

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007 ~ 2009

課題番号：19380072

研究課題名（和文）ファイトケミカルズによる生活習慣病の制御

研究課題名（英文）Regulation of life style-related diseases by phytochemicals

研究代表者

矢ヶ崎 一三 (YAGASAKI KAZUMI)

東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・教授

研究者番号：20166474

研究成果の概要（和文）：生活習慣病の 1 つであり、メタボリックシンドロームの構成疾患でもある 2 型糖尿病は世界的に増加しつつある。その主徴は高血糖であるのでそれを防ぐ可能性を持つ食品成分を筋肉細胞と膵臓細胞の培養系で探索した。見出されたいくつかの成分（大豆中のイソフラボン、ブドウ中のスチルベノイドなど）を 2 型糖尿病モデルマウスに投与し、生体レベルでも血糖上昇を抑制し、耐糖能異常を改善することを見出した。さらに、作用機構についても解明した。

研究成果の概要（英文）：Type 2 diabetes, one of life style-related diseases and a member of metabolic syndrome, is increasing worldwide. Its main symptom is high blood glucose value. By constructing in vitro assay systems using cultured muscle cells and pancreatic  $\beta$ -cells, we have screened food components that have potentiality to stimulate glucose consumption and/or insulin secretion. Some food components such as soy isoflavones and grape stilbenoids were found to suppress increases in blood glucose levels and to improve impaired glucose tolerance in type 2 diabetic model mice. Modes of actions of these food components were clarified mainly at cellular levels.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2008 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2009 年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

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：食品機能学、生活習慣病、糖尿病、ポリフェノール

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の例として、肥満症、糖尿病、高脂血症（脂質異常症）、高血圧症、癌そして歯周病などが上げられている。このうち、

肥満症、糖尿病、高脂血症、高血圧症は同一個人に重複して合併することが多く、この病態はメタボリックシンドロームと呼ばれるようになり世界的に注目されるようになって

てきた。このうち糖尿病は平成の国民病とも言われるようになり、日本はもちろん世界的にも増加の一途をたどっていた。日本人の糖尿病のほとんどが2型糖尿病であり、高脂血症を呈するとともに、三大合併症とされる糖尿病性腎症、網膜症、神経障害を伴う。このうち、前二者は新規血液透析導入の原因疾患および途中失明の原因疾患の第一位となっていた。薬品と異なり、食品は予防に適している。したがって、高血糖を予防する食品成分や食品が待望されていた。

## 2. 研究の目的

糖尿病の主徴は高血糖（グルコース）であり、糖毒性の根源となっている。したがって、早期から高血糖を防止することが糖尿病予防と三大合併症防止の最善策と考えられる。高血糖の防止策には、大別して(1) グルコースが消化管から吸収される段階を阻止する方法と、(2) グルコースが血液に入った後にインスリン分泌を刺激し糖利用組織へのグルコース取り込みを促進する、あるいはインスリンとは独立に筋肉など糖利用組織へのグルコース取り込み（＝グルコース消費）を促進する方法が考えられる。本研究では(2)の観点から食品成分を探索し、有効性と作用機構を解析することを目的とした。

## 3. 研究の方法

すでに我々によって構築されている細胞培養系を用いた機能検定系（Kawano et al., *Phytomedicine*, 16 (2009) 437-443.）により候補食品成分を探索した。すなわち、臓細胞から樹立されたRIN-5F細胞からのインスリン分泌能検定系と骨格筋由来のL6筋管細胞によるグルコース取り込み能検定系を用いて、インスリン分泌促進作用およびグルコース取り込み促進作用を有する食品成分を探索した。次に見出された食品成分を2型糖尿病モデルマウスへ投与し、生体レベルでも血糖上昇を抑制し、耐糖能異常を改善することを確認した。効果が確認できた食品成分については、さらに作用機構についても主に細胞レベルで解明を進めた。

## 4. 研究成果

### (1)大豆イソフラボンの抗糖尿病作用

#### 細胞培養系における作用

大豆イソフラボンについては、ゲニステイン、ダイゼインおよびダイゼインの腸内細菌代謝物であるエクオールについて検討した。その結果、3種のイソフラボンはいずれも筋管細胞によるグルコース取り込みを促進した（図1にゲニステインの例を示した）。一方、ゲニステインのみがインスリン分泌を促進した。

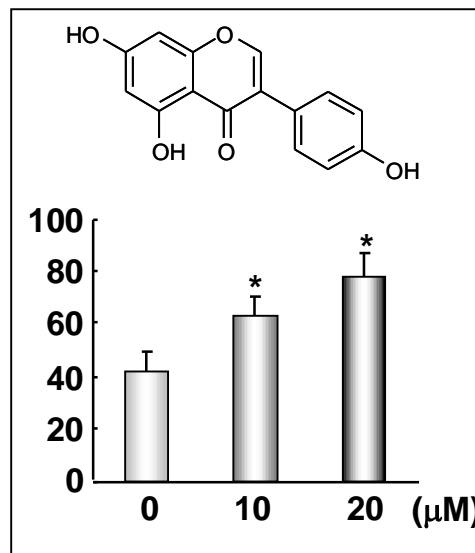


図1 筋管細胞におけるゲニステインのグルコース取り込み促進効果 \*はコントロール群（左端）に対して統計学的に有意差のあることを示している。

### 2型糖尿病モデルマウスにおける作用

そこで、2型糖尿病モデルであるKK-*A<sup>y</sup>*マウスにゲニステイン(0.1%)、ダイゼイン(0.1%)あるいはエクオール(0.01%)を含む標準20%カゼイン食を摂取させ血糖値上昇に対する影響を、標準食のみを同様に摂取させた糖尿病対照マウスと比較検討した。標準食を摂取させた正常マウス群も設けた。その結果、いずれのイソフラボンも血糖値上昇を抑制した。エクオールがダイゼインの10分の1の投与量で血糖上昇を抑制するという結果は、注目すべき知見である。さらに、ゲニステインとダイゼインは尿へのグルコース排泄も抑制した。そこで代表イソフラボンとしてゲニステインの作用機構を解明した。ゲニステインは筋管細胞におけるグルコース取り込みを促進するが、AMPK阻害剤はこの促進作用を消去したことから、ゲニステインの作用はAMPKの活性化(＝リン酸化)を介することが示唆されたのでさらに検討したところ、AMPKリン酸化の促進が明らかとなった。さらに、グルコース輸送体GLUT4が筋管細胞の細胞膜へ移動することが明らかとなった。

### (2)スチルベノイドの抗糖尿病作用

ブドウやワインにはスチルベノイドとして分類されるポリフェノールのレスベラトロールおよびピセアタンノールが含まれている。

#### レスベラトロールの作用

レスベラトロールは培養細胞機能検定において筋管細胞によるグルコース取り込みを用量依存的に促進した。そこで2型糖尿病

モデルである db/db マウスへ投与したところ、血糖値の上昇を抑制するとともに、血清のトリグリセリドや過酸化脂質の上昇を有意に抑制した。さらに、レスベラトロールは AMPK を活性化し、グルコース輸送体 GLUT4 の細胞膜への移行を促進することが明らかとなった (図 2)。

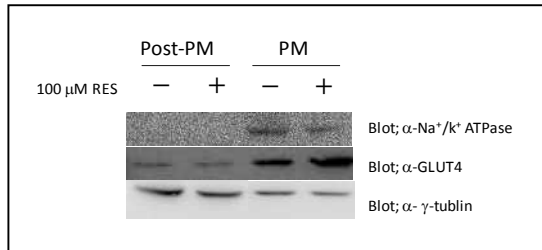


図 2 細胞膜 (PM) への GLUT4 移行を示す

血糖値が常時高いと生体内で糖化したタンパク質 (AGEs という) が形成され、これが毒性を発現する。膵臓β細胞に AGEs を作用させると、活性酸素種 (ROS) が出現し、さらにアポトーシス (予定死) を引き起こすことを見出した。そしてレスベラトロールは AGEs による酸化ストレスとアポトーシスを防ぎ、膵臓β細胞を守る働きのあることが分かった (図 3 に AGE1 と AGE 2 によって上昇する ROS をレスベラトロールが抑制している様子を示した)。

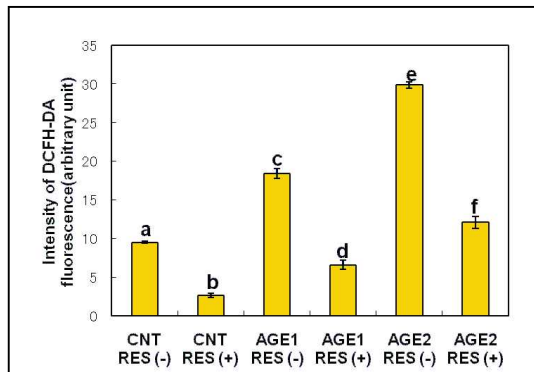


図 3 人工合成した AGE1 と AGE 2 処理によって膵臓β細胞内で上昇する ROS をレスベラトロール (RES) が抑える様子を示した。CNT は何もしない状態の細胞 (コントロール) を意味している。RES 単独でも細胞内 ROS を捕捉していることがわかる。図中、アルファベット異なる数値間では統計学的に有意差のあることを示している。

## ②ピセアタンノールの作用

レスベラトロールより水酸基の 1 つ多いピセアタンノールも筋管細胞によるグルコース取り込みを用量依存的に促進した。そこで 2 型糖尿病モデルである db/db マウスへ投与したところ、血糖値の早期の上昇を抑制するとともに、耐糖能異常 (図 4) を改善すること

が明らかとなった。ピセアタンノールの詳細な作用機構の解明は今後の課題である。

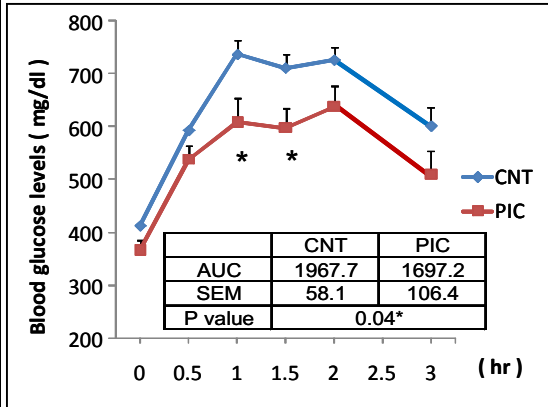


図 4 糖尿病モデル db/db マウスにおけるピセアタンノール (PIC) の耐糖能異常改善効果。グルコース負荷 60 分後と 90 分後で有意な低下を示した。また濃度下面積 (AUC) も PIC で有意に低下していることがわかる。

## (3) コーヒー成分の作用

①コーヒーにはカフェインをはじめとして数多くの成分が含まれている。その中で、トリゴネリンはコーヒー中にかなりの量で含まれているが、あまり研究がなされてこなかった。本成分はインスリン分泌を促進することが見出され、db/db マウスで血糖上昇抑制的に作用することが見出された。コーヒー飲用は 2 型糖尿病発症を抑制するというヨーロッパでの疫学データの報告があるが、トリゴネリンも関与しているかも知れない。そのほかのコーヒー成分 (クロロゲン酸など) もグルコース取り込みとインスリン分泌促進作用を示すものもあることを見出しているが、詳細については今後の検討課題である。

糖尿病は、日本や経済発展の著しい中国、インドを含め世界規模で増加している。その数は自動車の数の増加と比例しているという。したがって、予防しないと益々医療費負担が重くのしかかり、医療財政の破綻をきたすことが危惧される。本研究の成果を発展させ、健全な少子高齢社会の構築へ少しでも役立つことを祈念している。

## 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)

[雑誌論文] (計 1 件)

①矢ヶ崎一三、病態モデルによる食品因子の作用に関する栄養学的・食理学的研究、日本

栄養・食糧学会誌、査読有、62 巻、2009、61  
- 74

〔学会発表〕(計 18 件)

森田淳一ほか、糖代謝に対するコーヒー成分の作用、日本農芸化学会 2010 年度大会、2010 年 3 月 29 日、東京大学(駒場)

Kazumi Yagasaki, Nutrients and non-nutrients that regulate life style-related diseases, 4<sup>th</sup> Nutrition Industry Forum, 2009.12.8, Beijing, P. R. China

Kazumi Yagasaki, Bromacology: Pharmacological aspects of nutrients and non-nutrients, International Symposium and Annual Meeting of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 2009.11.6, Changwon T & E Center, Gyeongnam, Korea  
Miki Minakawa et al., Anti-diabetic action of resveratrol in vitro and in vivo, 19<sup>th</sup> International Congress of Nutrition, 2009.10.7, BITEK, Bangkok, Thailand

皆川 身記ほか、Resveratrol (RES) による糖代謝促進作用機構、日本栄養・食糧学会関東支部シンポジウム、2009 年 9 月 19 日、日本大学(藤沢)

皆川 身記ほか、レスベラトロールによる血糖値抑制作用および作用機構、日本栄養・食糧学会第 63 回大会、2009 年 5 月 22 日、長崎ブリックホール

長岡 真聡ほか、細胞培養系および 2 型糖尿病モデルマウスにおける大豆イソフラボンの作用、日本農芸化学会 2009 年度大会、2009 年 3 月 29 日、福岡国際会議場

Miki Minakawa et al., Hypoglycemic action of resveratrol in vitro and in vivo, 21<sup>st</sup> International and Annual Meeting of the Japanese Association of Animal Cell Technology, 2008.11.27, Fukuoka International Congress Center

Masato Nagaoka et al., Anti-diabetic functions of genistein, daidzein and equol in vitro and in vivo, 21<sup>st</sup> International and Annual Meeting of the Japanese Association of Animal Cell Technology, 2008.11.26, Fukuoka International Congress Center

Masato Nagaoka et al., Effects of daidzein and equol on glucose uptake by cultured myotubes and on blood glucose in KK-A<sup>y</sup>/Ta mice, 24<sup>th</sup> International Conference on Polyphenols, 2008.7.8, University of Salamanca, Salamanca, Spain

〔図書〕(計 1 件)

矢ヶ崎一三、学会出版センター、種子の科学とバイオテクノロジー(「コーヒーとその成分の食理機能」)、2009、283 - 290

〔その他〕  
ホームページ等

<http://kenkyu-web.tuat.ac.jp/Profiles/2/0000169/profile.html>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

矢ヶ崎 一三 (YAGASAKI KAZUMI)  
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・教授  
研究者番号 : 20166474

(2) 研究分担者

三浦 豊 (MIURA YUTAKA)  
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授  
研究者番号 : 10219595  
(2007 年度)

(3) 連携研究者

三浦 豊 (MIURA YUTAKA)  
東京農工大学・大学院共生科学技術研究院・准教授  
研究者番号 : 10219595  
(2008 - 2009 年度)