

令和元年6月6日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07424

研究課題名(和文) 果菜ファイトケミカルの糖尿病およびインスリン抵抗性に対する作用解析

研究課題名(英文) Studies on phytochemicals in fruits and vegetables on diabetes and insulin resistance

研究代表者

矢ヶ崎 一三 (YAGASAKI, Kazumi)

宇都宮大学・バイオサイエンス教育研究センター・特任教授

研究者番号：20166474

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)：培養筋細胞を用いてグルコース取り込みを促進する果菜由来植物化学物質(ファイトケミカル)を探索し、グルコース輸送体4の細胞膜移行促進も確認できた3種の物質を2型糖尿病(T2D)モデルマウスへ経口投与し、これらが血糖上昇抑制、耐糖能異常改善などの作用を有すること、ある種のT2Dモデルマウスでは高尿酸血症も発症し血中尿酸濃度とインスリン抵抗性が正相関すること、上記物質の一つがこれを改善すること、ある種の果菜由来植物化学物質は別途構築したプリン体誘導性高尿酸血症モデルマウスにおいてその発症を抑制することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2型糖尿病は世界的に増加しており、合併症も含め社会経済負担増大が懸念される。糖尿病でもないが正常でもない「未病」の状態を、本当の糖尿病にしないことが望まれる。本研究では、果菜由来の植物化学物質(ファイトケミカル)に着目してこの点の解析を試みた。筋肉は体の中で最大の組織であり、血中からのグルコース取り込み(GU)を促進して食後血糖値上昇の正常化に大きく寄与する。培養筋細胞で作用機構を含めて検討したところ複数の成分が筋肉細胞でGUを促進し、2型糖尿病モデルマウスでの血糖値上昇や耐糖能異常改善作用、高尿酸血症を改善しつつインスリン抵抗性を弱める作用等が見出され、今後の学術的・社会的意義が期待される。

研究成果の概要(英文)：The number of patients with diabetes, especially type 2 diabetes (T2D), is increasing worldwide, and the increase in socioeconomic burden of diabetes will be inevitable. In the present study, we have tried to search edible phytochemicals that possess potentials to prevent the increase in postprandial blood glucose levels. The muscle is the largest tissue in our body and plays an important role in glucose homeostasis. Thus, adopting cultured L6 myotubes, we have contrived a simple and rapid glucose uptake assay system. Several phytochemicals were found to promote glucose uptake through glucose transporter 4 (GLUT4) translocation to plasma membrane of muscle cells via activation of AMPK and/or Akt signaling pathway(s). They also suppressed hyperglycemia and improved glucose intolerance in T2D model mice. Some kinds of phytochemicals suppressed insulin resistance as well as hyperuricemia and hyperglycemia, suggesting that phytochemicals seem to be preventive and/or remedial for T2D.

研究分野：食品科学

キーワード：2型糖尿病 グルコース輸送体 インスリン抵抗性 耐糖能 高尿酸血症 GLUT4 AMPK Akt

1. 研究開始当初の背景

糖尿病とくに2型糖尿病は世界的に増加しており、合併症も含めさらなる社会経済的負担の増大が懸念されていた。国際糖尿病連合(IDF)の推計によると、世界の糖尿病患者数は2015年において4億1500万人(成人11人に1人)、2040年には6億4200万人(成人10人に1人)で、その90%以上が2型糖尿病と推定されていた。糖尿病でもないが正常でもない、いわゆる「予備軍」ないし「未病」の状態を本当の糖尿病にしないことが望まれ、今日に至っている。また、血中尿酸濃度が高い状態(=高尿酸血症)では、インスリンが作用しにくくなるインスリン抵抗性(IR)状態を引き起こすことがヒト研究で報告されつつあった。そこで本研究では、果菜とくにイチゴ由来の植物化学物質(ファイトケミカル)に着目してこれらの点に関する基礎研究を計画した。

2. 研究の目的

イチゴはビタミンCを豊富に含むことがよく知られている。また、エラグ酸をはじめ特有のポリフェノールを含むことも見出されつつある。筋肉は体の中で最大の組織であり、血中からのグルコース取り込みを促進して食後上昇する血糖値の正常化に大きく寄与する。そこで本申請研究では、培養筋細胞と2型糖尿病モデルマウスを組み合わせ、これらファイトケミカルの抗糖尿病作用とその分子機構を解析することを第一の目的とした。2型糖尿病の特徴の一つは上記IRを示すことである。近年、高濃度尿酸がIR誘発に関与し、糖尿病を増悪することが細胞および個体のレベルで解明されつつある。本研究の第二の目的は、上記ファイトケミカルがこの高尿酸血症と尿酸誘導性IRを軽減しうるのかの可能性を、高尿酸血症状態マウスで解析することである。

3. 研究の方法

まず、ラット骨格筋由来のL6筋芽細胞を筋管細胞へ分化させ、インスリン非存在下でL6筋管細胞へのグルコース取り込みを促進するイチゴ由来ファイトケミカルを探索した。筋細胞へグルコースが取り込まれるためには、グルコース輸送体4(GLUT4)が細胞質から細胞膜へ移行するためのシグナル伝達系路が活性化される必要がある。ここではインスリンとは独立したAMPK経路と、インスリン経路の途中にあるAkt経路が関与するか否かを、それぞれの阻害剤を用いてまず検討した。次いで両者またはどちらかの関与が認められた場合にGLUT4の細胞膜移行を培養筋細胞で検討した。これらが確認できたファイトケミカルについて、2型糖尿病モデルマウス(db/db, KK-A^y/Ta)に経口投与し、個体レベルでの血糖値上昇や耐糖能異常を改善しうるか検討した。この他のファイトケミカルも含めて2型糖尿病モデル KK-A^y/Ta マウスや、新たに考案したプリン体誘導性の高尿酸血症モデルマウスでの有効性についても検討した。

4. 研究成果

培養筋管細胞で検討したところ、複数のイチゴ由来成分がAMPKおよび/またはAktの活性化(=リン酸化)を介して筋管細胞によるグルコース取り込みを促進することが見出された。3種類について検討したが、ここでは果菜の中でアンズについてイチゴに多いリグナンの腸内細菌代謝産物であるエンテロラクトン(ENL)の例を図1~3で示す(Cytotechnology, 69(3):493-502, 2017より改変して引用)。

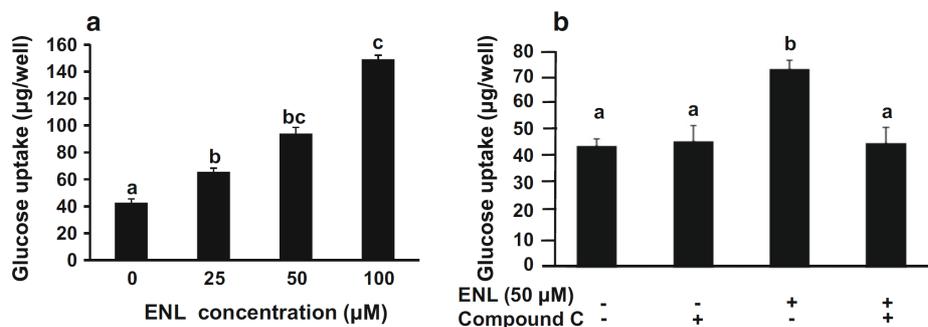
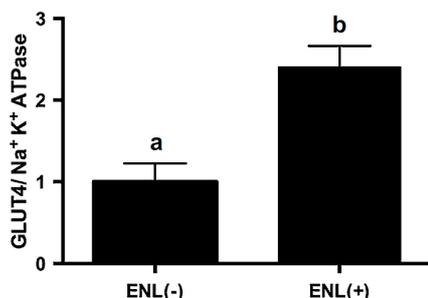


図1 筋管細胞におけるENLの用量依存的グルコース取り込み促進とAMPK阻害剤の作用

a: L6筋管細胞におけるグルコース取り込みに対するENLの作用 b: AMPK阻害剤(Compound C)によるENLのグルコース取り込み促進作用の消去はAMPKの関与を示す。数値は平均値±標準誤差を示し、異なるアルファベットの付いた平均値間では統計学的に有意差があること(p<0.05)を示す。



←図2 ENLによるGLUT4の細胞膜移行促進の確認
数値は平均値±標準誤差を示し、異なるアルファベットの付いた平均値間では統計学的に有意差があること(p<0.05)を示す。

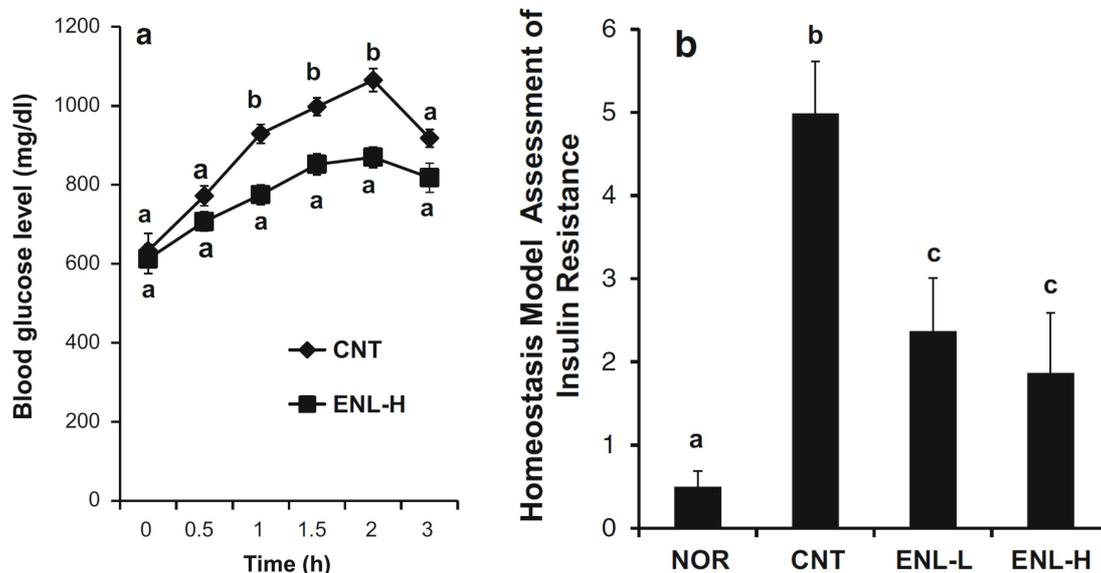


図3 ENLの耐糖能(a)とインスリン抵抗性(b)の改善作用 (db/dbマウスでの実験)

- a. 腹腔内グルコース負荷試験 (IPGTT) は糖尿病対照群 (CNT) とENL高投与量群 (0.01%含有実験食、ENL-H) の2群間で行った。
- b. Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) はインスリン抵抗性の指標であり、正常群 (NOR) 比べ糖尿病対照群 (CNT) できわめて高い。ENLを実験食へ0.001% (ENL-L) または0.01% (ENL-H) 添加することにより、HOMA-IRの上昇は有意に抑制された。数値は平均値±標準誤差を示し、異なるアルファベットの付いた平均値間では統計学的に有意差があること ($p < 0.05$) を示す。

このように、ENLはAMPK経路の活性化によりGLUT4の筋細胞膜への移行を促進して血中からグルコースを多く取り込み、耐糖能異常とインスリン抵抗性の改善に寄与することが2型糖尿病モデルdb/dbマウスで強く示唆された。

また、別の2型糖尿病モデルKK- A^y /Taマウスは高尿酸血症モデルでもあり、血中尿酸値とインスリン抵抗性が正相関すること (BMC Res Notes, 10(1):577, 2017)、野生型のみならず栽培型イチゴにも存在が見出されたタキシフォリンは、筋管細胞においてAMPKとAktの両経路を活性化してグルコースを多く取り込み、空腹時血糖上昇抑制、インスリン抵抗性改善、脂質異常症改善作用に加え、KK- A^y /Taマウスの高尿酸血症を抑制することが見出された (Ann Nutr Metab, 71 (Suppl 2): 1192, 2017)。さらに、エラグ酸の腸内細菌代謝物であるウロリチンAもタキシフォリンと同様にAMPKとAktの両経路を活性化しKK- A^y /Taマウスの耐糖能異常を改善することが見出されている。なお、この他のファイトケミカルがプリン体誘導性高尿酸血症の発症を防ぐことも見出されており、今後インスリン抵抗性と代謝症候群軽減化との関連性にも興味を持たれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計8件)

- Shin-ichi Adachi, Shinji Kondo, Yusuke Sato, Fumiaki Yoshizawa, Kazumi Yagasaki: Anti-hyperuricemic effect of isorhamnetin in cultured hepatocytes and model mice: structure-activity relationships of methylquercetins as inhibitors of uric acid production. *Cytotechnology*, 71(1): 181-192, 2019. doi: 10.1007/s10616-018-0275-8. Epub 2019 Jan 2. 査読有
- 矢ヶ崎一三、近藤真司：ファイトケミカルと糖尿病。食と医療、8: 30-37, 2019. 査読無
- 矢ヶ崎一三、安達真一：高尿酸血症を抑制するファイトケミカル素材。New Food Industry, 60(12): 19-26, 2018. 査読無
- 矢ヶ崎一三、近藤真司、安達真一：イチゴを含む食品素材中ポリフェノールの糖尿病と高尿酸血症に対する作用。日本ポリフェノール学会雑誌、7(1), 42-48, 2018. 査読有
- Shin-ichi Adachi, Fumiaki Yoshizawa, Kazumi Yagasaki: Hyperuricemia in type 2 diabetic model KK- A^y /Ta mice: a potent animal model with positive correlation between insulin resistance and plasma high uric acid levels. *BMC Res Notes*, 10(1):577, 2017. doi: 10.1186/s13104-017-2897-x. Epub 2017 Nov 7. 査読有
- Fang Zhou, Keisuke Furuhashi, Myoung Jin Son, Miku Toyozaki, Fumiaki Yoshizawa, Yutaka Miura, Kazumi Yagasaki: Antidiabetic effect of enterolactone in cultured muscle cells and in type 2 diabetic model db/db mice. *Cytotechnology*, 69(3):493-502, 2017. doi: 10.1007/s10616-016-9965-2. Epub 2016 Mar 21. 査読有

矢ヶ崎一三、安達真一、近藤真司: 糖尿病・脂質異常症・高尿酸血症と食品素材. *FOOD STYLE* 21, 21(8), 54-59, 2017. 査読無

矢ヶ崎一三: リグナン腸内細菌代謝産物エンテロラクトンの機能性. *New Food Industry*, 58(12), 15-22, 2016. 査読無

〔学会発表〕(計11件)

矢ヶ崎一三: イチゴファイトケミカルの糖尿病および高尿酸血症に対する食理作用
第103回日本栄養・食糧学会 関東支部大会シンポジウム(招待講演)(2019)

Kazumi Yagasaki (invited), Shin-ichi Adachi, Shinji Kondo, Fumiaki Yoshizawa: Phytochemicals: their effects on diabetes, hyperuricemia and skin photoaging. 9th International Conference on Nutrition and Physical Activity (NAPA2018), Taichung, Taiwan, 18 December 2018. (2018)
Shin-ichi Adachi, Kazunori Sasaki, Shinji Kondo, Fumiaki Yoshizawa, Hiroko Isoda, Kazumi Yagasaki: Antihyperuricemic effect of urolithin A in cultured hepatocytes and model mice. 31st Annual and International Meeting of the Japanese Association of for Animal Cell Technology (JAACT2018), Tsukuba, Japan, 8 November 2018. (2018)

安達真一、高見有希、近藤真司、佐藤祐介、吉澤史昭、矢ヶ崎一三: 培養肝細胞と高尿酸血症マウスにおけるイソラムネチンの抗高尿酸血症の作用の検討. 日本農芸化学会 2018年度大会(2018)

Kazumi Yagasaki, Shinji Kondo, Shin-ichi Adachi, Fumiaki Yoshizawa: Antidiabetic and antihyperuricemic effects of taxifolin, a polyphenol present in octaploid strawberry, in cultured L6 myotubes and type 2 diabetic model KK-A^y mice. IUNS 21st International Congress of Nutrition, Buenos Aires, October 19, 2017. *Ann Nutr Metab*, 71(Suppl 2):1192, 2017. doi: 10.1159/000480486. Epub 2017 Oct 13. (2017)

近藤真司、安達真一、吉澤史昭、矢ヶ崎一三: イチゴポリフェノールの血糖制御に関する作用解析. 第11回日本ポリフェノール学会年次大会(2017)

近藤真司、安達真一、矢ヶ崎一三: 2型糖尿病と高尿酸血症の正の相関性とイチゴファイトケミカルの作用. 第15回産学連携学会大会(2017)

近藤真司、安達真一、吉澤史昭、矢ヶ崎一三: イチゴポリフェノールの抗糖尿病作用. 日本栄養・食糧学会 第71回大会(2017)

近藤真司、安達真一、吉澤史昭、矢ヶ崎一三: 糖尿病モデルマウスにおけるイチゴポリフェノールの抗糖尿病作用. 日本農芸化学会2017年度大会(2017)

矢ヶ崎一三、安達真一、吉澤史昭: 2型糖尿病モデルマウスにおける高尿酸血症の発症とインスリン抵抗性との相関. 日本栄養・食糧学会 第70回大会(2016)

矢ヶ崎一三、周 芳 他: リグナン腸内代謝物エンテロラクトンの抗糖尿病作用とその機構解析. 日本農芸化学会2016年度大会(2016)

〔図書〕(計1件)

Kazumi Yagasaki: Phytochemicals, Their Intestinal Metabolites, and Skeletal Muscle Function (Chapter 26), *In Nutrition and Skeletal Muscle*, edited by Stéphane Walrand, Elsevier, Amsterdam, pages 421-438, 2019. ISBN: 978-0-12-810422-4 <https://doi.org/10.1016/C2016-0-00256-5>
査読有

〔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:
種類:
番号:取得年:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センター
<http://c-bio.mine.utsunomiya-u.ac.jp/publication-2.html>

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。