

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14918

研究課題名(和文) 栄養センサー細胞(消化管内分泌細胞)が難消化性糖質を感知する仕組みを解き明かす

研究課題名(英文) Study on sensing mechanism of low-digestible saccharides in nutrient-sensing enteroendocrine cells

研究代表者

原 博(Hara, Hiroshi)

北海道大学・農学研究院・教授

研究者番号：70198894

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：難消化糖質として難消化性デキストリン、ならびに「自然界にその存在量が少ない単糖とその誘導体」と定義される希少糖の一つであるD-アルロースについて、これらを経口投与することでのGLP-1の分泌が促進されることを見出した。D-アルロースのGLP-1分泌促進作用は、難消化性デキストリンやフルクトースよりも強力で、腸管腔内への直接投与により発現したが腹腔内投与では発現されなかったことから、D-アルロースは腸管腔内で強いGLP-1分泌促進作用を示すことが明らかとなった。このことから難消化性糖質を認識することが消化管ホルモン分泌において重要な生理的意義を有することが示された。

研究成果の概要(英文)：We examined the effects of indigestible saccharides including rare sugar D-allulose on a gut hormone GLP-1 secretion. Single oral administration of resistant maltodextrin (RMD) or D-allulose potently stimulated GLP-1 secretion in rats. D-allulose had larger and continuous stimulatory effect on GLP-1 secretion than RMD. The GLP-1-stimulating effect was observed by oral and luminal but not by intraperitoneal administration of D-allulose, indicating D-allulose exerted the effect in the intestinal lumen. These results demonstrate important role of enteroendocrine cell to sense indigestible saccharides in gut hormone secretions under a physiological condition.

研究分野：栄養生理学

キーワード：難消化性糖質 GLP-1 アルロース 難消化性デキストリン GIP

## 1. 研究開始当初の背景

消化管内分泌細胞は、食後に腸管腔内に流入してきた栄養素を感知して、各種消化管ホルモンを分泌する。分泌された消化管ホルモンは、消化酵素分泌、腸管運動、食欲、血糖調節など多様な食後生理応答の引き金となる。消化管ホルモンの一つ Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)は、膵臓からのインスリン分泌を促進することで食後血糖上昇を緩和する( )。GLP-1の分泌は、グルコース、脂肪酸、ペプチド、アミノ酸など、消化・吸収されるエネルギー性の栄養素によって誘導され、近年それらの受容機構(受容体)が一部明らかになりつつある。

申請者は、消化抵抗性があり、吸収されない難消化性糖質(食物繊維)の経口投与が GLP-1 の分泌を促進することを見出した( )。GLP-1 産生細胞株を用いた試験により、これは腸内発酵を介した作用ではなく、難消化性糖質そのものが作用して、GLP-1 分泌を促すものと考えられた。また、新たな難消化性糖質がラットへの単回経口投与により強力に GLP-1 分泌を誘導することを見出した。

このような難消化性糖質の新たな生理作用はほとんど知られておらず、世界に先駆けて作用メカニズム(受容体など)ならびに生理作用を解き明かす必要がある。

## 2. 研究の目的

エネルギーとならず、積極的に吸収すべき栄養素でもなく、排除すべき毒性物質でもない難消化性糖質(非代謝性糖質)を、栄養センサー細胞が感知するという極めて興味深い生理現象について、そのメカニズムと生理的意義を明らかにすることを本課題の目的とする。

本研究課題においては、難消化性糖質による GLP-1 分泌作用に関して以下を具体的目標として。

- ・ 培養細胞を用いて、その受容機構、細胞内情報伝達経路を明らかにする。
- ・ 動物組織において、培養細胞で見出された受容機構が同様に関与するかを明らかにする。
- ・ 動物試験により、この現象の生理的意義を明らかにする。

## 3. 研究の方法

難消化糖質として難消化性デキストリン、ならびに「自然界にその存在量が少ない単糖とその誘導体」と定義される希少糖の一つである D-アルロースについて、GLP-1 分泌促進作用を検討した。

D-アルロースは、フルクトースの異性体であり、単糖であることから、消化管ではそれ以上の消化は受けない。また、吸収性もグルコースやフルクトースに比べると低く、代謝も受け難い。

動物試験ではラットを用い、D-アルロース、難消化性デキストリン、デキストリンをそれぞれ覚醒ラットに経口投与後、経時的に尾静脈より採血を行い、血漿中のグルコース濃度、GLP-1 濃度を測定した。GLP-1 濃度測定には市販の ELISA キットを用いた。

D-アルロース、グルコースをラットに経口投与し、経時的に麻酔下で開腹して門脈血を採取した。その際に、消化管部位別(胃、上部小腸、下部小腸、盲腸、結腸)に内容物を回収し、腸内容物中の D-アルロース量ならびにグルコース量、浸透圧などを測定した。

腸管での直接的な作用を検討するため、麻酔下ラットの門脈に採血用のカテーテルを留置し、小腸内(十二指腸または回腸)に直接被験物質を投与した。経時的に門脈血を採取し、得られた血漿中の GLP-1 濃度を測定した。

細胞試験では、マウス大腸由来 GLP-1 産生細胞 GLUTag を用いた。GLUTag 細胞を 48 ウェルプレートに播種し、サブコンフルエントになるまで 2 日間培養した。培地を除去後、バッファーに溶解した各種被験物質を各ウェルに添加し、一定時間(1~3 時間)インキュベーションした。上清を回収しその GLP-1 濃度を測定した。

## 4. 研究成果

ラットへのデキストリン経口投与では、GLP-1 分泌は亢進されず、難消化性デキストリン投与で 60 分以降に GLP-1 分泌の亢進が見られた。さらに D-アルロース投与により早期から持続的な GLP-1 分泌亢進が見られた。血糖値はデキストリン投与で大きく上昇したが、D-アルロース投与は上昇しなかった。0.5~2.0 g/kg 体重の D-アルロース経口投与により、投与量依存的な GLP-1 分泌促進作用が確認された。フルクトースは、グルコースよりも強く GLP-1 分泌を促進すること、ならびにもう一つのインクレチンである Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) の分泌には影響しないことが報告されている( )が、同容量で比較した際に、D-アルロースの経口投与はフルクトース経口投与よりも強力に GLP-1 分泌を促進した。

D-アルロースの GLP-1 分泌促進作用は、末梢血だけでなく、門脈からの採血でも確認された。

さらに、D-アルロースを麻酔下ラット腸管に直接投与したところ、下部小腸(回腸)に投与した方が、上部小腸(十二指腸)に投与した際よりも強く GLP-1 分泌を誘導した。このことから、D-アルロースは下部小腸で強く作用することが示唆された。

消化管ホルモン GLP-1 は、インスリン

分泌促進作用(インクレチン作用)や食欲抑制作用を有することから、D-アルロース経口投与後に糖負荷試験試験ならびに、摂食量を測定する試験を実施した。D-アルロース投与後に経口または腹腔内にグルコース溶液を投与したところ、血糖値の上昇が緩和された。その際に血中 GLP-1 濃度の上昇、インスリン濃度の上昇傾向が観察された。また、D-アルロース経口投与後の摂食量も減少した。このことから、D-アルロースを経口投与することで、強力に GLP-1 分泌を促進し、このことが食後の血糖上昇抑制や過食の防止に有効であることが明らかとなった。このことはマウスを用いた試験によっても支持される( )。

GLP-1 産生細胞株 GLUTag を、D-アルロースに暴露したところ、GLP-1 分泌促進は見られなかった。グルコースやフルクトース暴露に対する GLP-1 分泌応答は観察されたことから、*in vivo* 試験で見られた D-アルロースの GLP-1 分泌促進作用は、GLP-1 産生細胞への直接作用によるものではない可能性が考えられた。

GLP-1 産生細胞とは異なる細胞が D-アルロースを認識して、何らかの細胞間情報伝達を介して GLP-1 産生細胞を活性化する可能性や、腸管腔内の何らかの GLP-1 分泌阻害因子の作用を D-プシコースが解除することで GLP-1 産生細胞が活性化される可能性なども考えられた。

GLP-1 と同じくインスリン分泌促進作用を持つ消化管ホルモン GIP に関しては、D-アルロースによる分泌促進は見られなかったことから、D-アルロースの作用は GLP-1 選択的と考えられた。この作用はフルクトースと類似していた。D-グルコースは、逆に GIP 分泌を促進し、GLP-1 の分泌は促進しなかった。

D-アルロースをラットの腹腔内に投与しても GLP-1 分泌への影響は見られなかったことから、D-アルロースは腸管腔内で作用することが明らかとなった。

また、D-アルロースは、経口投与後、150 分まで腸管腔内に残存することが確認され、長時間腸管腔内に存在することで、持続的に GLP-1 分泌を促すことが考えられた。

D-アルロースによる GLP-1 分泌促進は、甘味受容体阻害剤やグルコーストランスポーター阻害剤による影響を受けなかったが、GLUT5 阻害剤とされるキサントフォームにより抑制された。GLUT5 はフルクトースの輸送担体であることから、D-アルロースはフルクトースと同様のトランスポーターを介して GLP-1 分泌を促進することが示唆された。

以上のように、希少糖 D-アルロースは、

GIP 分泌には影響せずに GLP-1 分泌を持続的かつ強力に促進すること、その作用は腸管腔内で発現することが明らかとなった。

難消化性デキストリンは消化管内分泌細胞への直接作用により GLP-1 分泌を誘導する作用がある一方で、D-アルロースには消化管内分泌細胞への直接的な作用は観察されなかった。これらのことから、大腸発酵を伴うような長時間を要する作用とは異なり、消化管内分泌細胞単独というよりは、消化管としての何らかの機構で D-アルロースの管腔内での存在が感知され、何らかの因子を会した間接的な機構により、D-アルロースは GLP-1 分泌を誘導するものと考えられた。このことはこれまでに想定されていない新たな食品成分認識機構の存在を示すものであり、さらなる研究が必要と考えられる。

#### <引用文献>

Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab.* 2006 ;3(3):153-65.

Hira T, Ikee A, Kishimoto Y, Kanahori S, Hara H. Resistant maltodextrin promotes fasting glucagon-like peptide-1 secretion and production together with glucose tolerance in rats. *Br J Nutr.* 2015;114(1):34-42.

Kuhre RE et al. Fructose stimulates GLP-1 but not GIP secretion in mice, rats, and humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014;306(7):G622-30.

Iwasaki Y, Sendo M, Dezaki K, Hira T, Sato T, Nakata M, Goswami C1, Aoki R, Arai T, Kumari P, Hayakawa M, Masuda C, Okada T, Hara H, Drucker DJ, Yamada Y, Tokuda M, Yada T. GLP-1 release and vagal afferent activation mediate the beneficial metabolic and chronotherapeutic effects of D-allulose. *Nat Commun.* 2018;9(1):113. doi: 10.1038/s41467-017-02488-y.

#### 5 . 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計1件)

Secretion of GLP-1 but not GIP is potently stimulated by luminal d-Allulose (d- Psicose) in rats. Hayakawa M, Hira T, Nakamura M, Iida T, Kishimoto Y, Hara H. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Feb 2. pii: S0006-291X(18)30143-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.01.128. PMID: 29402406 査読有り

##### [学会発表](計4件)

比良 徹「GLP-1を増やす食品成分、食事条件～糖・脂質代謝、食欲調節を理解し、これを制御する多角的なアプローチ」、平成29年度 公益社団法人日本農芸化学会 北海道支部第2回講演会および公益社団法人日本栄養・食糧学会 第47回北海道支部大会合同大会 公開シンポジウム)、2017/12/2、北海道大学農学部(北海道・札幌市)

早川 真輝、比良 徹、飯田 哲郎、岸本 由香、原 博、「D-ブシコースによるGLP-1分泌促進作用における糖輸送担体の関与」、日本食物繊維学会 21回学術集会、2016/11/26、静岡大学農学部(静岡県・静岡市)、発表賞受賞

早川 真輝、比良 徹、飯田 哲郎、岸本 由香、原 博、「D-ブシコースの経口投与はラットにおいてGLP-1分泌を促進する」、第70回日本栄養・食糧学会大会、2016/5/15、武庫川女子大学(兵庫県・西宮市)、学生優秀発表賞受賞

比良 徹、原 博「難消化性デキストリンのチカラ - 消化管ホルモンを介した新たな機能 - 」、第70回日本栄養・食糧学会大会 ランチョンセミナー、2016/5/14、武庫川女子大学(兵庫県・西宮市)

〔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〕

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

原 博(HARA, Hiroshi)

北海道大学・大学院農学研究院・特任教授

研究者番号：70198894

### (2)研究分担者

比良 徹(HIRA, Tohru)

北海道大学・大学院農学研究院・講師

研究者番号：10396301