

令和 5 年 6 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：2019～2022

課題番号：19K05860

研究課題名(和文) 食事誘導性肥満におけるGLP-1分泌増大機構の解明

研究課題名(英文) Mechanisms underlying enhanced GLP-1 response in diet-induced obesity

研究代表者

比良 徹(Hira, Tohru)

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：10396301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：食事誘導性肥満モデルにおいて食事応答性GLP-1分泌が増大することを見出したが、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。遺伝的糖尿病モデルに肥満誘導食を長期間与えてもGLP-1分泌の適応的増大は見られず、このことが病態発症に関与することが示唆された。GLP-1分泌の適応的増大は、小腸下部で生じていること、炭水化物、脂質、タンパク質いずれに対してもGLP-1分泌応答が増大することが示された。小腸粘膜のGLP-1含量、GLP-1産生細胞数に差異はなかったことから、GLP-1分泌の適応的増大はGLP-1産生細胞における栄養素感受性の亢進による可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消化管において栄養素を感知して、消化管ホルモンを分泌することで食後の生理応答をコントロールする消化管内分泌系を理解することは、食事を利用して生体応答をコントロールできる技術開発に資する。また、病態における消化管内分泌系の関与を理解し、その分子メカニズムを知ることは、病態の予防、改善に貢献できる。本研究では血糖値や食欲をコントロールする消化管ホルモンであるGLP-1の分泌機構の食環境への適応機構の一端を明らかにすることで、学術的・社会的貢献を目指した。

研究成果の概要(英文)：We discovered an increased meal-induced GLP-1 secretion in a diet-induced obesity model rats. We aimed to elucidate the underlying mechanism. In a genetically diabetic model, long-term administration of an obesity-inducing diet did not induce an adaptive increase in GLP-1 secretion. The adaptive increase in GLP-1 secretion occurred in the distal small intestine, and an increased GLP-1 secretion response was observed for carbohydrates, lipids, and proteins. Since there were no differences in GLP-1 content or the number of GLP-1-producing cells in the small intestinal mucosa, it was hypothesized that the adaptive increase in GLP-1 secretion may be attributed to enhanced nutrient sensitivity in GLP-1-producing cells.

研究分野：栄養生理学

キーワード：消化管内分泌系 GLP-1 食事誘導性肥満

## 1. 研究開始当初の背景

消化管ホルモン Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、消化管上皮に散在する消化管内分泌細胞 (L 細胞) にて産生され、食後に分泌が亢進する。分泌された GLP-1 は血流や迷走神経を介して膵臓細胞からのインスリン分泌を増強する (インクレチン作用)。その結果として、食後血糖上昇が緩和される。この血糖上昇抑制作用を利用した GLP-1 関連薬剤は、有効性の高い薬剤として糖尿病治療に近年広く用いられている。

GLP-1 発見後初期の臨床研究において、耐糖能不全者・糖尿病患者において、GLP-1 分泌応答が減弱していることが報告され、このことが病態発症に関与することが考えられた。一方で近年のメタアナリシスや総説では、GLP-1 分泌不全は一部で見られるものの、耐糖能異常における共通した表現系ではない、と報告されている。

申請者の動物試験では、上述のヒト試験やいくつかの動物試験とは異なり、食事誘導性肥満の発症過程において、GLP-1 分泌応答が増大することを観察し、その再現性も確認された。この場合の「GLP-1 の分泌が増大する」とは、普通食で飼育したラットでも栄養素、普通食、液体食などの負荷 (経口投与) により GLP-1 の分泌応答が見られるが、肥満誘導食で飼育したラットでは、同じ組成の普通食や液体食を投与した際の GLP-1 分泌応答が、正常ラットに比べて高いことを示す。このことから、GLP-1 分泌増大が病態の進行に寄与することも考えられたが、GLP-1 受容体を持続的に阻害することによって、肥満誘導食摂取から早期において食後血糖が高まったことから、GLP-1 の分泌増大は耐糖能異常に対して防御的な役割を持つことが考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究では、肥満の発症過程における GLP-1 分泌増大 [1] のメカニズムを明らかにすることを目的とした。GLP-1 をはじめとする消化管内分泌系は、食後の生理応答を中心として多様な全身機能の調節に関わるが、食事条件や病態においてどのように変動、適応するかはほとんど分かっていない。

本研究では、上述の目的を達成するため、以下のような課題を設定した。

- 【1】 GLP-1 の分泌増大は、遺伝的病態モデルでも生じるのか？
- 【2】 「食事」に対する GLP-1 応答増大において、栄養素特異性はあるのか？
- 【3】 消化管のどの部位で、何 (GLP-1 産生細胞数、遺伝子発現) が変動したことによるものか？

## 3. 研究の方法

### 実験 1)

遺伝的糖尿病モデルラット (Goto-Kakizaki ラット) と正常ラットそれぞれに、普通食または高脂肪高シヨ糖食を長期間 (6 ヶ月) 摂取させ、2 または 4 週おきに食事負荷試験を実施した。食事負荷試験の際は、全ての群において腸栄養剤を一定量経口投与した。また、解剖時に消化管粘膜を採取し、各種栄養素受容体の mRNA 発現レベルを比較した。

### 実験 2)

食事誘導性肥満において、どの栄養素に対する GLP-1 分泌応答が増大するのかを検討した。5 週齢の 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 週間自由摂取させた。2 週後と 4 週後に栄養素負荷試験を実施し、GLP-1 分泌応答を観察した。栄養素負荷試験では、糖質 (デキストリン)、もしくは脂質 (イントラリポス) を経口投与し、投与前および、投与後後 120 分まで経時的に採血した。

### 実験 3)

食事誘導性肥満ラットにおいて、正常ラットに比べて増大する食後 GLP-1 応答が、小腸の上部と下部のどちらの寄与が大きいのかを調べることを目的とした試験を実施した。Sprague Dawley 系雄性ラット 5 週齢に、普通食 (コントロール群) または、高脂肪食とスクロース水 (肥満群) を 5 週間自由摂取させた。麻酔下にて採血用のカテーテルを門脈に留置し、十二指腸内または回腸内に液体食 (経腸栄養剤エンシュア H) を投与した。投与前後の門脈血を経時的に採取し、血漿中の GLP-1 濃度を測定した。また、腸組織を採取し、部位別の GLP-1 含量を測定した。

## 4. 研究成果

### 実験 1)

糖尿病モデルラットと正常ラットともに、高脂肪高シヨ糖食の長期摂取により耐糖能不全が生じたが、その程度は糖尿病モデルラットの方が顕著であった。食後 GLP-1 分泌は、正常ラットでは高脂肪高シヨ糖食の持続摂取により増大し、その増大は実験終了時 (6 ヶ月後) まで維持された。一方で糖尿病モデルラットではそのような増大は見られなかった。このことから、正常なラットでは長期間の肥満誘導食の持続摂取でも食後 GLP-1 分泌応答は増大す

ること、そのような適応は遺伝的糖尿病モデルでは生じないことが明らかとなった。食事誘導性肥満における GLP-1 分泌の増大は、耐糖能の悪化に対して防御的な適応と考えられ、このような適応機構の欠如が糖尿病へと進展する要因の一つであると考えられた[2]。

消化管ではどのような違いがあるのかを調べるため、肥満誘導食を長期間摂取させた正常ラットならびに遺伝的糖尿病モデルラット(Goto-Kakizaki ラット)において、栄養素感知に関わる各種遺伝子の発現レベルを定量 PCR により測定した。その結果、正常ラットに比べて遺伝的糖尿病モデルラットの消化管において、脂肪酸受容体の一つの発現レベルが低いことが見出された。このことから、この脂肪酸受容体が、食事誘導性肥満における GLP-1 分泌応答増大に寄与することが示唆された。

#### 実験 2 )

デキストリンに対する GLP-1 応答について、2 週後の試験では Control 群に比べて HFS 群で低く、4 週後では Control 群よりも HFS 群で高かった。イントラリポスに対する GLP-1 応答は、2 週後、4 週後ともに Control 群よりも HFS 群で高い傾向にあった。以上より、高脂肪食+スクロース水の摂取によって、2 週間という早い段階で脂質に対する GLP-1 応答が高まり、4 週間では糖質に対しても GLP-1 への応答が高まることが示された。

#### 実験 3 )

GLP-1 分泌応答は、コントロール群、肥満群ともに上部に比べて下部の方が大きく、L 細胞が小腸下部に多く存在するためと考えられた。上部投与では、肥満群の方がコントロール群よりも GLP-1 分泌応答は低かったが、下部投与では投与後 15 分から肥満群の方がコントロール群よりも高い応答を示した。一方で、小腸上部、下部の組織中 GLP-1 含量は、コントロール群と肥満群の間に差は見られなかった。

これらの結果から、食事誘導性肥満における GLP-1 分泌応答の増大には小腸下部の寄与が大きいことが、それには組織中 GLP-1 含量は関与しないことが示唆された。

#### < 引用文献 >

Hira T, Pinyo J, Hara H. What Is GLP-1 Really Doing in Obesity? Trends Endocrinol Metab. 2020 Feb;31(2):71-80. doi: 10.1016/j.tem.2019.09.003.

Pinyo J, Hara H, Hira T. Diet-induced obesity enhances postprandial glucagon-like peptide-1 secretion in Wistar rats, but not in diabetic Goto-Kakizaki rats. Br J Nutr. 2021 Aug 28;126(4):518-530. doi: 10.1017/S000711452000433X.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 HIRA Tohru	4. 巻 68
2. 論文標題 Enteroendocrine Systems That Sense Nutrients in the Gut and Control the Body	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 S5 ~ S7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.68.S5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hira Tohru, Trakooncharoenvit Aphichat, Taguchi Hayate, Hara Hiroshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Improvement of Glucose Tolerance by Food Factors Having Glucagon-Like Peptide-1 Releasing Activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6623 ~ 6623
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22126623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hira Tohru, Sekishita Madoka, Hara Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Blood Sampling From Rat Ileal Mesenteric Vein Revealed a Major Role of Dietary Protein in Meal-Induced GLP-1 Response	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fendo.2021.689685	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Igarashi Akiho, Ogasawara Shono, Takagi Ryo, Okada Kazufumi, Ito Yoichi M, Hara Hiroshi, Hira Tohru	4. 巻 151
2. 論文標題 Acute Oral Calcium Suppresses Food Intake Through Enhanced Peptide-YY Secretion Mediated by the Calcium-Sensing Receptor in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 1320 ~ 1328
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jn/nxab013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Pinyo Jukkrapong, Hara Hiroshi, Hira Tohru	4. 巻 -
2. 論文標題 Diet-induced obesity enhances postprandial glucagon-like peptide-1 secretion in Wistar rats, but not in diabetic Goto-Kakizaki rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 1~13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S000711452000433X	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Yuki, Hara Hiroshi, Hira Tohru	4. 巻 125
2. 論文標題 Glucagon-like peptide-1 response to whey protein is less diminished by dipeptidyl peptidase-4 in comparison with responses to dextrin, a lipid and casein in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 398~407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S0007114520002834	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okumura Motoshi, Hamada Akihiro, Ohsaka Fumina, Tsuruta Takeshi, Hira Tohru, Sonoyama Kei	4. 巻 472
2. 論文標題 Expression of serotonin receptor HTR4 in glucagon-like peptide-1-positive enteroendocrine cells of the murine intestine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pflugers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1521~1532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-020-02453-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Pinyo Jukkrapong, Hira Tohru, Hara Hiroshi	4. 巻 122
2. 論文標題 Enhanced postprandial glucagon-like peptide-1 secretion during obesity development has a protective role against glucose intolerance induction in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 British Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 411~422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S0007114519001223	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hira Tohru, Pinyo Jukkrapong, Hara Hiroshi	4. 巻 31
2. 論文標題 What Is GLP-1 Really Doing in Obesity?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trends in Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 71～80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tem.2019.09.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Tohru Hira
2. 発表標題 Adaptive changes in nutrient-induced GLP-1 secretion in diet-induced obese model rats
3. 学会等名 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutritio (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rino Kimura, Anri Sano, Tohru Hira
2. 発表標題 Acute and chronic administration of alpha-linolenic acid respectively potentiates nutrient-induced GLP-1 secretion in rats
3. 学会等名 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutritio (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村梨乃, 佐野杏莉, 比良徹
2. 発表標題 ラットにおけるえごま油長期摂食による食 13:52 事刺激に対する GLP- 1分泌への影響
3. 学会等名 第 76 回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村梨乃, 佐野杏莉, 比良徹
2. 発表標題 ラットにおけるえごま油長期摂取は、食事刺激に対するGLP-1分泌応答および持続性を高める
3. 学会等名 令和3年度日本栄養・食糧学会 東北支部(第55回大会)・北海道支部(第51回大会)合同支部大会およびシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐野 杏莉、比良 徹
2. 発表標題 食事誘導性肥満ラットにおける消化管部位別のGLP-1分泌応答と組織解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 比良 徹
2. 発表標題 消化管内分泌系への作用を介する糖代謝改善ペプチド
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村井 佳奈、比良 徹
2. 発表標題 ラットにおける大豆タンパク質経口投与時のGLP-1分泌応答と血中DPP-4活性の低下
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第14回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 夏織, 比良 徹
2. 発表標題 ラットにおける伸展刺激負荷による GLP-1 分泌応答の解析
3. 学会等名 2020年度 日本農芸化学会北海道支部 / 第50回 日本栄養・食糧学会北海道支部 合同学術講演会 優秀発表賞 / 若手奨励賞
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jukkrapong PINYO, Tohru HIRA, Hiroshi HARA
2. 発表標題 Postprandial GLP-1 response was enhanced in non-diabetic rats, but not in diabetic rats during obesity development
3. 学会等名 International Diabetes Federation 2019 (IDF 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 里実, 原 博, 比良 徹
2. 発表標題 肥満誘導食摂取ラットにおけるたんぱく質投与に対するインクレチン分泌の変化
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第13回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野 杏莉, 比良 徹
2. 発表標題 食事誘導性肥満ラットにおける小腸上部と下部での GLP-1 分泌応答の違い
3. 学会等名 第5回北海道大学部局横断シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野 杏莉、比良 徹
2. 発表標題 食事誘導性肥満ラットにおけるGLP-1の分泌応答と小腸上部および下部での違い
3. 学会等名 日本農芸化学会 北海道支部第2回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野 杏莉、比良 徹
2. 発表標題 食事誘導性肥満ラットにおけるGLP-1分泌応答の増強には回腸部が寄与する
3. 学会等名 日本農芸化学会 2020年度大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関