

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450159

研究課題名(和文) 食事誘導性肥満・耐糖能異常の発症過程におけるGLP-1の関与

研究課題名(英文) Role of GLP-1 during the development of diet-induced obesity and glucose impairment

研究代表者

比良 徹 (HIRA, Tohru)

北海道大学・(連合)農学研究科(研究院)・講師

研究者番号：10396301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：肥満や耐糖能異常の発症過程において、消化管ホルモンGLP-1がどのように変動するかを調べるため、ラットに肥満誘導食(高脂肪・高ショ糖食)を5～8週間摂取させた。期間途中の食事負荷試験(普通食を負荷)により、肥満誘導食摂取群は食後GLP-1分泌が高まることが見出された。消化管の各種栄養素受容体の発現を調べたところ、脂肪酸受容体の発現上昇が観察され、このことが食後GLP-1分泌応答の増進に關与することが考えられた。GLP-1受容体アンタゴニストを用いた試験により、この食後GLP-1分泌上昇は、肥満誘導食による耐糖能の悪化に対して防御的な役割を持つことが示された。

研究成果の概要(英文)：It is unclear how postprandial GLP-1 secretory response is affected during the development of diet-induced obesity. Meal tolerance test (MTT) was conducted in rats fed normal or high-fat/high-sucrose (HF/HS) diet, and postprandial GLP-1, insulin and glycemic response were monitored. Postprandial GLP-1 secretion was larger in HF/HS rats than control rats at week 2 and 4, and this was reflected by increased insulin response in HF/HS rats. In the intestinal mucosa, among various nutrient sensing receptors and transporters evaluated, one of fatty acid receptors, FFAR1 had higher mRNA expression in the upper small intestine of HF/HS rats compared to that of control rats. These result demonstrates that postprandial GLP-1 secretion is increased in the early period of developing diet-induced obesity, and that increased postprandial GLP-1 response contributes to normalize postprandial glycemic response by enhancing insulin secretion.

研究分野：食品栄養学

キーワード：GLP-1 食事誘導性肥満 食後血糖

## 1. 研究開始当初の背景

高エネルギー食摂取や過食による内蔵脂肪の蓄積が、耐糖能異常、高血圧、脂質異常症などの発症リスクを高める。これには内蔵脂肪で起きる慢性炎症が大きく寄与するとされる。内蔵脂肪の蓄積は、長期間の高エネルギー食摂取や過食により誘導されるものであり、短期、あるいは単回摂取では病的な症状は現れない。つまり、高エネルギー食や過食に対するその都度の応答の蓄積あるいは異常が、内蔵脂肪蓄積を防いだり、あるいは助長すると考えられる。

食事摂取に対して即座に応答する消化管因子として消化管ホルモンがあり、CCK、GLP-1、PYY などその後の食欲を抑制する働きを持つものが存在する。中でも GLP-1 は、グルコース依存的にインスリン分泌を刺激し(インクレチン作用)、食後血糖の上昇を防ぐとともに、脂質の吸収を抑制する作用、膵細胞保護作用など肥満・耐糖能異常の防御に関わる多くの作用を有する。

過食を防ぎ、食後高血糖を緩和する消化管内分泌系というシステムが備わっているにも関わらず、脂肪の過剰蓄積が生じてしまう事に関して、申請者は、長期間の高エネルギー食摂取や過食により、GLP-1 など消化管分泌系を介した恒常性維持システムが破綻し、そのことが内蔵脂肪(主に腸間膜脂肪)の肥大、炎症につながる可能性を考えた。

2型糖尿病患者において、GLP-1 受容体作動薬の耐糖能改善への有効性は近年知られるところである。糖尿病や耐糖能異常においては、GLP-1 分泌が低下していることが考えられ、それを示した論文がある一方で、支持しない報告もあり、GLP-1 分泌不全の有無についてコンセンサスは得られていない。これら不一致の背景には、特にヒトの場合、同じ病態でも遺伝的背景(欧米人 or 日本人)に加え、食習慣、生活習慣などの違いが深く関係すると考えられる。

臨床試験の場合、既に耐糖能異常のあるヒト(患者)を対象とすることは可能であるが、健常者が肥満や耐糖能異常を呈する過程での GLP-1 の変動を調べることは難しい。一方動物試験の場合、病態発症に至る過程での GLP-1 の変動をモニタリングすること、さらに厳密な食事組成のコントロールも可能である。申請者はこれまでの動物試験において、トウモロコシ由来のペプチドがラットへの単回での経口・回腸投与により GLP-1 分泌を強く刺激し、かつ GLP-1 の分解を抑制することで、インスリン分泌促進を介して血糖上昇を抑制することを明らかにした。このような研究に従事する中で、経口投与した食品成分に対する一過性の GLP-1 分泌応答だけでなく、長期にわたり食事条件を変えることにより GLP-1 の産生、基礎分泌、食後分泌応答がどのように影響を受けるのかに興味を持ち、本申請課題を着想するに至った。

## 2. 研究の目的

本研究課題は、耐糖能異常や肥満の発症過程において、消化管ホルモンの中でもその多様な機能を持つ GLP-1 の、産生・分泌・シグナルがどのように関わるのかを明らかにすることを目的とした。上述の研究目的において、以下の具体的目標を設定した。

- (1)耐糖能異常・肥満の発症過程における、GLP-1 の産生・分泌の経時的変動を明らかにする。
- (2)食事条件に対する GLP-1 産生・分泌の変動(不全、過剰)が、耐糖能異常・肥満に対してどのように関与するのかを明らかにする。
- \* GLP-1 の変動、関与が確認できない場合には他の消化管ホルモン(GLP-2、PYY、CCK)について検討する。
- (3)肥満誘導食摂取に対する GLP-1 産生・分泌の変動において、どの食品成分(脂質、糖質、その他)の寄与が大きいのかを明らかにする。
- (4)GLP-1 の働きを正常化することで、耐糖能異常・肥満を予防、軽減する食事組成を見いだす。
- (5)GLP-1 産生細胞レベルでの変動を解析する～培養細胞

## 3. 研究の方法

### <実験1>

耐糖能異常、肥満を強く誘導する高脂肪+高シヨ糖食を正常ラットに摂取させ、8週間の試験期間中に定期的に食事負荷試験(耐糖能試験)を行い、食後の血糖、インスリン、GLP-1 の変動、さらにアセトアミノフェン法により胃排出速度を測定した。

### <実験2>

食事負荷試験の際に、より生理的な条件として粉末飼料を一定量自由摂取させ、肥満誘導過程における食後血糖、GLP-1 分泌、インスリン分泌応答を観察した。耐糖能異常、肥満を強く誘導する高脂肪+高シヨ糖食を正常ラットに摂取させ、5週間の試験期間中に定期的に粉末飼料を用いた食事負荷試験(耐糖能試験)を実施した。

### <実験3>

食後 GLP-1 分泌応答の増強が、食後血糖上昇抑制に寄与するのかを確かめるために、GLP-1 の作用をブロックした条件で、ラットに高脂肪高シヨ糖食を摂取させる試験を実施した。GLP-1 の作用を持続的にブロックする処理として、GLP-1 受容体アンタゴニスト exendin 9-39 (Ex-9)を浸透圧ポンプに充填し、これを皮下に埋め込んで5週間飼育した。

## 4. 研究成果

### <実験1>

試験開始1週目から高脂肪+高シヨ糖食群において普通食群に比べ、食後血糖応答が高

まり、2週目においては食後インスリン分泌も高まる結果となった。その後空腹時血糖も高脂肪+高シヨ糖食群で高まり、耐糖能障害は試験終了時まで持続した。食後のGLP-1分泌については試験期間後半において高脂肪+高シヨ糖食群において高まる結果となり、GLP-1の分泌不全は観察されなかった。また、胃排出速度も試験期間後半において、高脂肪+高シヨ糖食群で低下する結果となった。

これらの結果から、高脂肪+高シヨ糖食摂取により早期において食後血糖応答の上昇、即ち耐糖能異常が生じること、その後にGLP-1分泌応答の増進が起きることが明らかとなった。

#### <実験2>

試験3週目から高脂肪+高シヨ糖食群の空腹時血糖が高まったが、食後血糖値に明確な差は見られなかった。一方、GLP-1分泌は2週目より高脂肪+高シヨ糖食群が高い応答を示し、インスリン分泌も同様の結果となった。これにより、肥満誘導食摂取により、早期において食後のGLP-1分泌応答が高まり、このことがインスリン分泌を高めて、食後高血糖を抑制することが考えられた。このことは、持続的な肥満誘導食摂取に対して、GLP-1を分泌する消化管内分泌系が食事への感受性を高めることで、早期に防御的に適応することを示唆している。消化管粘膜の栄養素感受体分子のmRNA発現を解析したところ、一部の脂肪酸感受体の発現が上昇しており、このことが感受性亢進に寄与することが考えられた。

#### <実験3>

2週、3週目の食事負荷試験（一夜絶食後に全ラットに普通食10g/kgを再給餌、15分で完食）において、高脂肪高シヨ糖食群ではコントロール群に比べて血糖応答の増加傾向が見られたが、高脂肪高シヨ糖食+Ex-9群では、血糖応答は有意に増加した。4週目には、全群等量（3.53g/kg、コントロール群で10g/kgに相当）の食事を負荷したにも関わらず、2週、3週と同様の結果となった。このことから、高脂肪高シヨ糖食群にEx-9を持続投与すると食後高血糖が助長されることが示された。食後インスリン分泌は、高脂肪高シヨ糖食群で増加した。Ex-9によりGLP-1のシグナルをブロックしたことで、食後インスリン分泌が減弱することも考えられたが、Ex-9投与の影響は見られなかった。GLP-1分泌についてもEx-9の影響は見られなかった。

以上の結果より、高脂肪高シヨ糖食長期摂取による、食後GLP-1分泌の増大は、インスリン分泌亢進よりもむしろ、インスリン抵抗性の成立に対して防御的な役割を持つことが明らかとなった。さらに、難消化性デキストリン長期摂取が、GLP-1産生を増加させ、耐糖能異常を抑制することが示された。

#### 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2件)

Hira T, Ikee A, Kishimoto Y, Kanahori S, Hara H. Resistant maltodextrin promotes fasting glucagon-like peptide-1 secretion and production together with glucose tolerance in rats. *British Journal of Nutrition* 2015; 114(1):34-42.

doi: 10.1017/S0007114514004322. 査読あり

Nakajima S, Hira T, Hara H. Postprandial glucagon-like peptide-1 secretion is increased during the progression of glucose intolerance and obesity in high-fat/high-sucrose diet-fed rats. *British Journal of Nutrition* 2015; 113(9):1477-88.

doi: 10.1017/S0007114515000550. 査読あり

〔学会発表〕(計8件)

古賀 俊希、比良 徹、高橋 敬典、名倉 泰三、内野 浩克、原 博。ラットにおける肥満誘導食へのDFA III、ラフィノース添加の影響、日本農芸化学会 2016年度大会、2016/3/30、札幌コンベンションセンター（北海道・札幌市）

比良 徹、食事誘導性肥満の発症過程におけるGLP-1分泌応答～ラットでの食事負荷試験による解析、第21回Hindgut club Japanシンポジウム、2015/12/5、専修大学神田キャンパス（東京都・千代田区）

比良 徹、食事誘導性肥満モデルラットにおける食後GLP-1分泌応答、第27回夏期油脂・コレステロール研究会、2015/7/18、エーヴランドホテル（北海道・余市町）

Tohru Hira, Aoi Kanehira, and Hiroshi Hara, Changes in postprandial glucagon-like peptide-1 secretion during the development of diet-induced obesity in rats, The 51st EASD Annual Meeting, 2015/9/17, Stockholmsmässan, ストックホルム（スウェーデン）

Tohru Hira, Ryoya Suto, Yuka Kishimoto, Sumiko Kanahori, Hiroshi Hara, Supplementation of resistant maltodextrin and fructooligosaccharides promotes GLP-1 production, attenuates lipid accumulation and glucose intolerance in high fat and high sucrose diet-induced obese rats, The 6th International Dietary Fibre Conference

2015 (DF15)、2015/6/1-3、Les Salons de l'Aveyron、パリ (フランス)

Ryoya Suto, Tohru Hira, Yuka Kishimoto, Sumiko Kanahori, Hiroshi Hara, Effect of resistant maltodextrin and fructooligosaccharides on GLP-1 secretion and production in diet-induced obese rats, The 12th Asian Congress of Nutrition (12th ACN)、2015/5/15、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

金平 葵、比良 徹、原 博、高脂肪・高シヨ糖食ラットにおける食後 GLP-1 分泌の解析、第 35 回日本肥満学会、2014/10/25、フェニックスシーガイアリゾート コンベンションセンター (宮崎県・宮崎市)

金平 葵、比良 徹、原 博、長期高脂肪・高シヨ糖食摂取による絶食時および食後 GLP-1 分泌への影響、第 68 回日本栄養・食糧学会大会、2014/6/1、酪農学園大学 (北海道・江別市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

比良 徹 (HIRA, Tohru)

北海道大学・大学院農学研究院・講師

研究者番号：10396301