

令和 2 年 5 月 4 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00860

研究課題名(和文)小腸グルコース吸収機構における能動から拡散輸送へのモード変化の生理学的意義の検討

研究課題名(英文)Elucidation of the physiological relevance of changes in glucose transport mode in the small intestine

研究代表者

林 久由(Hayashi, Hisayoshi)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：40238118

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：小腸での栄養吸収は、生体が必要なエネルギーを外界から取り込むための根源的な機構である。グルコースやアミノ酸などの主要な栄養素の小腸での吸収能力は、摂取された栄養素の量と比例しており、また多くの栄養素は、管腔内Na⁺との共輸送で吸収されている。このため、Na⁺に依存する栄養素の吸収メカニズムには大量のNa⁺が必要であると考えられる。また、グルコース摂取量は、グルコース吸収能力と比例関係にあることが報告されているがその機序は詳細に検討されていない。このため本研究では、小腸でのグルコース摂取量と、グルコース吸収機序との関係、栄養素吸収に必要なNa⁺供給システムの機序を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小腸のグルコース吸収機構の解明は、メタボリックシンドローム等の問題を考える上で、最も基本的な事項である。現在、教科書等で広く信じられている小腸からのグルコース吸収機構は、本来のグルコース吸収機構の一側面のみを見ていた可能性がある。グルコース吸収は、Na⁺に依存した能動輸送体SGLT1を介する機構のみであるとされているが、拡散による吸収機構の存在も提唱されている。しかし、この機構の生理学的意義は検討されていない。また、グルコース吸収には多量のNa⁺が必要であり、これは食塩摂取量よりはるかに多いが、そのNa⁺供給機構は明らかにされていない。本研究ではこれら機構を解明することを試みた。

研究成果の概要(英文)：Nutrient absorption in the small intestine is essential for assimilation of nutrients required for energy and growth. To meet these requirements, nutrients are efficiently absorbed from the luminal side. Major nutrients, such as glucose and amino acids, absorption capacity in the small intestine are proportional to changes in amount of ingested nutrients and nutrients cross the luminal membrane via specific transporters which require cotransport with luminal Na⁺. It is, therefore, envisaged that Na⁺-dependent nutrient absorption mechanisms require a large amount of luminal Na⁺. It is also shown that the effect of dietary conditions on the intestinal glucose absorption has been reported to proportional to changes in glucose transport. We therefore investigated that the intestinal mechanisms which is responsible for changes of amount of luminal glucose and Na⁺ supply systems in the small intestine.

研究分野：消化管の生理学

キーワード：SGLT1 GLUT 能動輸送 グルコース

1. 研究開始当初の背景

小腸での栄養素の吸収機構は生体が生きていくために外界から必要なエネルギーを効率的に取り込むという最も根源的な機構である。その機構の中でもグルコースの吸収機構に関しては多くの生物において普遍的な機構あり、確立されていると信じられている。すなわち、栄養素吸収上皮細胞の入口の分子の実体は、 Na^+ 依存性の能動輸送体である SGLT1 で入り、細胞からの出口は側底膜に存在する拡散輸送体である GLUT2 を介するという機構である。また、この Na^+ 依存性の SGLT1 の駆動力は、側底膜に存在する Na^+ ポンプで維持されている。

しかし、この SGLT1 を介するグルコース吸収機構は唯一の機構ではなく、別の機構が関与するという実験データが1980年代から二つのグループから提唱されている。二つのグループの共通点は、SGLT1 自体のグルコース吸収に対する割合は小さく、グルコースが管腔内に高濃度に存在する場合は、主要なグルコースは拡散機構を介して吸収されているという点である。Pappenheimer (引用文献) らは、グルコースの吸収経路は小腸上皮細胞間であると提唱している。Kellett (引用文献) らは、通常は側底膜側に発現している、グルコースの出口である拡散輸送体 GLUT2 が、新たに管腔側に、導入されるというモデルを提唱している。これら研究に対する反証論文(引用文献) は2012年に発表されているが、拡散によるグルコース吸収機構の存在と、その生理学的意義は矛盾無く説明ができていない。また、グルコースは、管腔内の Na^+ と一緒に輸送されることで効率的に吸収されている(二次性能動輸送)。このため、 Na^+ に依存する栄養素の吸収機構には多量の Na^+ が必要であると考えられが、その機序の詳細は検討されていない。

2. 研究の目的

主要な栄養素であるグルコースやアミノ酸などの小腸での吸収能力は、摂取された栄養素の量と比例しており、また多くの栄養素吸収機構は、管腔内の Na^+ との共輸送機構で吸収されている。また、グルコース吸収能力はグルコース摂取量と比例関係にあることが報告されているがその機序は詳細に検討されていない。このため本研究では、小腸でのグルコース摂取量と、グルコース吸収機序との関係、栄養素吸収に必要な Na^+ 供給システムの機序を検討した。

3. 研究の方法

ユッシングチャンバー法を用いてマウスから摘出した小腸標本におけるグルコース誘発の短絡電流上昇を測定した。更にアイソトープラベルしたグルコースで経上皮のグルコースフラックスを測定した。また、上皮細胞間のイオン透過性の評価は、希釈電位を測定することで行なった。タイト結合部の陽イオン透過性に重要な役割をしているクロージン15が欠損したクロージン15KOマウスでも同様に行なった。

4. 研究成果

(1) 自由摂食時の上部小腸では、SGLT1 によるグルコース輸送活性は、ほとんど観察されなかった。しかし、別の小腸の機能評価指標である Cl⁻分泌機能は維持されており、標本の健全性は保たれていた。上部小腸では絶食により、SGLT1 によるグルコース輸送活性が上昇した。また、アイソトープラベルしたグルコースを用い経上皮グルコースフラックスを評価した。自由摂食群では僅かな SGLT1 に寄らないと考えられるグルコース吸収機構が観察されたが、この機構は絶食により影響されなかった。また、絶食による Na⁺依存性の SGLT1 輸送活性の上昇と同時に、上皮細胞間のイオン透過性の指標である経上皮コンダクタンスの上昇が上部小腸で観察された。傍細胞経路のイオン透過性を電氣的に検討すると、経上皮コンダクタンス上昇の要因は Na⁺透過性の上昇であることが示唆された。この絶食による経上皮コンダクタンス上昇はクロージン 15KO マウスでは観察されず、Na⁺透過性上昇はクロージン 15 の機能亢進によることが示唆された。以上より、上部小腸では、絶食により、Na⁺依存性の SGLT1 輸送活性の上昇とタイト結合部の Na⁺選択性の上昇が同時に観察された。この活性調節機構は摂取したグルコースを速やかに、かつ効率的に吸収するために必要な生理機構であると考えられた。

(2) 野生型マウスにおいて経細胞性の Na⁺輸送路のみが評価できる短絡条件下では、グルコース誘発短絡電流上昇 (I_{sc}) とほぼ同等の粘膜側から漿膜側への一方向性 ²²Na⁺フラックス ($J_{M\ s}$) の増加が観察された。また、傍細胞経路の Na⁺輸送も評価できる非短絡条件下では、粘膜側負電位が発生し、短絡条件下とほぼ等しい I_{sc} が観察されたが、 $J_{M\ s}$ は強く抑制され、吸収性の Na⁺フラックスはほとんど観察できなかった。一方、クロージン 15 欠損マウスでは、短絡条件下において I_{sc} とほぼ同等の $J_{M\ s}$ が観察された。しかし、非短絡条件下では、野生型より大きな粘膜側負電位が観察されたにもかかわらず、 $J_{M\ s}$ の抑制は小さく、吸収性の Na⁺フラックスがみられた。以上より、SGLT1 により栄養吸収細胞に取り込まれた Na⁺は、Na⁺ポンプを介して漿膜側にくみ出された後、起電性の SGLT1 により発生した粘膜側負電位を駆動力として、クロージン 15 からなるタイト結合を介して管腔側にリサイクリングされている可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Pappenheimer JR et.al., J. Membr. Biol 100, 123-136, 1987.

Kellett GL et.al., Biochem. J. 350,155-162, 2000.

Gorboulev V et.al., Diabetes 61, 187-196, 2012.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakayama Michiko, Ishizuka Noriko, Hempstock Wendy, Ikari Akira, Hayashi Hisayoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Na ⁺ -Coupled Nutrient Cotransport Induced Luminal Negative Potential and Claudin-15 Play an Important Role in Paracellular Na ⁺ Recycling in Mouse Small Intestine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 376 ~ 376
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21020376	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 H Hayashi, M Nakayama, N Ishizuka.
2. 発表標題 Physiological relevance of intestinal paracellular Na ⁺ pathways for Na ⁺ -coupled glucose transport in mouse small intestine.
3. 学会等名 Physiology 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久由、中村千紗都、石塚典子
2. 発表標題 小腸グルコース輸送活性調節機序と傍細胞Na ⁺ 透過性の変化
3. 学会等名 第66回中部日本生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久由、中村千紗都、石塚典子
2. 発表標題 小腸グルコース吸収における短期的な輸送活性調節機序
3. 学会等名 第73回日本栄養食糧学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 久由
2. 発表標題 小腸グルコース吸収機構と傍細胞経路を介したNa循環機構
3. 学会等名 第49回日本消化吸収学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林 久由
2. 発表標題 小腸Na代謝とNa依存性グルコース吸収機構
3. 学会等名 第72回日本栄養食糧学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林久由, 中村千紗都, 辰巳郁也, 石塚典子, 中山美智子
2. 発表標題 小腸におけるグルコース輸送活性調節機構
3. 学会等名 生理研研究会（岡崎）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村千紗都, 石塚典子, 林久由
2. 発表標題 SGLT1の急速な輸送活性調節機構の検討
3. 学会等名 第12回トランスポーター研究会（仙台）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中村千紗都, 横山 可奈子, 石塚典子, 林久由
2. 発表標題 マウス小腸におけるナトリウム依存性グルコース輸送体SGLT1の食事による調節機構
3. 学会等名 第95回日本生理学大会 (高松)
4. 発表年 2018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
研究 分 担 者	石塚 典子 (Ishizuka Noriko) (30440283)	静岡県立大学・食品栄養科学部・助教 (23803)	