

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 6 月 6 日現在

機関番号：22501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22880028

研究課題名（和文）EGCG 添加食の継続的摂取による小腸を介した食後高血糖抑制効果の検討
 研究課題名（英文）Effect of continuous dietary supplementation with EGCG on suppression of postprandial hyperglycemia via regulation of small intestinal function

研究代表者

島田 昌也（SHIMADA MASAYA）

千葉県立保健医療大学・健康科学部・助教

研究者番号：10576755

研究成果の概要（和文）：EGCG 添加食をラットへ継続的に摂取させることにより、小腸上部における α -グルコシダーゼ活性が低下するだけでなく、グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（GIP）濃度も減少することを見出した。これらの変化から、EGCG の継続的摂取は、小腸の機能制御を介して食後の高血糖の抑制や過剰なインスリン分泌の抑制に結び付くことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：I found that continuously feeding rats a diet containing EGCG reduces GIP protein level as well as alpha-glucosidase activities in the upper small intestine. These suggest that the reductions of the alpha-glucosidase activities and GIP protein level may lead to suppressions of postprandial hyperglycemia and hyperinsulinemia via regulation of small intestinal function.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,260,000	378,000	1,638,000
2011年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,420,000	726,000	3,146,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：EGCG、 α -グルコシダーゼ、GIP、小腸、食後高血糖

1. 研究開始当初の背景

小腸の消化吸収関連遺伝子は、小腸幹細胞である陰窩（クリプト）の未分化細胞から吸収細胞へ分化する過程で発現し、流入する栄養素の消化吸収に対応する。糖質の量が多い食事や消化されやすい糖質を豊富に含む食事を摂る歯類に継続的に摂取させると、糖質の消化に關与する α -グルコシダーゼであるスクラーゼ・イソマルターゼ複合体（SI）やマルターゼ・グルコアミラーゼ複合体（MG）ならびに糖質の吸収に關与する糖輸送体である

SGLT1 や GLUT2 の遺伝子発現が小腸上部で上昇することが明らかとなっている。これらのことから、小腸上部に多くのグルコースが流入するような食生活（過食、早食いなど）は、小腸上部における糖質の消化吸収関連遺伝子発現の上昇をもたらし、その結果、食後の高血糖が増強され、肥満や糖尿病といった生活習慣病発症・進行のリスクを高めていることが示唆される。したがって、糖質の消化吸収を遅延させる食品成分を食生活に取り入れ、小腸の消化吸収機能を制御することが生活習

慣病発症・進行のリスク低減に重要であると考えられる。

糖質の消化吸収遅延作用をもつ食品成分の中でもカテキンは、食事とともに飲むことが多い緑茶に豊富に含まれる成分であり、積極的かつ継続的に摂取しやすいと思われる。しかしながら、緑茶カテキンには、抗ガン作用、動脈硬化抑制作用、血圧上昇抑制作用、抗糖尿病作用、抗肥満作用など様々な疾病予防・改善機能の可能性が報告されているものの、緑茶カテキンの小腸を介した食後高血糖抑制効果に関する研究は、*in vitro* においてスクラーゼ活性を阻害する、ならびにSGLT1による糖の取込みを阻害する、あるいは実験動物への糖質との同時単回投与において血糖上昇を抑制するといった糖質の消化吸収を物理的・競合的に阻害する作用を明らかにしたものが主であった。

2. 研究の目的

EGCG を添加した糖質比の高い食餌をラットに継続的に与え、小腸軸（十二指腸、空腸、回腸）に沿った糖質の消化に関与する α -グルコシダーゼ活性ならびにグルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチドGIPのタンパク質発現量を解析することにより、EGCGの継続的摂取が食後の高血糖の抑制や過剰なインスリン分泌の抑制と関連があるかを調べることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物および飼料: 7週齢SD系雄ラットを対照群、0.1%EGCG群、0.2%EGCG群の3群に分け、AIN-93G組成に基づいた飼料（対照食）、対照食に0.1%、0.2% (w/w) のEGCGを添加した飼料を14日間それぞれ与えた。試験飼料の詳細な組成は表1に示す。

表1 飼料組成

	Control	0.1%EGCG g/100 g	0.2%EGCG
カゼイン	20.0	20.0	20.0
コーンスターチ	40.0	39.9	39.8
ショ糖	20.0	20.0	20.0
ラード	5.0	5.0	5.0
コーン油	5.0	5.0	5.0
セルロース	5.0	5.0	5.0
AIN93ミネラル混合	3.5	3.5	3.5
AIN93ビタミン混合	1.0	1.0	1.0
L-シスチン	0.3	0.3	0.3
重酒石酸コリン	0.2	0.2	0.2
EGCG	-	0.1	0.2

(2) 組織の採取: 試験開始14日目に12時間絶食させた後、血液、小腸、肝臓ならびに精巢上体脂肪を採取した。

(3) 血液パラメーターの測定: 採取した血液

を1,500g、4℃、15分間遠心した後、血漿を分離し血漿パラメーター測定に用いた。グルコース濃度ならびにトリグリセリド濃度は酵素法により測定した。インスリン濃度およびGIP濃度はELISA法により測定した。

(4) 小腸の α -グルコシダーゼ活性測定: 小腸を十二指腸、空腸、回腸に分割した後、10mMのリン酸カリウム緩衝液 (pH7.0) を加えホモジナイズした。スクラーゼ活性、イソマルターゼ活性、マルターゼ活性ならびにグルコアミラーゼ活性の測定は、28mM スクロース、28mM パラチノース、28mM マルトースならびに1%デンプンを基質として、Dahlqvistの方法を改変した方法により測定した。組織中のタンパク質量はLowry法により測定した。

(5) 小腸のGIPタンパク質発現量測定: 十二指腸、空腸、回腸にRIPAバッファー [50mM Tri-HCl (pH8.0)、150mM NaCl、0.5% sodium deoxycholate、0.1% SDS、1.0% NP-40、5mM EDTA、プロテアーゼインヒビタータブレット (1 tablet/10mL)] を加えホモジナイズした。ホモジネートを20,000g、4℃、30分間遠心し、上清を測定に用いた。上清中のGIP量はELISA法により測定した。タンパク質量はLowry法により測定した。

4. 研究成果

(1) 重量ならびに血液生化学的指標: EGCGを0.1%、0.2%を添加した食餌を14日間与えても、体重、組織重量、摂食量、空腹時血漿パラメーターのいずれにも変化はなかった (表2)。

表2 重量ならびに血液生化学的指標

	Control	0.1% EGCG	0.2% EGCG
増体重 (g/14d)	90.7 ± 3.1	99.5 ± 2.4	87.1 ± 1.3
肝臓重量 (g/100g body weight)	3.08 ± 0.05	3.07 ± 0.06	2.94 ± 0.06
精巢上体脂肪重量 (g/100g body weight)	1.49 ± 0.09	1.67 ± 0.14	1.27 ± 0.07
摂食量 (day 14, g/d)	18.9 ± 0.3	21.0 ± 0.8	19.1 ± 0.3
血漿パラメーター			
グルコース (mg/100mL)	109.1 ± 2.4	103.6 ± 3.0	105.0 ± 3.4
中性脂肪 (mg/100mL)	108.4 ± 10.8	131.9 ± 10.7	115.1 ± 10.1
インスリン (ng/mL)	1.20 ± 0.23	0.89 ± 0.28	0.65 ± 0.14
GIP (pg/mL)	24.2 ± 2.6	34.5 ± 5.9	32.2 ± 5.3

値は平均値 (n=5) ± 標準誤差で示す

(2) α -グルコシダーゼ活性: EGCGを0.1%、0.2%を添加した食餌を14日間与えたところ、スクラーゼ活性は、十二指腸において、コントロール群に対して0.1%ならびに0.2%EGCG添加食群で有意に低下した。イソマルターゼ活性は、いずれの小腸部位においても、コントロール群に対して0.1%ならびに0.2%EGCG

添加食群で有意な差はみられなかった。マルターゼ活性は、十二指腸において、コントロール群に対して 0.2%EGCG 添加食群で有意に低下した。グルコアミラーゼの活性は、十二指腸ならびに空腸において、コントロール群に対して 0.2%EGCG 添加食群で有意に低下した。(図 1)。

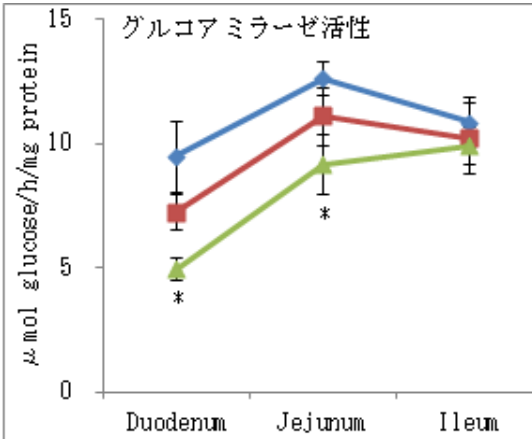
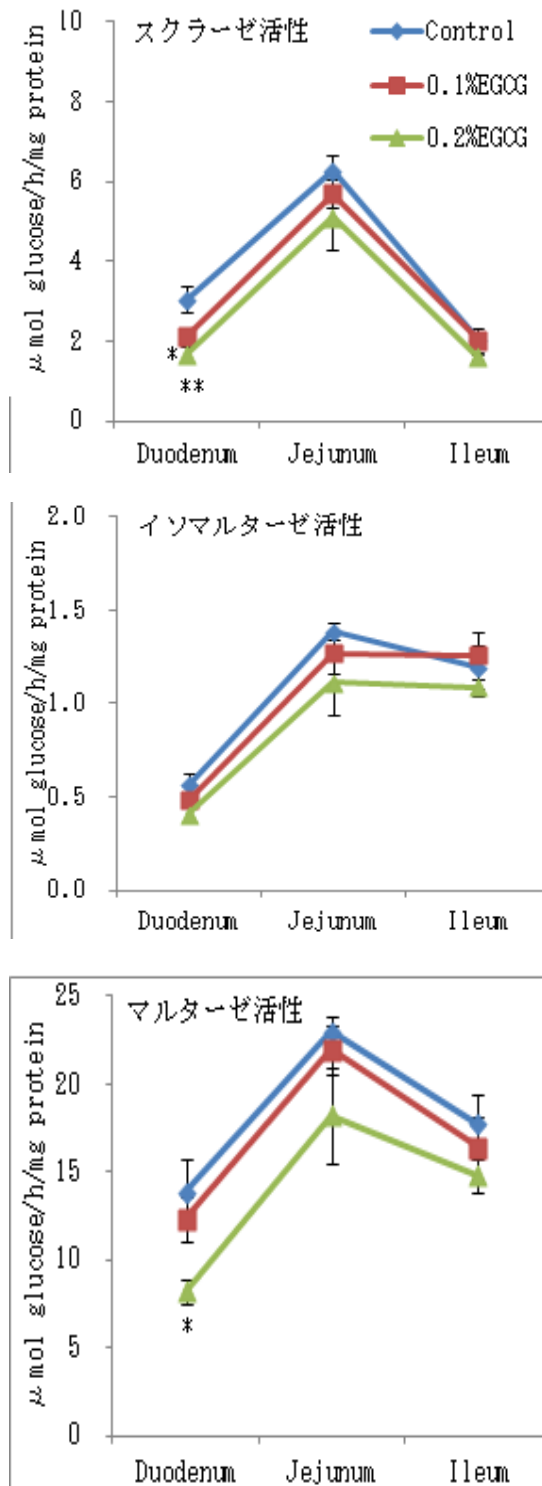


図 1 EGCG 添加食摂取による小腸軸に沿った α -グルコシダーゼ活性分布の変動値は平均値 (n=5) \pm 標準誤差で示す。アスタリスクはコントロール群に対し、有意差あり (*:p<0.05、** : p<0.01)。

(3)GIP タンパク質発現量: EGCG を 0.1%、0.2%を添加した食餌を 14 日間与えたところ、GIP タンパク質発現量は、十二指腸において、コントロール群に対して 0.2%EGCG 添加食群で有意に減少した。(図 2)。

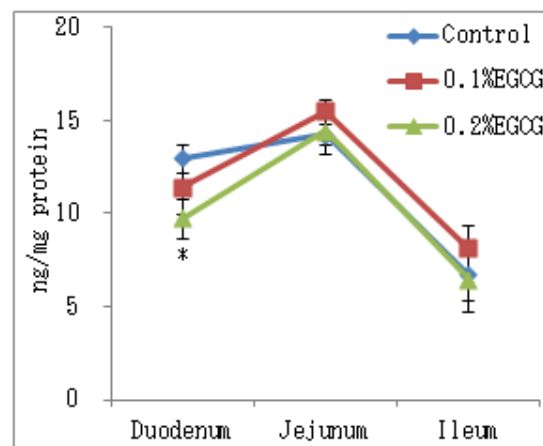


図 2 EGCG 添加食摂取による小腸軸に沿った GIP タンパク質発現量分布の変動値は平均値 (n=5) \pm 標準誤差で示す。アスタリスクはコントロール群に対し、有意差あり (*:p<0.05)。

(4)以上の結果から、EGCG を添加した食餌をラットに継続的に摂取させると、小腸上部において、糖質の消化に重要な役割を果たしている α -グルコシダーゼ活性が低下するだけでなく、インスリン分泌の促進に関与する消化管ホルモン GIP のタンパク質発現も低下することを見出した。これらの低下は、食後の高血糖の抑制や過剰な食後のインスリン分泌の抑制に結びつくものと考えられた。今後、同様の条件で EGCG 添加食を摂取させ、 α -グ

ルコシダーゼ活性やGIPタンパク質発現が低下したラットに対し、糖負荷試験を行うことにより、食後の高血糖の抑制や過剰な食後のインスリン分泌の抑制が起こっているかを解析する必要がある。

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)

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島田 昌也 (SHIMADA MASAYA)

千葉県立保健医療大学・健康科学部・助教

研究者番号：10576755