

令和元年6月10日現在

機関番号：34507

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06856

研究課題名(和文)食品因子による特異的な脱SUMO化酵素の阻害を介した高血糖予防効果の解明

研究課題名(英文)Elucidation of preventive effect of food factors against hyperglycemia through inhibition of de-SUMO enzymes

研究代表者

吉岡 泰淳 (Yoshioka, Yasukiyo)

甲南女子大学・医療栄養学部・助教

研究者番号：80801513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵臓における食品因子の脱SUMO化を介した高血糖予防効果の検証を行った。マウス膵細胞由来細胞株MIN6およびマウスから単離した膵島を用いて、脱SUMO化酵素の発現を変化させる複数のメチルキサンチン類を見出した。さらに、脱SUMO化酵素の阻害剤として見出したvialinin A (VA)は、膵臓における酸化ストレスによるアポトーシスを抑制した。また、VAは、Nrf2の安定化を介して、抗酸化タンパク質であるHO-1の発現量を増加させる傾向が観察された。このことから、VAは、脱SUMO化酵素の酵素活性を阻害することで、抗酸化タンパク質の発現を上昇させ、アポトーシスを抑制していることが予想された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本では、食の欧米化やライフスタイルの変化により、生活習慣病の罹患者および予備軍が多く、この解消が急務である。その中でも、高血糖および糖尿病に対する抑制効果に関する研究は世界中で行われている。本研究において、膵臓において脱SUMO化酵素の発現を変化させる、もしくは膵臓のアポトーシスを抑制する食品因子を見出した。また、高血糖予防の新たな作用機序として、脱SUMO化酵素の発現量および酵素活性の変化を見出した。本研究の成果は、既存の高血糖予防効果と異なる作用機序であり、新たな機能性食品因子の発見につながる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：We examined the preventive effect of food factors against hyperglycemia related with de-SUMOylation in the pancreas. We found that some methylxanthines changed the expression of de-SUMOylation enzymes using the mouse pancreatic β -cell-derived cell line MIN6 and pancreatic islets isolated from mice. Furthermore, vialinin A (VA), which was found as an inhibitor of de-SUMOylation enzymes, suppressed apoptosis due to oxidative stress in the pancreas. In addition, VA increased the expression level of the antioxidant protein HO-1 through stabilization of Nrf2. From these results, it is predicted that VA inhibits the apoptosis in pancreas through the inhibition of de-SUMOylation enzymatic activity and increasing the expression of anti-oxidant protein.

研究分野：食品機能学

キーワード：脱SUMO化酵素 膵臓 インスリン

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

1. 研究開始当初の背景

2000年代、食の欧米化やライフスタイルの変化により、生活習慣病の罹患者および予備軍が増加した。近年では、健康への意識が高まっている影響もあり、その推移は横ばいになっている。しかしながら、生活習慣病を予防する食品因子の探索研究は盛んに行われており、その中でも、高血糖および糖尿病に対する抑制効果に関する研究は世界中で行われている。筋肉は、血糖調節の70%を担う器官であり、インスリンや運動により活性化され糖の取り込みを促進している。筋肉を標的とした高血糖予防効果の研究は、インスリン様作用もしくは、AMPK 活性化を誘導する化合物の探索がほとんどである。インスリンの血中濃度を上昇させることが高血糖予防に重要であることは周知の事実であるが、膵島からのインスリン分泌促進作用の報告は、現象論が多く、その作用機構はまだ明らかになっていない。

膵島からのインスリン分泌の一部は、膜タンパク質であるシナプトタグミン7により制御されている。シナプトタグミンは、細胞内カルシウムイオン濃度の上昇により活性化することが知られており、その1つに脱SUMO化がある。SUMO化は、ユビキチン化と類似した機構により起こり、可逆的なタグとしての役割を果たす。しかしながら、その基質の分子は、ポリSUMO化されても、ユビキチンとは異なり、プロテアソームにより分解されない。ヒトにおいて、4種類のSUMOが知られており、脱SUMO化酵素 (SENP) は6種類知られている。

2. 研究の目的

本研究では、膵臓からのインスリン分泌に着目し、脱SUMO化酵素の発現量の変化させる食品因子を探索と、その作用機序解明を行う。また、ストレス暴露によるアポトーシスへの脱SUMO化酵素の影響を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 培養細胞およびマウス膵島における脱SUMO化酵素の発現に影響を与える食品因子の探索を行う。マウス膵細胞由来細胞株 MIN6 およびマウス膵島に、候補化合物を処理し、24時間後のSENP1およびSENP2の発現量の変化を観察する。

(2) 培養細胞およびマウス膵島における酸化ストレスによるアポトーシスを抑制する食品因子の探索および作用機序解明を行う。マウス膵細胞株 MIN6 およびマウス膵島に候補化合物を処理し、過酸化水素による酸化ストレスを与え、細胞のアポトーシスおよび細胞内シグナルについて観察する。

4. 研究成果

(1) 膵臓における脱SUMO化酵素の発現量に影響を与える食品因子の探索を行った。その結果、複数のメチルキサンチン類に、脱SUMO化酵素の発現量を変化させる機能があることを見出した。食品因子の処理時間は、タンパク質の発現を考慮し、24時間とした。また、使用したマウス膵細胞由来細胞株 MIN6 およびマウス膵島は、培養液のグルコース濃度により影響を受けやすいことから、異なるグルコース濃度の培養条件で検討した。低グルコース濃度培養条件下において、テオフィリンの処理は、SENP1の発現量を有意に上昇させ、SENP2の発現量を上昇させた。一方で、カフェインの処理は、SENP1の発現量を減少させ、SENP2の発現量に影響は与えなかった。高グルコース濃度培養条件下において、テオプロミン処理は、SENP1の発現量を上昇させ、SENP2の発現量を有意に上昇させた。一方で、アデノシン処理は、SENP1の発現量を有意に減少させ、SENP2の発現量に影響を与えなかった。これらのことから、グルコース濃度の培養条件の違いが、食品因子の脱SUMO化酵素の発現に与える影響に差異が生じることが明らかとなった。インスリンの分泌については、培養液中のグルコース濃度に敏感に影響を受けるため、条件を決定することが難しかった。また、培養液中のグルコース濃度を変化させることによって、細胞が障害を受け、細胞死を誘発することが観察された。このことにより、実験結果が、細胞死の影響を大きく反映してしまい、インスリン分泌を正確に評価することが難しかった。

(2) 膵臓における酸化ストレスによるアポトーシスを抑制する食品因子の探索を行った。その結果、有効な食品因子として vialinin A を見出した。Vialinin A は、中国産食用キノコの一つであるツバイボタケに含有する抗炎症性物質であり、強力な脱SUMO化酵素の酵素活性を阻害することが報告されている。Vialinin A は、MIN6細胞において、過酸化水素に起因するアポトーシスを抑制した。また、24時間処理することにより、NF-E2-related factor 2 (Nrf2) の細胞内存在量を増加させ、抗酸化タンパク質 Heme Oxygenase-1 (HO-1) の発現量を増加させる傾向を示した。Nrf2 はSUMO化されることで安定化することが知られていることから、vialinin A は、脱SUMO化酵素の酵素活性を阻害することでNrf2を安定化させ、抗酸化タンパク質HO-1の発現上昇を介してアポトーシスを抑制していることが予想された。このことから、膵臓における脱SUMO化酵素の阻害は、アポトーシスの抑制につながり、高血糖の予防に寄与することが予想される。

当初の研究目的であったインスリンの分泌機構における脱SUMO化酵素の機能の解明は、使用予定であった試薬の販売停止などにより継続が困難となった。そこで、食品因子による脱SUMO

化酵素の阻害を介した酸化ストレスに起因するアポトーシスの抑制を検討した。本研究により、膵臓における食品因子 vialinin A の脱 SUMO 化酵素の阻害を介したアポトーシスの抑制機序の一端が解明された。このことから、脱 SUMO 化酵素を標的とした高血糖予防効果の 1 つとして膵臓のアポトーシス抑制が証明され、今後継続して、詳細な作用機序解明を行う予定である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

- (1) Mitani, T., Watanabe, S., Yoshioka, Y., Katayama, S., Nakamura, S., Ashida, H.: Theobromine suppresses adipogenesis through enhancement of CCAAT-enhancer-binding protein degradation by adenosine receptor A1. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 査読有, 1864, 2017 年, 2438-2448.
- (2) Maeda, A., Shirao, T., Shirasaya, D., Yoshioka, Y., Yamashita, Y., Akagawa, M., Ashida, H.: Piperine Promotes Glucose Uptake through ROS-Dependent Activation of the CAMKK/AMPK Signaling Pathway in Skeletal Muscle. *Mol Nutr Food Res*, 査読有, 62, 2018 年, e1800086.
- (3) Yoshioka, Y., Yamashita, Y., Kishida, H., Nakagawa, K., Ashida, H.: Licorice flavonoid oil enhances muscle mass in KK-Ay mice. *Life Sci*, 査読有, 205, 2018 年, 91-96.
- (4) Yamashita, Y., Kishida, H., Nakagawa, K., Yoshioka, Y., Ashida, H.: Liquorice flavonoid oil suppresses hyperglycaemia accompanied by skeletal muscle myocellular GLUT4 recruitment to the plasma membrane in KK-Ay mice. *Int J Food Sci Nutr*, 査読有, 70, 2018 年, 294-302.
- (5) Kawabata, K., Yoshioka, Y., Terao, J.: Role of Intestinal Microbiota in the Bioavailability and Physiological Functions of Dietary Polyphenols. *Molecules*, 査読有, 24, 2019 年, E370.
- (6) Takagaki, A., Yoshioka, Y., Yamashita, Y., Nagano, T., Ikeda, M., Hara-Terawaki, A., Seto, R., Ashida, H.: Effects of Microbial Metabolites of (-)-Epigallocatechin Gallate on Glucose Uptake in L6 Skeletal Muscle Cell and Glucose Tolerance in ICR Mice. *Biol Pharm Bull*, 査読有, 42, 2019 年, 212-221.
- (7) Yoshioka, Y., Kubota, Y., Samukawa, Y., Yamashita, Y., Ashida, H.: Glabridin inhibits dexamethasone-induced muscle atrophy. *Arch Biochem Biophys*, 査読有, 664, 2019 年, 157-166.

〔学会発表〕(計 6 件)

- (1) Yoshioka, Y., Li, X., Yamashita, Y., Ashida, H.: Black soybean seed coat polyphenols prevent fibrosis in the liver of mice via suppression of lipid peroxidation and inhibition of TGF- β /Smads signaling pathway. 8th International Conference on Polyphenols and Health (ICPH2017) (Canada)
- (2) Yoshioka, Y., Furuyashiki, T., Ashida, H.: Enzymatically-synthesized glycogen inhibits inflammatory response in antigen-induced basophilic and mast cells. IUNS 21st International Congress of Nutrition (IUNS 21st ICN) (Argentina)
- (3) Yoshioka, Y., Furuyashiki, T., Ashida, H.: Enzymatically Synthesized Glycogen Suppresses Antigen-induced Allergic and Inflammatory Responses in Basophilic Cells. The 10th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods (ISNFF2017) (Republic of Korea)
- (4) 吉岡泰淳, 井上雅子, 古屋敷隆, 芦田均: バイオグリコーゲンの I 型アレルギー抑制効果. 第 22 回日本フードファクター学会学術集会(日本大学)
- (5) 吉岡泰淳, 井上雅子, 古屋敷隆, 芦田均: 酵素合成グリコーゲンは RBL-2H3 細胞における脱顆粒および炎症性サイトカイン産生を抑制する. 日本農芸化学会 2018 年度大会, 名城大学, 3 月 15 日-18 日 2B05p18.
- (6) 吉岡泰淳, 久保田 祐介, 芦田 均: 甘草由来グラブリジンの筋萎縮抑制効果. 第 72 回日本栄養・食糧学会, 岡山県立大学, 5 月 11 日-13 日 p.219.

〔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：
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：
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。