

令和元年6月20日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00911

研究課題名(和文) 軟らかい食物摂取により引き起こされる日本人型糖尿病の病態解析

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism for getting lifestyle-related diseases induced by soft diet

研究代表者

伊達 紫 (Date, Yukari)

宮崎大学・理事・副学長

研究者番号：70381100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肥満症、糖尿病、高血圧といった生活習慣病は年々増加傾向にあり、超高齢化時代において医療費の高騰の一因となっている。私たちは、目立った肥満を示さなくともこのような疾病に罹患した患者の要因を解明するため、“食物の性状”に着目して研究を行った。軟らかい食物をラットに給餌したところ、体重増加は認めないが体脂肪率の高いラットを作出できた。同ラットの脂肪細胞は肥大化しており、脂肪組織での慢性炎症を認めた。体重を一定に保つための生体機構として、交感神経の賦活によるカテコールアミンの上昇が見られたことから、軟らかい食事を続ける食習慣が高血圧や心疾患、動脈硬化の一因となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの肥満研究は、主に高脂肪食摂取動物や遺伝子改変動物を用いて行われてきた。本研究では、食物の組成には変化はなく、普通食に水を加え軟らかい性状に変えた食餌をラットに給餌しただけで、体脂肪率の増加や脂肪細胞の肥大化、脂肪蓄積に関わる分子動態の変化が明らかとなった。超高齢化時代を迎え、生活習慣病の増加による医療費の高騰は、国の財政を圧迫するよう委員と考えても過言ではない。本研究結果は、「よく噛んで食べる」という食習慣を身につけることが健康寿命の延伸や医療費削減につながることを示唆しており、予防医学を展開する上で有意義な成果であると言える。

研究成果の概要(英文)：Obesity is becoming increasingly common worldwide and increases the risk of various lifestyle-related diseases such as diabetes, hypertension, heart disease, or atherosclerosis. Here we focused on food texture not composition and investigated the effect of soft diet on fat accumulation, lipogenesis, and proinflammatory factors, as well as on energy homeostasis, in rats. As a result, calorie intake and fat accumulation in rats fed soft diet increased, but their body weight did not. In addition, we found that proinflammatory state occurs in the mesenteric fat of rat fed soft diet and leptin resistance was suggested in those rats. Furthermore, plasma catechol amines of rats fed soft diet were also increased, indicating that soft diet may contribute to the acceleration of hypertension, heart disease, and atherosclerosis. This study suggests that food texture induces obesity-related diseases in animals without overweight.

研究分野：摂食・エネルギー代謝

キーワード：食物の性状 肥満 炎症 カテコールアミン

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

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病の発症には、遺伝的素因や環境因子などさまざまな要因が関与すると考えられている。食物の性状や早食いなどの食習慣もまた、糖尿病発症要因の一つとして認識されているが、そのメカニズムは不明である。申請者は、ラットを軟らかい餌（普通食）で飼育すると、肥満のない糖尿病を発症することを見出した。日本人の糖尿病患者の平均 BMI が 23 であることを考えると、同ラットは日本人型 2 型糖尿病にきわめて類似したモデルラットと考えられる。食物の性状が糖代謝に影響を与えるという報告はこれまでになく、そのメカニズムの解明もなされていなかった。肥満を示さない軟食ラットの糖尿病発症までのメカニズムを考えると、軟食摂取による体脂肪率や脂肪蓄積の変化、脂肪組織での慢性炎症の誘導や中枢でのエネルギー恒常性維持機構の破綻等が想定される。

従って、軟食ラットの体組成やエネルギー代謝調節因子、脂肪組織の変化を検討することは、食物の組成だけでなく性状が、さまざまな生活習慣病につながる可能性の検証につながり、その結果、日本人の生活習慣病に適した予防法の確立および早期診断マーカーや治療標的分子の同定に寄与するものと考えられた。

### 2. 研究の目的

申請者は、米や麺類を好んで食する日本人の食生活に着目し、普通食を水でペースト状にした軟食を 3 時間制限給餌で 14 週間ラットに与えたところ、カロリー摂取量は固形食群と差を認めないものの、軽度の体重増加（有意差なし）、耐糖能障害、インスリン抵抗性、膵細胞の過形成、脂質合成促進が起こっていることを見出した（ ）。これらの知見から、早食いや不十分な咀嚼は、特に糖の吸収やインスリン分泌に何らかの影響を与えていることが強く示唆された。

そこで本研究では、軟食摂取により引き起こされる体組成の解析および生体の代謝調節機構に関連する因子、中枢の代謝関連因子の分子レベルでの解析を行い、日本人の食習慣がもたらす肥満、高血圧、動脈硬化、さらには糖尿病といった生活習慣病の発症および進展のメカニズムを解明する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 軟食ラットのエネルギーバランスの評価

6 週齢の雄性 Wistar ラットを炭水化物 65% の普通食（固形）群と 1.5 倍の水を加えペースト状にした軟食群の 2 群に分け飼育し、摂餌量および体重をモニターする。飼育 24 週で、体温、行動量、酸素消費量、呼吸商を測定し、エネルギーバランスを評価する。

#### (2) 軟食ラットの脂肪蓄積と脂質代謝関連因子の検討

27 週間軟食を給餌したラットの皮下脂肪、内臓脂肪および筋肉量を CT スキャンにて評価する。また、皮下脂肪と内臓脂肪組織の HE 染色を行い脂肪細胞のサイズを測定するとともに、各脂肪組織の RNA から cDNA を合成し、脂肪酸合成酵素 (FASN) の発現を定量 PCR にて解析する。さらに、軟食ラットおよび固形食ラットの内臓脂肪からタンパクを抽出し、ACC のリン酸化を Western blotting にて評価する。両群ラットの内臓脂肪での炎症性マーカーの発現を定量 PCR あるいは Western blotting にて解析し、血中レプチン濃度は EIA にて定量する。

#### (3) 軟食摂取ラットにおける視床下部摂食調節因子の検討

上記の期間飼育された両群ラットの視床下部を採取し、摂食亢進に機能する NPY および AgRP、摂食抑制に機能する CART および POMC の発現を定量 PCR にて評価する。

#### (4) 軟食摂取ラットにおける血中カテコールアミンの変化

上記の期間飼育された両群ラットの副腎から RNA を抽出し定量 PCR にてカテコールアミン合成酵素および分解酵素の発現を解析する。また、両群ラットの血中アドレナリン、ノルアドレナリン、ドパミン濃度を測定する。

### 4. 研究成果

#### (1) 軟食ラットのエネルギーバランス

軟食ラットは固形食ラットに比べ、摂取カロリーは有意に高かったが、体重には差を認めなかった。また、暗期での酸素消費量および行動量は軟食ラットで有意に大きかったことから、軟食ラットではエネルギー消費増加させることで、体重を一定に保とうとする生体制御機構が機能しているものと考えられた。軟食ラットの呼吸商は明期・暗期とも固形食ラットを有意に下回っており、同ラットは固形食ラットに比べ脂質をエネルギーとして用いる率が高いと考えられた。

#### (2) 軟食ラットの脂肪蓄積と脂質代謝

軟食ラットの体組成を CT スキャンで解析したところ、軟食ラットの皮下脂肪および内臓脂肪の割合は固形食ラットに比べ有意に高く、一方、軟食ラットの lean mass の割合は固形食ラットに比べ有意に低かった。これらの知見から、両群ラットには体重の差はないが、

軟食ラットでは体脂肪率が高いことが明らかとなり、いわゆる“隠れ肥満”の状況にあることが示唆された。さらに、皮下脂肪および内臓脂肪の組織学的検討から、軟食ラットの脂肪細胞の大きさは固形食ラットを有意に上回っており、血中レプチン濃度も高値を示した。また、内臓脂肪での FASN の発現は軟食ラットで有意に高く、同ラットの内臓脂肪においては、脂肪合成抑制に働く ACC のリン酸化が有意に低下していることも明らかになった。軟食ラットの脂肪組織では、MAPK の下流にある炎症性マーカー；MCP1 の発現が増加し、MAPK pathway の不活性化に働く MKP1 の発現は低下していた。また、MCP1 の転写調節因子である JNK のリン酸化を Western blotting で検討したところ、軟食ラットで顕著に増加していることが明らかになった。

これらの結果から、食物の組成ではなく単に軟らかいという性状の違いが脂肪蓄積の促進を引き起こし、脂肪細胞の肥大化、さらには脂肪組織における慢性炎症のトリガーになっていることが判明した。

### (3) 軟食摂取ラットにおける視床下部摂食調節因子

視床下部は摂食・エネルギー代謝調節の中核として知られ、近年さまざまな摂食亢進および抑制物質が同定されている。また、これらの物質の多くが脂肪細胞で産生されるレプチン受容体を持つ神経細胞で産生され、レプチンによるエネルギー代謝調節を司っていると考えられている。本研究では両群ラットの視床下部で発現し摂食亢進に機能する NPY および AGRP、摂食抑制に機能する CART および POMC の発現を検討した。軟食ラットの NPY および AGRP 発現については固形食ラットと有意な差はなかったが、CART および POMC 発現は有意に低下していた。レプチンは CART および POMC をダイレクトに活性化し摂食抑制およびエネルギー消費亢進に働くことでエネルギー恒常性の維持に機能していることから（ ）、軟食ラットのカロリー一摂取の増大は、レプチン抵抗性に起因している可能性も考えられた。

### (4) 軟食摂取ラットにおける血中カテコールアミン

交感神経系はエネルギー代謝調節において、エネルギー消費に機能する重要なシステムの一つである。交感神経活動が亢進することで、副腎髄質からのカテコールアミン（アドレナリン、ノルアドレナリン、ドパミン）の分泌が促進される。そこでカテコールアミン合成を制御する酵素である TH、DBH、PNMT の mRNA 発現を検討したところ、軟食ラットでの TH および PNMT 発現が有意に増加していることが明らかになった。また、カテコールアミン分解酵素である COMT の mRNA 発現に関しては、両群ラットで有意な差は認めなかった。さらに、軟食ラットの血中アドレナリン、ノルアドレナリン、ドパミン濃度は固形食ラットに比べ顕著に増加していた。軟食ラットでのカテコールアミン増加は、同ラットが固形食ラットに比べより多くカロリーを摂取しているにもかかわらず体重を一定に保つとといった生体制御機構の一つとしてとらえることもできる。一方で、カテコールアミンの増加は高血圧や心拍数増加を引き起こし、動脈硬化の進展につながることも示されている（ ）。

以上より、食物の成分が同じであっても、それを軟らかい性状で摂取するといった生活習慣は、これまでに報告した肥満のない二型糖尿病だけでなく、脂肪蓄積、レプチン抵抗性、慢性炎症、動脈硬化といった疾病や病状につながる可能性あり、今後、食育、食事指導、食事療法などに組み込んでいく必要性が高いと考えられた。

### < 引用文献 >

Bae CR, Hasegawa K, Akieda-Asai S, Kawasaki Y, Senba K, Cha YS, Date Y: Possible involvement of food texture in insulin resistance and energy metabolism in male rats. *J Endocrinol*, 222, 61-72, 2014

Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW: Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*, 443, 289-295, 2006

Bruno RM, Ghiadoni L, Seravalle G, Dell'oro R, Taddei S, Grassi G: Sympathetic regulation of vascular function in health and disease. *Front Physiol*, 3, 284, 2012

### 5 . 主な発表論文等

#### [ 雑誌論文 ] ( 計 4 件 )

Han W, Utoyoma M, Akieda-Asai S, Hidaka A, Yamada C, Hasegawa K, Nuno H, Date Y: Influence of food texture on energy metabolism and adiposity in male rats. *Exp Physiol*, 103 (10), 1347-1356, 2018 ( 査読有 )

Akieda-Asai S, Ida T, Miyazato M, Kangawa K, Date Y: Interleukin-15 derived from Guanylin-GC-C-expressing macrophages inhibits fatty acid synthase in adipocytes. *Peptides*, 99, 14-19, 2018 ( 査読有 )

Yasuda M, Kawabata J, Akieda-Asai S, Nasu T, Date Y: Guanylyl cyclase C and guanylin

reduce fat droplet accumulation in cattle mesenteric adipose tissue. J Vet Sci, 18 (3), 341-348, 2017 (査読有)

Utoyama M, Akieda-Asai S, Koda S, Nunoi H, Date Y (Utoyama and Akieda-Asai contributed equally to this work.): Role of the neural pathway from hindbrain to hypothalamus in the regulation of energy homeostasis in rats. Neurosci Lett, 614, 83-88, 2016 (査読有)

〔学会発表〕(計 13 件)

Han W, Utoyama M, Akieda-Asai S, Date Y: 食物の性状の違いがエネルギー代謝や脂肪蓄積に及ぼす影響. Influence of food texture on energy metabolism and adiposity in male rats. 第91回アディポサイエンス研究会, 18 August, 2018

秋枝さやか, 井田隆徳, 宮里幹也, 伊達紫: グアニリンおよびグアニル酸シクラーゼC高発現マクロファージ由来のIL-15は脂肪細胞の脂肪酸合成を抑制する, 第91回日本内分泌学会, 28 April, 2018

秋枝さやか, 伊達紫: 農と食の未来を切り拓け! ホルモン研究-「食物の性状が糖代謝や脂質代謝に及ぼす影響」 ConBio2017, 6 December, 2017 (ワークショップ招待講演)

Akieda-Asai S, Date Y : Sex differences in high-fat diet-induced obesity in rats. Gender Summit 10, Satellite Conference, 29-30 May, 2017

Han Wanxin, 秋枝さやか, 宇藤山麻衣子, 伊達紫: Effects of food texture on the expressions of glucose transporters and gut microbiota in rats. 平成29年度日本生化学会九州支部例会, 13 May, 2017

宇藤山麻衣子, Han Wanxin, 秋枝さやか, 伊達紫: 軟食自由摂食ラットにおける内臓脂肪蓄積と摂食調節因子. 平成29年度日本生化学会九州支部例会, 13 May, 2017

秋枝さやか, Han Wanxin, 宇藤山麻衣子, 伊達紫: 食物の性状が腸内グルコーストランスポーターや腸内微生物に及ぼす影響, 第90回日本内分泌学会, 22 April, 2017

伊達紫, 秋枝さやか, 北村忠弘: 食物の性状により引き起こされる2型糖尿病の病態解析, 第26回臨床内分泌代謝Update, 大宮, 15 November, 2016. (シンポジウム)

宇藤山麻衣子, 秋枝さやか, 幸田修一, 布井博幸, 伊達紫: 延髄-視床下部の神経遮断ラットにおけるエネルギー代謝の検討. 第43回神経内分泌学会, 15 October, 2016

Wanxin Han, 秋枝さやか, 宇藤山麻衣子, 伊達紫: 軟らかい食物が腸内グルコーストランスポーターや腸内微生物に及ぼす影響. 第37回日本肥満学会, 東京, 8 October, 2016

宇藤山麻衣子, Wanxin Han, 秋枝さやか, 伊達紫: Soft diet 自由摂食ラットにおける内臓脂肪蓄積と摂食調節因子. 第37回日本肥満学会, 東京, 8 October, 2016

長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: ラットへの軟食自由摂食によるエネルギー代謝バランスと内臓脂肪蓄積. 第89回日本内分泌学会, 京都, 23 April, 2016

13. 長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: Possible involvement of food texture in insulin resistance and energy metabolism in rats. 第10回Cardio-Diabetes 研究会, 東京, 3 March, 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/peptides/date/jp/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

なし

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：秋枝さやか

ローマ字氏名：(AKIEDA, sayaka)

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。