。その後、8~12週齢までW群とC群の2群に分け、食餌を続けた(図2)。体重測定は1週間毎に行い、12週齢で体重、マウス用体組成計による脂肪重量の計測、FBG、IRI、HOMA-IR、Cho、TG、および肝臓のペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR)と、ホルモン感受性リパーゼ(HSL)とリポタンパク質リパーゼ(LPL)のmRNA発現レベルを比較した。

4. 研究成果

研究1:妊娠マウスの妊娠中の体重増加は、W群とC群で差はなかった。出生した雄の新生仔マウスは出生体重に差を認めなかったが、生後12週齢ではW群はC群よりも体重が小さかった(48.3 vs 61.0 g)。W群とC群でFBG(177.5 vs 184.7 mg/dL)に差は認めなかったが、内臓脂肪重量(2.4 vs 4.1 g)、IRI(22.0 vs 47.0 μ IU/mL)、HOMA-IR(7.9 vs 19.2)はW群で有意に低かった($p < 0.05$)。Cho(173.5 vs 153.5 mg/dL)に差を認めず、TG(48.8 vs 130.0 mg/dL)はW群で有意に低かった($p < 0.05$)。肝臓の脂質代謝関連遺伝子の発現量は、PPAR α がW群で高い傾向を認め($p=0.08$)、脂肪のメタボローム解析では、抗酸化作用を有するグルタチオン、抗炎症作用を有する1-メチルニコチンアミドがW群で有意に高かった($p < 0.05$)(表1)。

研究2:8週齢以降の体重はW群で減少した(-7.6 vs 3.8 g, $p < 0.01$)。脂肪重量(11.4 vs 18.6 g)、FBG(160 vs 275 mg/dL)、IRI(6.5 vs 10.2 μ IU/mL)、HOMA-IR(2.6 vs 6.8)、T-Cho(124.3 vs 176.1 mg/dL)はW群で有意に低かった($p < 0.05$)。TGは差がなかった(91.0 vs 86.7 mg/dL, $p=0.91$)。PPAR α とHSLはW群で高く、LPLはW群で低かった。PPAR α に差は無かった。

まとめ:ホエイたんぱくはカゼインたんぱくよりも抗酸化作用と抗炎症作用を有し、肝臓のPPAR α の発現を増加させ、中性脂肪分解を促進する。そして内臓脂肪重量低下の結果、HOMA-IRの低下を示す(図3-1、3-2)。また、高脂肪食負荷小児肥満モデルマウスに対してホエイたんぱくは、カゼインたんぱくよりも脂質代謝酵素の発現を増加することにより、脂肪細胞の脂肪分解を促進し、肥満とインスリン抵抗性を改善する(図4)。

以上より、ホエイたんぱくには低出生体重児の肥満予防、2型糖尿病発症予防及び小児肥満に対するインスリン抵抗性改善作用が期待される。今後ヒトにおいて同様の効果が得られるか検証が必要である。

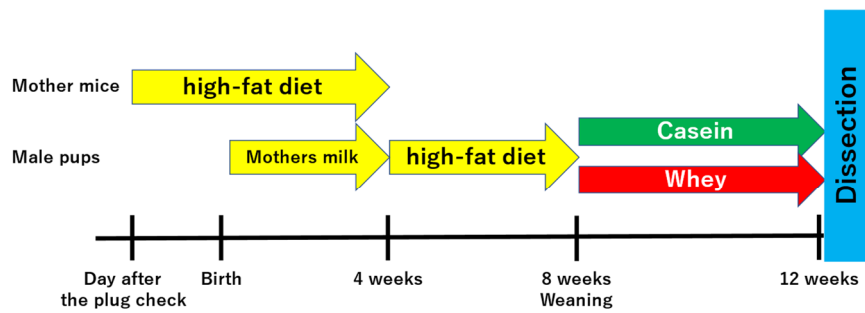
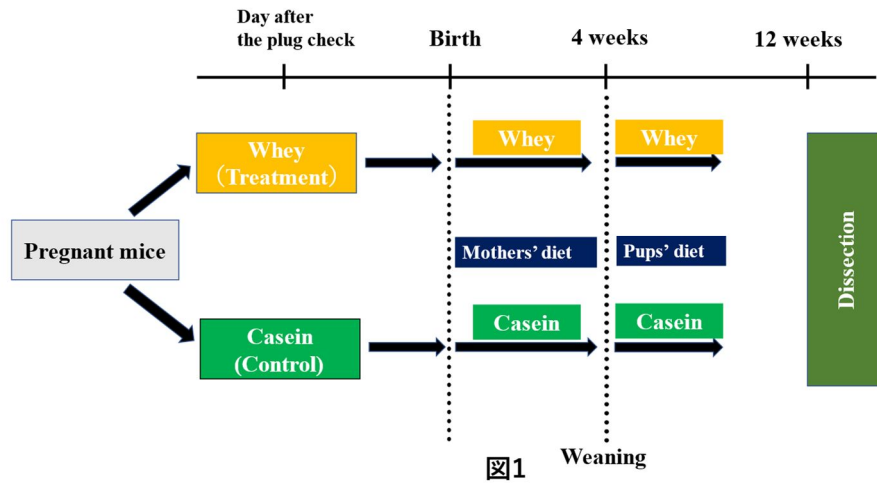


表 1. 脂肪組織におけるメタボローム解析結果のまとめ

抗酸化マーカー

		Comparative Analysis ホエイ群 vs. カゼイン群	
Category	Compound name	Ratio	p-value
Antioxidant	Ascorbic acid	1.1	0.775
	Carnosine	22	0.323
	Glutathione	7.1	0.004
	Hypotaurine	29	0.286
	Tartaric acid	0.6	0.458

抗炎症マーカー

		Comparative Analysis ホエイ群 vs. カゼイン群	
Category	Compound name	Ratio	p-value
Anti-inflammatory	1-Methylnicotinamide	2.0	0.044
	Histidine	1.6	0.243

糖代謝マーカー

		Comparative Analysis ホエイ群 vs. カゼイン群	
Category	Compound name	Ratio	p-value
Glucose metabolism	myo-Inositol phosphates	3.1	0.013

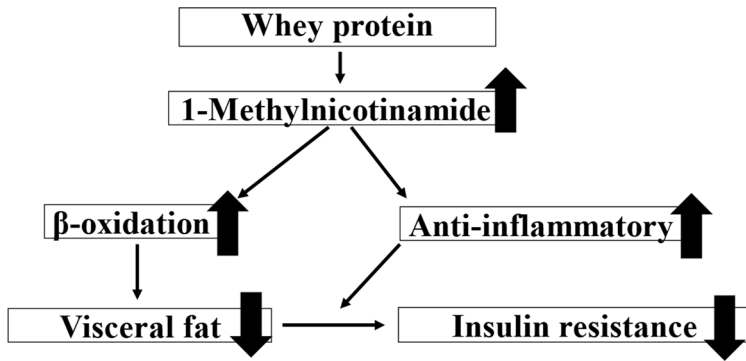


图3-1

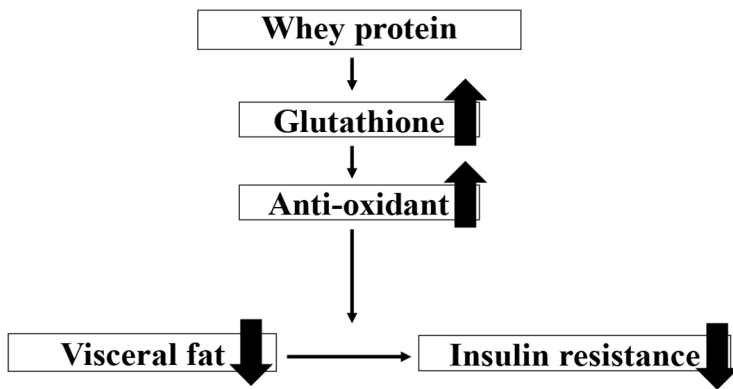


图3-2

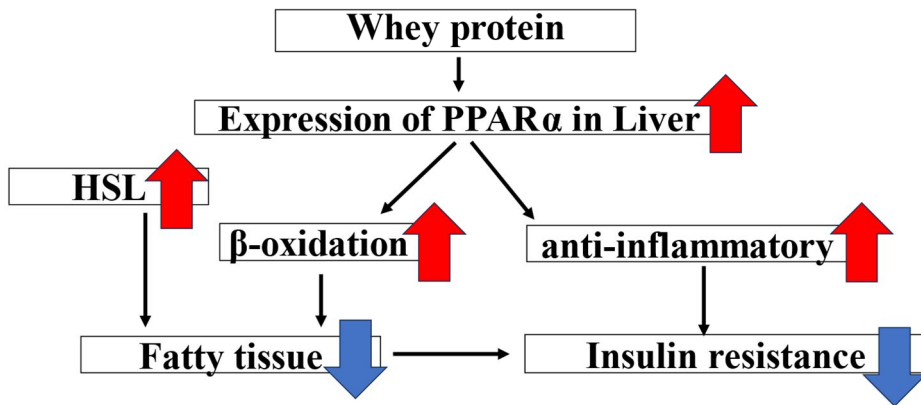


图4

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 3件）

1. 著者名 Katayama D, Nagano N, Shimizu S, Nakazaki K, Matsuda K, Tokunaga W, Fuwa K, Aoki R, Morioka I	4. 巻 10
2. 論文標題 A Non-Obese Hyperglycemic Mouse Model that Develops after Birth with Low Birthweight	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 1642
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines10071642	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 Nagano N, Kaneko C, Ohashi S, Seya M, Takigawa I, Masunaga K, Morioka I	4. 巻 19
2. 論文標題 Non-Obese Type 2 Diabetes with a History of Being an Extremely Preterm Small-for-Gestational-Age Infant without Early Adiposity Rebound	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 8560
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijerph19148560	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 長野伸彦	4. 巻 81巻
2. 論文標題 Developmental Origins of Health and Disease-早産・低出生体重児と糖尿病-	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日大医学雑誌	6. 最初と最後の頁 237-241
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4264/numa.81.4_237	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5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中崎公隆, 長野伸彦, 片山大地, 清水翔一, 森岡一朗
2. 発表標題 ホエイたんぱくの体脂肪減少効果の機序：カゼインたんぱくとの比較
3. 学会等名 第66回日本新生児育成医学会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 片山大地, 長野伸彦, 中崎公隆, 清水翔一, 森岡一朗
2. 発表標題 低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルの高血糖発症機序の解明
3. 学会等名 第58回日本周産期・新生児医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daichi Katayama, Nobuhiko Nagano, Kimitaka Nakazaki, Shoichi Shimizu, Tatsuhiko Urakami, Tomoo Okada, Ichiro Morioka
2. 発表標題 A non-obese diabetes mouse model born with small-for-gestational age
3. 学会等名 Pediatric Academic Societies 2022 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長野伸彦、森岡一朗
2. 発表標題 低出生体重 糖尿病発症(DOHaD)の解明に向けての基礎研究
3. 学会等名 第124回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長野伸彦
2. 発表標題 子宮内虚血を用いた低出生体重-非肥満型高血糖発症マウスモデルの病態解析
3. 学会等名 第20回新生児栄養フォーラム
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
研究 分担者	森岡 一朗 (MORIOKA Ichiro) (80437467)	日本大学・医学部・教授 (32665)	
研究 分担者	岡田 知雄 (OKADA Tomoo) (50177052)	神奈川工科大学・健康医療科学部・特任教授 (32714)	

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
---------	---------