

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460123

研究課題名(和文) D-アロースの抗酸化作用・抗炎症作用のメカニズム解明

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism of anti-oxidative and anti-inflammatory actions of D-allose

研究代表者

徳田 雅明 (Tokuda, Masaaki)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：10163974

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：希少糖のD-アロースには活性酸素産生抑制作用があり、また、糖代謝や脂質代謝効果も期待できる。今回の研究により、D-アロースには細胞や組織の還元性を高めることがメタボローム解析などにより明らかになった。またD-アロースによりTXNIP (Thioredoxin Interacting Protein) の発現が高まることが示された。TXNIPの発現およびリン酸化はMAPKシグナル系により制御されていることが分かった。またD-アロースは脳血液関門を通過すること、安全性には問題がないことが明らかになった。これらによりD-アロースを応用する基盤を作ることができた。

研究成果の概要(英文)：D-allose, one of rare sugars, has anti-oxidative action, and is expected to have action to carbohydrate and lipid metabolism. By metabolome analysis, we found a total reducing potential increased significantly in cells and tissues. We also found that D-allose enhanced TXNIP (Thioredoxin Interacting Protein) expression. TXNIP expression and its phosphorylation were regulated by MAPK signaling system. By autoradiographic analysis of D-allose, we found that D-allose goes through blood brain barrier, and that D-allose is safe as a food material. We therefore could established the foundation of application of D-allose.

研究分野：細胞生理学

キーワード：D-allose rare sugar anti-oxidant MAPK

1. 研究開始当初の背景

ノンカロリーの希少糖 D-アロースには他の単糖には見られない強力な活性酸素産生抑制作用ならびに消去作用がある。D-アロースの活性酸素産生抑制を高血圧発症へ応用する試みを、高食塩食により高血圧を発症する「食塩感受性高血圧発症 Dahr ラット」において実施した。D-アロース(2g/kg)を経口投与することで大動脈血管壁において高食塩食により発生する活性酸素が著明に抑えられることを初めて可視的に示し、有効に血圧の上昇を抑えることを示すことができた (J Hypertens. 23:1887-94, 2005)。また、糖代謝や脂質代謝改善効果も期待できる。すでに我々は食塩感受性高血圧発症 Dahr ラットや中大脳動脈閉塞による脳梗塞モデルラットに D-アロースを使用し、有効性を示すことができた。神経細胞障害に活性酸素が重要な役割を果たす中大脳動脈を 60 分間閉塞するラット脳虚血モデル系において、D-アロースの有効性を解析した (平成 19 年度~21 年度の科学研究費基盤研究 C)。その結果 D-アロースの腹腔内注射 (100~400mg/kg 体重) により障害領域が著明に縮小することを示すことができ論文化を行った。(Neurosci Lett. 487:103-106, 2011)

2. 研究の目的

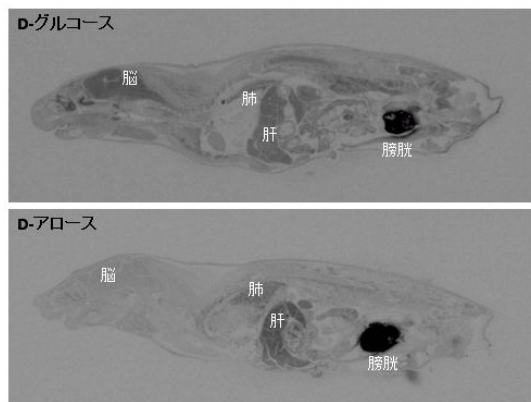
これを基礎にして、D-アロースを酸化ストレスが関与する血管病変により生じる高血圧症や脳卒中を改善予防するための機能性食品 (医療用食品や特定保健用食品) として開発するトランスレーショナルリサーチの基礎となるメカニズム解明を目指す。特に抗酸化活性および抗炎症作用のメカニズム解明を目指す。

3. 研究の方法

D-アロースの細胞への取り込みメカニズムを明確化する。トランスポーターレベルでの D-アロースの効果を検証する。ラットを用いて D-アロース投与実験を進める。アディポサイトカインや炎症性サイトカイン類の変化を酸化ストレスマーカーとの関連で調べる。

4. 研究成果

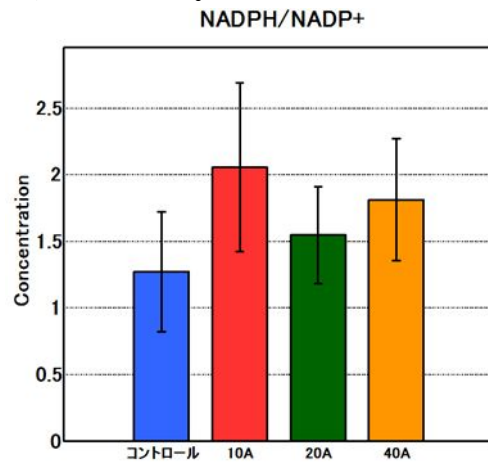
(1) D-アロースの細胞への取り込み



アイソトープでラベルした D-[1-¹⁴C]Allose (100 mg/1.11 MBq/2.0 mL/kg) を用いてラットにおいてオートラジオグラフィーを実施した。D-[1-¹⁴C]Glucose は、多くの臓器に取り込みが起っていた。一方 D-[1-¹⁴C]Allose も、同様の取り込みを示したが、脳においては、D-[1-¹⁴C]Glucose に比べると取り込みが少なかった。

(2) D-アロースのメタボローム解析

NADPH はその還元作用によって細胞を酸化ストレスから保護する重要な役割を担っている。また、脂肪酸やイソプレノイド、芳香族アミノ酸の生成時に消費されることが知られている。

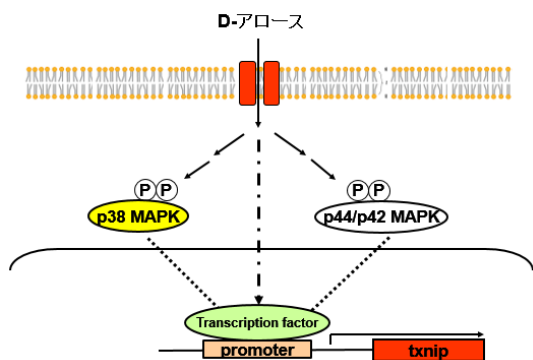


D-アロースは 10mM, 20mM, 40mM の全てにおいて、還元作用のある NADPH とその酸化型の NADP+ との比が 1.5~2 倍程度上がっていた。D-アロースの抗酸化作用を説明できる可能性がある。NADP+ から NADPH の変換は主にペントースリン酸経路によって行われ、NADPH / NADP+ 比はペントースリン酸経路の主要な制御酵素であるグルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ活性と強い相関があるとされるので、今後グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ活性への D-アロースの影響を調べる必要がある。

(3) D-アロースによる TXNIP 発現増加のシグナル系の解析

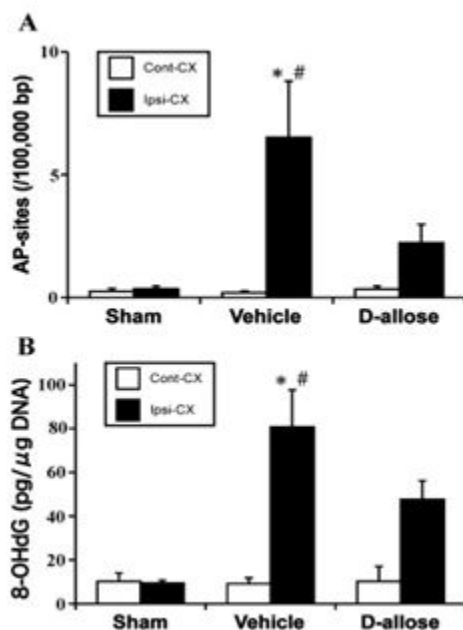
希少糖の一種 D-アロース (D-グルコースの 3 位のエピマー) は、複数の株化癌細胞において Thioredoxin interacting protein (TXNIP) の発現を誘導する。それにより細胞周期の停止、およびグルコースの取り込み抑制を引き起こし、細胞増殖を抑制する。TXNIP は正常細胞では発現しているが、癌組織および癌細胞においては、発現が著しく減少している癌抑制タンパク質である。株化肝癌細胞における D-アロース添加から TXNIP の発現誘導に至るシグナル伝達経路について解析を行った。D-アロースによる TXNIP の発現誘導に、p44/p42 MAPK およびそのターゲットである p90RSK の一過性のリン酸化が関与することが明らかになった。一方 TXNIP が減少する過程では、p44/p42 MAPK および p90RSK のリ

ン酸化レベルが持続的に亢進した。これらの結果は、p44/p42 MAPK-p90RSK シグナル伝達経路が TXNIP の発現制御に密接に関与していることを示唆していた。



(4) D-アロースの虚血再灌流障害での効果

D-アロースを前頭葉の一過性脳虚血の系で使用することにより、酸化ストレスに対する効果を検証した。中大脳動脈を5分間結紮することにより虚血モデルを作り、D-アロースは400mg/kgの量腹腔内に投与した。炎症性のサイトカインおよび酸化ストレスを測定した。D-アロースにより著明に梗塞巣の大きさは小さくなり、D-アロースの効果が証明された。



酸化ストレスである AP-site および 8-OHdG を測定したところ、D-アロース投与により両方のマーカーとも有意に減少したので、酸化ストレスを低減していることが明らかになった。

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 4 件)

Shinohara N, Nakamura T, Abe Y, Hifumi T, Kawakita K, Shinomiya A, Tamiya T,

Tokuda M, Keep RF, Yamamoto T, Kuroda Y. d-Allose Attenuates Overexpression of Inflammatory Cytokines after Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Gerbil. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2016 Sep;25(9):2184-2188.

doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.01.030.

Noguchi C, Kamitori K, Hossain A, Hoshikawa H, Katagi A, Dong Y, Sui L, Tokuda M, Yamaguchi F.

D-Allose Inhibits Cancer Cell Growth by Reducing GLUT1 Expression.

Tohoku J Exp Med. 2016;238(2):131-41. doi: 10.1620/tjem.238.131.

Kashiwagi H, Asano E, Noguchi C, Sui L, Hossain A, Akamoto S, Okano K, Tokuda M, Suzuki Y.

Beneficial effect of D-allose for isolated islet culture prior to islet transplantation.

J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2016 Jan;23(1):37-42. doi: 10.1002/jhbp.298.

Liu Y, Nakamura T, Toyoshima T, Shinomiya A, Tamiya T, Tokuda M, Keep RF, Itano T.

The effects of D-allose on transient ischemic neuronal death and analysis of its mechanism.

Brain Res Bull. 2014 Oct;109:127-31. doi: 10.1016/j.brainresbull.2014.10.005.

〔学会発表〕(計 12 件)

野口 知里、山口 文徳、神鳥 和代、隋麗、片木 絢子、ホセイン アクラム、塚本 郁子、徳田 雅明

希少糖D-アロースはTXNIPの誘導とGlut1の発現抑制によって癌細胞増殖を抑制する 第92回日本生理学大会 神戸コンベンションセンター(神戸)2015年3月

神鳥 和代、山口 文徳、董 有毅、ホセイン アクラム、隋麗、片木 絢子、野口 知里、星川 広史、徳田 雅明

希少糖 D-アロースにより発現誘導される制因子 Thioredoxin interacting protein (TXNIP)の in vivo での関与

第 92 回日本生理学大会 神戸コンベンションセンター(神戸市)2015年3月

Akram Hossain, Li Sui, Fuminori Yamaguchi, Kazuyo Kamitori, Dong Youyi, Ikuko Tukamoto, Chisato

Noguchi, Ayako Katagi, Iida tetsuo, Masaaki Tokuda

A rarely natural sugar, D-allulose, prevents obesity and progression of diabetes in Type 2 diabetic OLETF rats

第 8 回アジア・オセアニア生理学学会連合 (FAOPS)バンコク(タイ)2015年10月

Akram Hossain, Li Sui, Fuminori

Yamaguchi, Kazuyo Kamitori, Dong Youyi, Ikuko Tukamoto, Iida tetsuo, Masaaki Tokuda

Rare sugar D-allulose(D-psicose) prevents progression and development of diabetes in Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Model Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty (OLETF) Rats

22nd European Congress on Obesity、プラハ (チェコスロバキア) 2015年5月
野口 知里、山口 文徳、神鳥 和代、ホセイン アクラム、片木 絢子、董 有毅、徳田 雅明

希少糖 D-アロースによる GLUT1 の発現減少とそのメカニズム検討

日本薬学会第 136 年会、パシフィコ横浜 (横浜市) 2016年3月

野口 知里、片木 絢子、神鳥 和代、董有毅、ホセイン アクラム、徳田 雅明、山口 文徳

希少糖 D-allose による HRE プロモーター抑制を介した GLUT1 発現減少機序

第 93 回日本生理学会大会、札幌 コンベンションセンター(札幌市) 2016年3月
神鳥 和代、山口 文徳、董 有毅、ホセイン アクラム、隋 麗、片木 絢子、野口 知里、徳田 雅明

希少糖 D-アロースにより発現誘導される癌抑制因子 Thioredoxin interacting protein (TXNIP)の制御機構解析と新規癌治療法開発の可能性

第 93 回日本生理学会大会、札幌 コンベンションセンター(札幌市) 2016年3月

Kamitori K, Yamaguchi F, Dong Y, Hossain A, Sui L, Katagi A, Noguchi C, Hoshikawa H, Tokuda M. Analysis of the regulatory mechanism of D-allose inducible tumor suppressive factor TXNIP (thioredoxin interacting protein) for development of a new cancer therapy

The 6th Joint Symposium between Chiang Mai University and Kagawa University 香川大学 (高松市) 2016年8月

神鳥 和代、希少糖 D-アロースにより活性化されるシグナル伝達系の解析とそれを用いた新規癌治療法の開発、

第 35 回日本糖質学会年会、高知市文化プラザかるぼーと (高知市) 2016年9月

Kamitori K, Noguchi C, Sui L, Dong Y, Yamaguchi F, Tokuda M. Analysis of the regulatory mechanism of D-allose inducible tumor suppressive factor TXNIP (thioredoxin interacting protein) for development of a new cancer therapy

The 6th Symposium of International Society of Rare Sugars かがわ国際会議

場 (高松市) 2016年11月

神鳥 和代、山口 文徳、董 有毅、ホセイン アクラム、隋 麗、片木 絢子、野口 知里、星川 広史、徳田 雅明、希少糖 D-アロースにより活性化されるシグナル伝達系の解析とそれを用いた新規癌治療法の開発の可能性、

第 68 回日本生理学会地方会、岡山大学 (岡山市) 2016年11月

神鳥 和代、山口 文徳、董 有毅、ホセイン アクラム、隋 麗、片木 絢子、野口 知里、星川 広史、徳田 雅明

希少糖 D-アロースにより発現誘導される癌抑制因子 Thioredoxin interacting protein (TXNIP)の制御機構解析と新規癌治療法開発の可能性

第 94 回日本生理学会大会、浜松アクティコンgresセンター (浜松市) 2017年3月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：癌細胞の GLUT1 の発現抑制用組成物および発現抑制方法

発明者：徳田 雅明、山口 文徳、野口 知里

権利者：香川大学、松谷化学工業

種類：特許

番号：特願 2015-058272 号

出願年月日：平成 27 年 3 月

国内外の別：国内

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

香川大学医学部細胞情報生理学ホームページに業績等を掲載している

<http://www.kms.ac.jp/~physiol1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

徳田 雅明 (TOKUDA, Masaaki)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：10163974

(2)研究分担者

山口 文徳 (YAMAGUCHI, Fuminori)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：40271085

神鳥 和代 (KAMITORI, Kazuyo)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：40457338

董 有毅 (Tou, Yuki)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：90457341