

令和元年5月14日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07725

研究課題名(和文) 食事条件に対する消化管栄養素感受性の適応機構の解明と制御

研究課題名(英文) Regulation of gut nutrient sensing mechanisms in response to dietary intervention

研究代表者

比良 徹(Hira, Tohru)

北海道大学・農学研究院・講師

研究者番号：10396301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：耐糖能異常、肥満を誘導する高脂肪高ショ糖食をラットに持続的に摂取させると、食事投与に対する消化管ホルモン(GLP-1)分泌応答が、正常ラットに比べて高まることが見出された。これには、高ショ糖食よりも高脂肪食の寄与が大きいことが示唆された。また、GLP-1の作用を抑制する薬剤の処理により、GLP-1の分泌増進は耐糖能異常の発症に対して防御的に働くことが明らかとなった。また、肥満誘導食の持続摂取による食後GLP-1分泌の増加、すなわち消化管の栄養素感受性の亢進は、成熟ラットよりも若齢ラットの方が速やかに観察されることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、肥満誘導食のどのような食事成分が栄養素感受性を亢進(あるいは減弱)させるか、その感受性亢進(食後GLP-1分泌応答の増大)の生理的意義が明らかにされた。これらの研究成果は、消化管内分系に関する新たな学術的基盤の構築に大きく貢献すると期待される。

また、栄養素感受性の亢進(食後GLP-1分泌応答の増大)が、耐糖能異常に対して防御的にはたらくことを明らかにしたことは、これを効果的に活性化する食品成分や薬剤の開発を通じて、耐糖能異常の効果的な予防策が提案できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have previously demonstrated that continuous feeding of a high fat and high sucrose diet enhanced nutrient-induced GLP-1 secretion in rats. In this research project, we revealed that the high fat diet, rather than the high sucrose diet, has potent impact on enhancement of nutrient-induced GLP-1 secretion. In addition, the adaptive changes in nutrient-induced GLP-1 secretion was rapidly occurred in young rats than adult rats. Furthermore, by conducting continuous administration of GLP-1 receptor antagonist, we found that the increased GLP-1 response has a role to prevent from glucose intolerance during the development of diet-induced obesity.

研究分野：栄養生理学

キーワード：消化管ホルモン 食事誘導性肥満

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

消化管は、摂取した食物を消化吸収するだけでなく、流入して来た食品成分を感知してその後の各種生理応答、代謝を調節する。この働きの中核的役割を担うのが消化管内分泌細胞およびそれらから分泌される各種消化管ホルモンである(消化管内分泌系)。Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、インスリン分泌促進、膵細胞保護、食欲抑制、心保護作用など多様な生理作用を持つ消化管ホルモンで(1)、食後に管腔内のグルコース、脂肪酸、ペプチド、アミノ酸などにより分泌が促進され、インスリン分泌を増強することで過度の血糖上昇を抑制する。この生理作用を利用した GLP-1 受容体アゴニストや DPP-IV 阻害剤は、インクレチン関連薬として糖尿病治療において有効性が示され、近年広く導入されている。

耐糖能障害や糖尿病患者において、GLP-1 分泌の不足が報告されたが、その後、GLP-1 分泌不全は必ずしもこれら病態における共通の現象とは認められていない。申請者はこの点に着目し、食事誘導性の肥満、耐糖能異常の発症過程において食後 GLP-1 分泌がどのように変動するのか、についての研究に着手した。病態が成立したヒトやモデル動物ではなく、正常な状態から病態に至る過程での変動を解析することで、食事誘導性病態の発症メカニズム解明および新たな予防策の提案が可能になると期待される。

ラットに高脂肪高シヨ糖食を自由摂取させると、早期に耐糖能異常(空腹時血糖の上昇)が見られ、この際に普通食摂取後の食後 GLP-1 分泌応答が正常ラットに比べて高まること、即ち持続的な食事条件の変化が、消化管の栄養素感受性を変動させることを明らかにした。その際、小腸粘膜の脂肪酸受容体ならびに orphan 受容体の mRNA 発現上昇が見られたことから、これら受容体が栄養素感受性の亢進に関与することが示唆された。また、GLP-1 受容体アンタゴニストの持続投与試験により、肥満誘導食の持続摂取により増加した GLP-1 分泌応答は、食後高血糖を緩和する防御的なはたらきがあることが確認された。

一方で、水溶性食物繊維を添加した食事の持続的な摂取により、GLP-1 の産生が増加し、耐糖能が改善されることも見だし、上述の研究結果と併せ、内因性 GLP-1 の産生、分泌および、GLP-1 産生細胞の栄養素感受性の増進は、耐糖能異常の予防における有効なターゲットと言える。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、消化管での栄養素感受性がどのような条件でどのように変動するかを明らかにして、その意義ならびにメカニズムの解明をさらに進展させる必要がある。

本申請課題では、厳密な食事組成のコントロールや病態発症過程のモニタリングが可能な動物実験の利点を生かし、どのような食事成分、消化管受容体が、栄養素感受性の変動に関与するのかについての基盤を構築するとともに、その意義、分子メカニズム解明を目的とする。これにより、消化管栄養素感受性の人為的コントロールによる新たな肥満・耐糖能異常の予防戦略を提案する。

3. 研究の方法

< 実験 1 >

以前の試験において、耐糖能異常、肥満を強く誘導する高脂肪高シヨ糖食で見られた栄養素感受性(食後 GLP-1 分泌応答)の亢進が見られた。この作用は、高脂肪によるものか高シヨ糖によるものかを明らかにするため、初年度の試験においては、普通食、高脂肪高シヨ糖食、高脂肪食、高シヨ糖食をそれぞれ正常ラットに5週間自由摂取させた。

< 実験 2 >

平成29年度は、肥満誘導食の持続摂取による GLP-1 分泌応答の増進が、体重増加や耐糖能にどのように関与するかを検討するため、GLP-1 受容体アンタゴニストを投与する試験を実施した。GLP-1 受容体アンタゴニストまたは生理食塩水を充填した浸透圧ポンプをラットに皮下に埋め込み、これらのラットに肥満誘導食(高脂肪高シヨ糖食)を持続的(5週間)に自由摂取させた。

< 実験 3 >

平成30年度は、これまでの試験では比較的若齢(試験開始時5週齢)のラットを試験に用いていたが、平成30年度は、より週齢の進んだ成熟ラット(試験開始時10週齢)を用い、肥満誘導食摂取による GLP-1 分泌応答への影響を調べた。

5週齢(若齢)と10週齢(成熟)のSD系雄性ラットを、AIN-93G標準食を与えるControl群と高脂肪食とスクロース水を与えるHFS群に分け5週間自由摂食させた。2週間後と4週間後に食事負荷試験を行い、GLP-1 分泌応答を観察した。食事負荷試験では、一晚絶食下のラットに経腸栄養剤を経口投与し、食前および食後120分まで経時的に採血した。

4. 研究成果

<実験1>

その結果、試験2週後の食事負荷試験（普通食を10 g/kg 給餌）において、高脂肪高シヨ糖食群と同様に、高脂肪食群において、食事負荷後のインスリン分泌がコントロール群に比べて増加した。また、GLP-1 分泌応答もこの2群で増加した。一方、高シヨ糖食群ではコントロール群との違いは見られなかった。

試験4週後では、高シヨ糖食群でも高脂肪食群と同様に食後血糖、インスリン、GLP-1 分泌応答がコントロール群に比べて増加した。これらの結果より、食後インスリン分泌やGLP-1 分泌増加には、高シヨ糖よりも高脂肪が早期に影響を与えることが明らかとなった。

また、最終の体重、脂肪組織重量に関して、高脂肪食群では高脂肪高シヨ糖食群と同様にコントロール群に比べて有意に増加したが、高シヨ糖食群ではいずれも増加傾向が見られたのみであった。血中のコレステロール濃度も同様の変動となった。

さらに、腸管のGLP-1 産生も同様に高脂肪食が強く影響し、GLP-1 産生を増加させることが示された。以上により、高シヨ糖よりも高脂肪食が、肥満、脂肪蓄積、ならびに食後GLP-1 分泌応答の増進、消化管GLP-1 産生にも強く影響することが明らかとなった。

<実験2>

試験食摂取2週後の食事負荷試験において、高脂肪高シヨ糖食群は、コントロール食群に比べて高いGLP-1 分泌、インスリン分泌応答を示したが血糖応答はコントロール群との違いは見られず、前年の試験の再現性が得られた。高脂肪高シヨ糖食+GLP-1 受容体アンタゴニスト投与群では、高脂肪高シヨ糖食群と同様にコントロール食群に比べて高いGLP-1 分泌応答を示したが、インスリン分泌は増進しておらず、血糖応答はコントロール群に比べて増大した。試験食摂取4週後でも同様の結果となり、高脂肪高シヨ糖食の持続摂取により増大した食後GLP-1 分泌の影響をブロックすることで、耐糖能が悪化することが示された。一方で体重や脂肪重量に対して、GLP-1 受容体アンタゴニスト投与の影響はみられなかった。以上により、食事誘導性肥満の発症過程で食後GLP-1 分泌が増大することは、耐糖能異常の発症について防御的に働くことが示唆された。

<実験3>

2週後の食事負荷試験において、若齢ラットではHFS群で食事負荷に反応してGLP-1 が分泌されたが、Control群ではそれがみられなかった。4週後の食事負荷試験では、若齢ラット、成熟ラットとも、HFS群でControl群よりもGLP-1 が強く分泌される傾向にあった。以上より、肥満誘導食の持続的な摂取は、食事に対するGLP-1 分泌応答を高めるが、若齢ラットの方がその影響が速やかに観察されることが明らかとなった。

以上より、食事誘導性肥満の発症過程において、食事に対するGLP-1 分泌応答が高まることが確かめられ、それには持続的に摂取した脂肪の影響が大きいこと、GLP-1 分泌の増大は、食後高血糖の緩和という意味で防御的な意義をもつこと、さらに、若齢動物の方が食事誘導性肥満によるGLP-1 分泌増大が生じやすいことが明らかとなり、今後これらの作用機序解明の必要性が示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

1. Pinyo J, Hira T, Hara H. Continuous feeding of a combined high-fat and high-sucrose diet, rather than an individual high-fat or high-sucrose diet, rapidly enhances the glucagon-like peptide-1 secretory response to meal ingestion in diet-induced obese rats. *Nutrition*. 2019 Jun;62:122-130.
doi: 10.1016/j.nut.2019.01.004. 査読有り
2. Hira T, Yanagihara K, Koga T, Takahashi K, Nagura T, Uchino H, Hara H. Impact of difructose anhydride III, raffinose, and fructooligosaccharides on energy intake, gut hormones, and cecal fermentation in rats fed a high-fat and high-sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2017 Nov;81(11):2186-2194.
doi: 10.1080/09168451.2017.1373591. 査読有り

[学会発表](計9件)

1. Jukkrapong PINYO, Tohru HIRA, Hiroshi HARA 「Postprandial GLP-1 response in Wistar and Goto-Kakizaki rats during diet-induced obesity」Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group, Joint with the 39th Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity, 2018年
2. 比良 徹、原 博「難消化性糖質の消化管内分泌系への作用」第72回日本栄養・食糧学会大会シンポジウム(共催:Hindgut Club Japan)(招待講演), 2018年
3. 比良 徹「食品成分による消化管内分泌系のコントロール 主にGLP-1に関して」第98回北海道医学大会生理系分科会・日本生理学会北海道地方会(招待講演), 2018年
4. 柳原 くるみ、比良 徹、原 博「肥満誘導食摂取ラットにおける食事刺激に対するGLP-1

分泌応答の解析」日本栄養・食糧学会第71回大会，2017年

5. Jukkrapong Pinyo, Tohru Hira, Hiroshi Hara 「The role of endogenous GLP-1 against the development of glucose intolerance in rats fed a high fat and high sucrose diet」平成29年度日本農芸化学会北海道支部第1回講演会，2017年
6. 比良 徹 「GLP-1を増やす食品成分、食事条件」平成29年度 公益社団法人日本農芸化学会 北海道支部第2回講演会および公益社団法人日本栄養・食糧学会 第47回北海道支部大会合同大会，2017年
7. Jukkrapong PINYO, Tohru HIRA, Hiroshi HARA 「Impact of chronic high fat and/or high sucrose feeding on meal-induced GLP-1 secretion」日本農芸化学会 2017年度大会，2017年
8. 比良 徹、古賀 俊希、石井 伸一、佐々木 一代、原 博 「肥満誘導食摂取ラットにおけるカナグリフロジン経口投与に対するGLP-1分泌応答」第37回日本肥満学会，2016年
9. Jukkrapong Pinyo, Tohru Hira, Hiroshi Hara 「Effect of high fat and/or high sucrose diet on meal-induced GLP-1 secretion during the progression of diet induced obesity in rats」平成28年度日本農芸化学会北海道支部第2回講演会，2016年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：該当なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：該当なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。