

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：35306

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K19939

研究課題名(和文)低分子抗酸化物による新規血糖コントロール制御評価法の開発

研究課題名(英文)Evaluation of low-molecular-weight antioxidant efficacy for blood glucose control

研究代表者

渡辺 理江 (RIE, WATANABE)

美作大学・生活科学部・准教授

研究者番号：70452349

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：機能性食品の有効成分の中には、抗糖尿病作用および抗酸化作用の両方を有すものが多いが、その相互調節の分子メカニズムはほとんど不明なままである。本研究では、低分子抗酸化物としてのヒトチオレドキシニン1の遺伝子組換えレタス(チオレドキシニン-レタス)、および糖尿病モデルマウス(Akitaマウス)を用い、それら作用評価した。結果、チオレドキシニン1によるAkitaマウスのHbA1cベースラインレベルの改善が示され、組織応答として、小腸杯細胞の細胞数が増加していることが判明した。このムチン分泌増加により、食後血糖値上昇抑制が起こり、血糖コントロールが改善したことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食品中の機能性成分の中には、食後血糖値上昇抑制作用および抗酸化作用を両方有すものが非常に多い。しかし、腸管組織に対する食後血糖値上昇抑制作用および抗酸化作用の相互調節分子メカニズムはほとんど不明である。長期的な食事摂取による低分子抗酸化物による腸管組織での細胞増殖分化誘導を介した血糖コントロール制御という、本研究における新しい発見は、これまでの栄養学分野ではなかった生体応答を証明し、分子栄養学研究の方向性に影響を与え、栄養学・食品学ばかりでなく、超高齢化社会で激増している生活習慣病問題といった医学研究分野にも貢献する研究成果である。

研究成果の概要(英文)：Many studies have reported that some effective components into functional foods have not only antidiabetic but also antioxidant effects, whereas molecular mechanisms of their mutual regulations remain largely unknown. In this study, we evaluated those effects with transplastomic lettuce expressing human thioredoxin-1 (hTrx-1 lettuce), as a low-molecular-weight antioxidant, and diabetic mice (Akita mice). Our results revealed that administration of the hTrx-1 lettuce-containing diet improves a baseline level of HbA1c in Akita mice. This effect is mediated through intestinal goblet cell proliferation and possibly related to protection against postprandial hyperglycemia by mucus, which results in the improvement of blood glucose control.

研究分野：分子糖尿病学、生化学、栄養学

キーワード：チオレドキシニン 低分子抗酸化物 栄養学 血糖コントロール

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現代病と言われる疾患の発症・進展には、酸化ストレス (Reactive oxygen species: ROS の過剰発生) による組織傷害が関係している。糖尿病下で生じる多くの現象も酸化ストレスが密接に関与し、高血糖の持続による過剰 ROS 産生を消去させ合併症予防することが必須となる。その第一手段の一つとして食後血糖値を下げるための食事療法は基本的な治療方針である。近年、食品中の機能的成分の研究は盛んに行われ、食事療法に取り入れられているものもある。血糖コントロールへの効果としてはコホート研究などがよく知られている。最近では詳細な成分に関する研究が主流で、水溶性/不溶性食物繊維比率、水溶性食物繊維群中の特定成分、糖質分解酵素である α -アミラーゼ活性・ α -グルコシダーゼ活性の阻害成分など盛んに研究されている。これらはすべて、腸管での糖吸収阻害による食後血糖値上昇抑制作用として研究されているが、違う作用機序としてインスリン様作用や消化管ホルモンの GLP-1 分泌促進作用を示す食品成分に関する報告もある。これら機能的な食品成分中には食後血糖値上昇抑制作用に加え抗酸化作用を有すものが非常に多い。しかし食品中の抗酸化作用関連分子と血糖値制御に関わる報告は、高濃度食品有効成分の強制経口摂取や食品有効成分が血中内に高濃度に存在することを仮定した実験条件下での検討が多く、食品自由摂取下で食品有効成分に初めに接する細胞での分子レベルの検討は非常に少ない。すなわち、食品の自由摂取(通常の消化条件)下で機能的成分に直接暴露される腸管組織における分子レベルでの食後血糖値上昇抑制作用と抗酸化作用の関連性、詳細な作用機序はほとんど不明なままである。

2. 研究の目的

本研究では、低分子抗酸化物として、共同研究グループで開発したヒトチオレドキシン 1 の高発現遺伝子組換えレタス (チオレドキシン-レタス) を応用利用し、食品由来の低分子抗酸化物による腸管組織での細胞増殖分化誘導メカニズムを介した血糖コントロール制御機構の提案・メカニズムを解明し、低分子抗酸化物を介した新規血糖コントロール制御評価法の開発に挑戦する。本研究は、栄養学・食品学ばかりでなく、超高齢化社会で激増している生活習慣病問題といった医学研究分野への研究貢献を目指す。

3. 研究の方法

(1) ヒトチオレドキシン 1 高発現遺伝子組換えレタス (チオレドキシン-レタス)

共同研究グループで以前開発したチオレドキシンレタスを凍結乾燥し、粉末化してマウス食餌に用いた。また、市販の食用野菜である紫キャベツ(アブラナ科野菜で、スルフォラファンによりチオレドキシン 1 遺伝子が発現)でも同様の処理を行った(データ省略)。

(2) 糖尿病モデルマウス : Akita マウス

13 週齢 Akita マウス(雄)に 10%チオレドキシン-レタス含有 CE-2 食を自由摂食させ、13 週間飼育した。食餌コントロールとして 10%野生レタス(市販品同様)、また、遺伝子組換え食餌コントロールとして 10%GFP-レタス(データ省略)、を通常マウス食 CE-2 にそれぞれ混合して用い、比較検討した。

なお、生命倫理・安全対策として、京都大学および美作大学の動物実験委員会の承認を受け、その規定に従い、動物実験を実施した。

(3) 血糖コントロール

マウス尾静脈より採血し、血糖値および HbA1c 値を測定した。

(4) 組織染色

マウス小腸上部を単離し、4%PFA 固定後、HE 染色および AB-PAS 染色プレパラート切片を作製依頼(国立法人岡山大学医学部共同実験室に委託)し、顕微鏡観察を行い、小腸杯細胞数および面積を計測した。

(5) 透過型電子顕微鏡法

マウス小腸上部を単離し、4%PFA/2%グルタルアルデヒド固定後、2%四酸化オスミウムで後固定・切片化して、顕微鏡撮影を業者委託した。

4. 研究成果

①チオレドキシニン-レタス食餌負荷による血糖コントロールの改善

13週齢オス Akita マウスに10%チオレドキシニン-レタス含有 CE-2 食および10%コントロール食を自由摂食させ、13週間飼育し、体重・空腹時血糖値・HbA1c 値を13週齢および26週齢時点で測定した。その計測値の変化を Table に示す。HbA1c 値は、チオレドキシニン-レタス群で有意に低下していた。

TABLE Changes in the body weight, fasting serum glucose, and HbA_{1c} levels in groups I and II

	Group I <WT>	Group II <hTrx-1>	p value
Weight (g)	2.3 ± 0.5	0.8 ± 0.7	.13
Fasting plasma glucose (mg/dl)	34 ± 107.3	-20 ± 32.0	.67
HbA _{1c} (%)	0.1 ± 0.2	-1.2 ± 0.2	.003

Note: Groups I and II were administered WT and hTrx-1 lettuce-containing diets, respectively. p values: groups I versus II. n = 4 male Akita mice for group I and 5 male Akita mice for group II.

Table

WT: 野生レタス含有食、
hTrx-1: チオレドキシニン-レタス含有食

②チオレドキシニン-レタス食餌負荷による小腸杯細胞数と細胞面積の増加

マウス小腸上部を単離し、4%PFA 固定後、HE 染色および AB-PAS 染色により小腸組織と杯細胞を染色し、チオレドキシニン-レタス群で杯細胞の数と面積が有意に増加していることが明らかとなった(図1)。

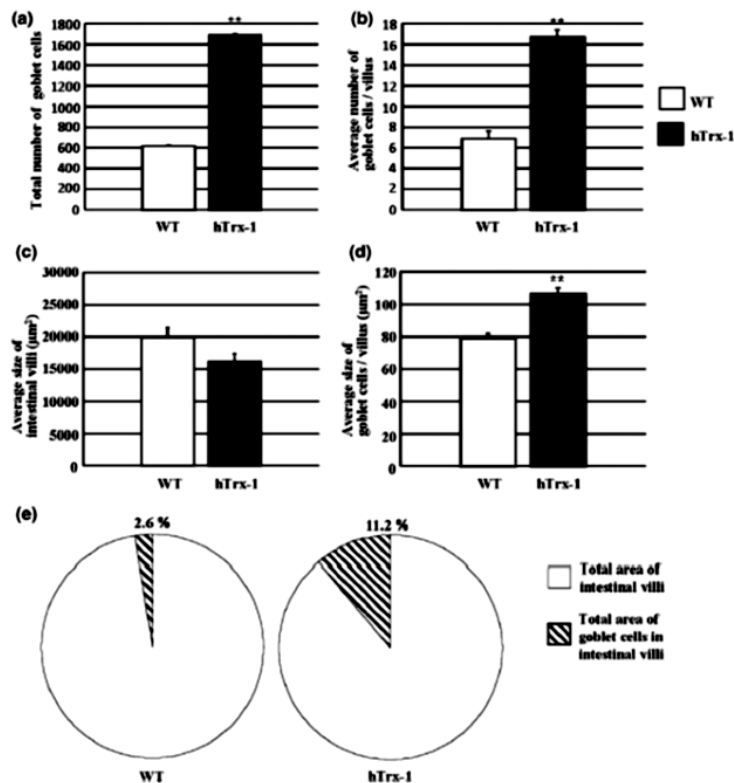
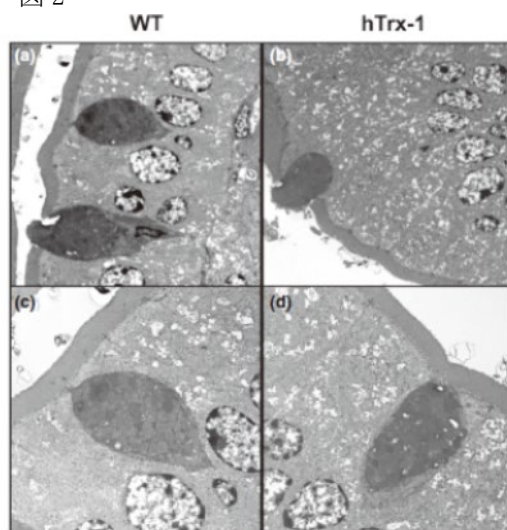


図 1

FIGURE The number and size of goblet cells in the intestinal villi are elevated by feeding Akita mice with an hTrx-1 lettuce diet. (a-d) Open column: WT and closed column: hTrx-1 lettuce diets. n = 101 villi for the WT and 102 villi for the hTrx-1 lettuce diet in the small intestines, respectively. (a) Total number of goblet cells in the villi. (b) The number of goblet cells in the villus between the small intestines. (c) The average area of the villi. (d) The goblet cell area in the villus between the small intestines. (e) The area proportion of the goblet cells between the intestinal villi

③小腸杯細胞ムチン分泌の開口放出

図 2



チオレドキシシン-レタス群とコントロール群の比較では、杯細胞ムチン分泌の開口放出に大きな影響は認められなかった(図 2)。

FIGURE Transmission electron microscopic images of the small intestine between the WT lettuce- and hTrx-1 lettuce diet-fed Akita mice showing similar morphologies of mucus granules. (a, c) WT and (b, d) hTrx-1 lettuce-containing diets, respectively. Magnification = (a, b) 579x, (c, d) 3,550x

以上のことから、チオレドキシシン-レタス食によるチオレドキシシン-1 は、小腸杯細胞のムチン分泌過程ではなく、杯細胞の増殖分化誘導に影響することで、血糖コントロールを改善したと考えられた。また、この杯細胞の増殖分化誘導は、市販の食用野菜である紫キャベツ(アブラナ科野菜で、スルフォラファンによりチオレドキシシン 1 遺伝子が発現)と野生マウスで検証しても同様に認められた(データ省略)。

食品由来の低分子抗酸化物による腸管組織での細胞増殖分化誘導を介した血糖コントロール制御として、小腸杯細胞の関与が初めて判明し、食品成分の小腸でのより詳細な作用応答の解明につながる成果を得ることが出来た。また、チオレドキシシン-1 は、小腸細胞内には移行せず、細胞外で作用していることも明らかとなっている(データ省略)。本研究成果は、超高齢化社会で激増している生活習慣病問題といった医学研究分野への研究や、食物アレルギーなど栄養学・食品学分野の研究に貢献するが、まだ分子メカニズムの解明が不十分であり、今後の検討課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 2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 渡邊理江、森岡優衣、儀間章託、坂本実由、小原瑞祈、松永祐輔	4. 巻 15(3)
2. 論文標題 津山産アビオスの消化器系組織への影響	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 機能性食品と薬理栄養	6. 最初と最後の頁 154-155
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Watanabe R, Ashida H, Miura KM, Yokota A, Yodoi J	4. 巻 9(8)
2. 論文標題 Effect of chronic administration with human thioredoxin-1 transplastomic lettuce on diabetic mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Food Science & Nutrition	6. 最初と最後の頁 4232-4242
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/fsn3.2391	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

1. 著者名 渡邊理江、儀間章託、森岡優衣、小原瑞祈、坂本実由、松永祐輔	4. 巻 14(3)
2. 論文標題 津山産アビオスの血糖コントロールへの影響	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 機能性食品と薬理栄養	6. 最初と最後の頁 168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 渡邊理江、蘆田弘樹、増谷弘、三浦美樹子、横田明穂、淀井淳司	4. 巻 13(3)
2. 論文標題 低分子抗酸化物含有食による糖尿病モデルマウス血糖コントロールの改善	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 機能性食品と薬理栄養	6. 最初と最後の頁 180
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 喜瀬由李代、城間胡伊子、玉川直実、渡邊理江	4. 巻 10(6)
2. 論文標題 酸化ストレスと機能性食品	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 機能性食品と薬理栄養	6. 最初と最後の頁 374-382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Watanabe R, Gima S, Morioka Y, Yamamoto S, Hayashi K, Matsunaga Y
2. 発表標題 Influence of a long-term diet including Tsuyama-grown apios on gastrointestinal function
3. 学会等名 22nd IUNS-International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊理江、森岡優衣、儀間章託、坂本実由、小原瑞祈、松永祐輔
2. 発表標題 津山産アピオスの消化器系組織への影響
3. 学会等名 日本機能性食品医用学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 儀間章託、森岡優衣、小原瑞祈、坂本実由、山本汐里、林 香里、松永祐輔、渡邊理江
2. 発表標題 津山産アピオス長期摂取の小腸機能への影響
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊理江, 儀間章託, 森岡優衣, 小原瑞祈, 坂本実由, 松永祐輔
2. 発表標題 津山産アビオスの血糖コントロールへの影響
3. 学会等名 日本機能性食品医用学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊理江, 蘆田弘樹, 増谷 弘, 三浦美樹子, 横田明穂, 淀井淳司
2. 発表標題 低分子抗酸化物質含有食による糖尿病モデルマウス血糖コントロールの改善
3. 学会等名 日本機能性食品医用学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊理江, 梶岡陽菜, 山本悠介, 山本鈴, 砂辺梨湖, 安達沙希, 赤嶺三奈, 儀間章託, 馬越阿佑美, 森岡優衣, 松永祐輔
2. 発表標題 アビオス食餌負荷による膵ラ氏島への影響
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊理江, 曾田一美, 高橋友梨, 吉里優海, 中村奎史, 黄詩琦, 大城璃紗, 西川愛, 若月ふゆみ
2. 発表標題 紫キャベツ食餌負荷による血糖コントロールの影響
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村奎史、吉里優海、高橋友梨、曾田一美、松永祐輔、渡邊理江
2. 発表標題 アピオス食餌負荷による血糖コントロールの影響
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊理江、蘆田弘樹、増谷弘、三浦美樹子、横田明穂、淀井淳司
2. 発表標題 チオレドキシン-1 高含有食による糖尿病モデルマウス血糖コントロールの改善
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>日本の身土不二：美作地域の“アピオス” https://shindofuji-nippon.com/supplement/2255/</p> <p>美作大学・美作大学短期大学部リポジトリ https://mimasaka.repo.nii.ac.jp/</p>

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
研究協力者	淀井 淳司 (Yodoi Junji)		

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
---------	---------