

令和 4 年 4 月 2 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09022

研究課題名(和文)GIP分泌を抑制する栄養素の探索と作用機序の解明

研究課題名(英文) Search for nutrients which suppress GIP secretion and investigation of its mechanism

研究代表者

原田 範雄 (HARADA, NORIO)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：50530169

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：脂肪の分解・吸収・蓄積に関わる消化管ホルモンGIPとCCKの分泌を抑制する栄養素として中鎖脂肪トリグリセリド(MCT)を同定した。MCTは長鎖脂肪酸トリグリセリド(LCT)摂取時のGIPとCCK濃度を抑制し、食欲抑制作用を有するGLP-1分泌を抑制しなかった。この機序は、中鎖脂肪酸が長鎖脂肪酸誘導性のGPR120を抑制することであった。MCTの摂取は高LCT食負荷肥満マウスの体重を抑制し、インスリン感受性を高めた。GIP欠損マウスの検討では、この作用は認めなかった。よってMCTはGPR120シグナル阻害を介してGIP分泌を抑制し、高脂肪肥満下の肥満・インスリン抵抗性を改善すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦では、高脂肪食を特徴とする食の欧米化を背景として、軽微な肥満であっても糖尿病を発症する患者が本邦で急増している。本研究から消化管ホルモン分泌制御を介した肥満・糖尿病治療のための新たな食品や創薬につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Medium-chain triglyceride (MCT) was identified as a nutrient that suppresses the secretion of intestinal hormone GIP and CCK, which are involved in the decomposition, absorption, and accumulation of fat. MCT suppressed GIP and CCK levels after long-chain fatty acid triglyceride (LCT) ingestion, but not suppress GLP-1 secretion which has an appetite-suppressing effect. The mechanism was that medium-chain fatty acids suppress long-chain fatty acid-induced GPR120 signaling. Ingestion of MCT suppressed the body weight and increased insulin sensitivity of obese mice in high-LCT diet (HFD)-fed obese wild-type mice. This effect was not observed in GIP-deficient mice. Therefore, MCT improves obesity and insulin resistance through suppression of GIP secretion via inhibition of GPR120 signaling under HFD feeding condition.

研究分野：代謝学

キーワード：消化管ホルモン 高脂肪食 肥満 インスリン抵抗性 インクレチン

1. 研究開始当初の背景

高脂肪食を特徴とする食の欧米化を背景として、軽微な肥満であっても糖尿病を発症する患者が本邦で急増している。「高脂肪食摂取による肥満・インスリン抵抗性増大」の機序解明と対策が喫緊の課題である。食事に含まれる「脂肪」は、炭素鎖 (C)14 以上の長鎖脂肪酸 (long-chain fatty acid [LCFA]) で構成される長鎖脂肪酸トリグリセリド (long-chain fatty acid triglyceride: LCT) である。中鎖脂肪酸トリグリセリド (medium-chain fatty acid triglyceride: MCT) は、C6-12 の中鎖脂肪酸 (medium-chain fatty acid [MCFA]) とグリセリンで構成される LCT と同じエネルギー価を有する経口摂取可能な脂肪である。MCT は腸管内に存在するリパーゼによって切断されて腸管に直接吸収され、門脈を介して肝臓で速やかに代謝されることが報告されている。ヒトのメタ解析から、MCT 摂取が LCT 摂取と比較して体重や体脂肪量の増加を減少させることが知られていた。げっ歯類の検討から、MCT 摂取は肝臓内の脂質合成に関わる遺伝子発現を抑制し、褐色脂肪内の uncoupling protein 1 (UCP1) や $\beta 3$ アドレナリン受容体発現を増加させて体脂肪やインスリン抵抗性を軽減することが報告されている。しかし MCT の消化管ホルモン分泌に対する影響については不明な点が多い。研究者は、野生型マウスに LCT としてオリーブオイル、ラードオイルを MCT として MCT オイル (カプリル酸 25%、カプリン酸 75%) を経口投与して GIP の血中濃度を測定したところ、GIP 濃度は LCT 摂取後に上昇するが、MCT 摂取は腸管内分泌 K 細胞からの GIP 分泌を全く誘導しないことを見出した。加えて MCT と LCT と同時摂取は、LCT の単独摂取に比較して有意に GIP 血中濃度を低下させることが判明した。以上から、MCT は LCT 摂取後の GIP 分泌を抑制することが明らかとなった。しかし MCT の吸収部位 (胃または小腸) やその過程なども一定の見解が得られていない上に、MCT の LCT 誘導性の GIP 分泌抑制の機序は全く不明である。また長期 MCT 摂取が GIP 分泌を抑制して肥満やインスリン抵抗性を改善するかも不明である。

2. 研究の目的

本研究では、消化管内での MCT の分解や吸収過程を明らかにして、LCT 誘導性の GIP 分泌を抑制する機序についてマウスや腫瘍細胞株を用いて解明する。また GIP 遺伝子欠損マウスを用いて、長期 LCT および MCT 摂取後の肥満とインスリン抵抗性に対する GIP の寄与を比較する。

3. 研究の方法

本研究では、1) 消化管内での MCT の分解や吸収過程の解明、2) MCT が LCT 誘導性の GIP 分泌を抑制する機序解明、3) 長期 LCT および MCT 摂取後の肥満とインスリン抵抗性に対する GIP の寄与について検討を行った。

1) 消化管内での MCT の分解や吸収過程の解明

12 週齢 C57/BL6J マウスに MCT (MCT オイル) または LCT (オリーブオイル) 経口投与後、薄層クロマトグラフィーを用いて胃、十二指腸、空腸、回腸中のトリグリセリド (TG)、ジグリセリド

(DG), モノグリセリド (MG), 脂肪酸 (FA)を評価した。ガスクロマトグラフィーを用いて MCT 経口投与後の門脈内 MCT 由来脂肪酸 (MCFA)を評価した。また吸収部位の同定のため, 胃または小腸結紮マウスを用いて MCT 管腔内投与後の門脈血中 MCFA を評価した。また MCT 吸収時のリパーゼの必要性を確認するため, 結紮マウスへの MCT+リパーゼ阻害薬の管腔内投与後の門脈血中 MCFA を評価した。加えて MCT 経口投与後の腸管内リパーゼ活性および胆嚢径を評価した。

2) MCT が LCT 誘導性の GIP 分泌を抑制する機序解明

12 週齢 C57/BL6J マウスを用いて LCT (オリーブオイル [10mL/kg])および混合オイル (オリーブオイル [10mL/kg] + MCT オイル [3mL/kg])単回投与後の血中 GIP 濃度, 腸管内リパーゼ活性, 胆嚢収縮量を測定した。摂取した MCT の腸管での分解・吸収過程を評価した。マウス小腸細胞株 STC-1 と脂肪酸受容体 GPR120 および GPR40 発現 HEK293 細胞を用いて LCFA (α リノレン酸), MCFA (カプリル酸, カプリン酸)刺激後の CCK 分泌と細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定した。

3) 長期 LCT および MCT 摂取後の肥満とインスリン抵抗性に対する GIP の寄与

6 週齢 WT および GIP 欠損 (KO)マウスに 45%高脂肪食を 12 週間負荷し, 1 日 1 回の生理食塩水 (コントロール群)または MCT オイル (MCT 群)のゾンデによる経口投与を行った。体重, 随時血中 GIP 濃度を測定し, 高脂肪食荷終了後に CT による体脂肪量, エネルギー消費量を測定した。またインスリン負荷試験, 経口ブドウ糖負荷試験を行った。

4 . 研究成果

1) 消化管内での MCT の分解や吸収過程の解明

LCT 経口投与後に胃内で TG のみが検出され, 各小腸部位内で TG、DG、MG、FA が検出された。一方で MCT 経口投与後の胃内で TG のみを検出したが, 各小腸部位内で TG、DG、MG、FA は検出されなかった。MCT 経口投与後に門脈血中に MCFA が確認された。食道-幽門部 胃結紮マウス胃内への MCT 投与後、MCFA は検出されなかった。一方で十二指腸球部-Treitz 靱帯直下 小腸結紮マウス小腸内への MCT 投与後、MCFA は検出された。またリパーゼ阻害薬存在下での小腸内への MCT 投与の検討では、MCFA は検出されなかった。LCT 経口投与後の小腸内リパーゼ活性と胆嚢径は、コントロール群 (saline)と比較して有意な活性上昇と収縮を認めしたが、MCT 投与群とコントロール群間では有意な差を認めなかった。

2) MCT が LCT 誘導性の GIP 分泌を抑制する機序解明

混合オイル投与では, LCT オイルに比較して GIP 分泌と CCK 作用 (腸管内リパーゼ活性, 胆嚢収縮量)の低下を認めた。そして CCK アゴニストは, 混合オイル投与後の CCK 作用と GIP 分泌の低下を完全に回復させた。STC-1 細胞では, LCFA は CCK 分泌を誘導するが, 中鎖脂肪酸は CCK 分泌を誘導しなかった。そして中鎖脂肪酸の添加によって LCFA 誘導性の CCK 分泌が低下した。LCFA は GPR120 および GPR40 発現 HEK293 細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させたが, MCFA は上昇させな

った。そして MCFA は GPR120 発現細胞において LCFA 誘導性の細胞内 Ca^{2+} 濃度を低下させたが、GPR40 発現細胞では低下させなかった。従って、MCFA は、長鎖脂肪酸に対して競合的に GPR120 シグナルを阻害し、CCK 分泌を低下させることが示された。そして MCT は、CCK 作用の低下を介して LCT 摂取時の GIP 分泌を抑制した。

3) 長期 LCT および MCT 摂取後の肥満とインスリン抵抗性に対する GIP の寄与

WT マウスの MCT 群は、コントロール群と比較して随時血中 GIP 濃度は優位に低下した。一方、GIPKO マウスの GIP 血中濃度は、測定感度以下であった。WT マウスにおいて、MCT 群の体重と体脂肪量はコントロール群と比較して有意に低下した。一方、GIP KO マウスにおいて、体重と体脂肪量は 2 群間で有意差を認めなかった。WT マウスのインスリン感受性、エネルギー消費量は、コントロール群と比較して MCT 群で有意に高かったが、GIP KO マウスでは 2 群間に有意差を認めなかった。WT マウス、GIP KO マウスにおいて経口ブドウ糖負荷後の血糖値は、2 群間で有意差を認めなかった。WT マウスにおいて負荷 15 分後のインスリン濃度は、MCT オイル群でコントロール群と比較して有意に低下した。一方、GIP KO マウスにおいてインスリン濃度に 2 群間の有意差は認められなかった。よって、長期高脂肪食摂取下の MCT オイルによる GIP 分泌の抑制は、肥満とインスリン抵抗性を軽減することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Kato T, Harada N, Ikeguchi-Ogura E, Sankoda A, Hatoko T, Lu X, Yasuda T, Yamane S, Inagaki N.	4. 巻 66
2. 論文標題 Gene expression of nutrient-sensing molecules in I cells of CCK reporter male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Mol Endocrinol.	6. 最初と最後の頁 11-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/JME-20-0134	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 -
1. 著者名 Fujiwara Y, Yamane S, Harada N, Ikeguchi E, Usui R, Nakamura T, Iwasaki K, Suzuki K, Yabe D, Hayashi Y, Inagaki N.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Carbonic anhydrase 8 (Car8) negatively regulates GLP-1 secretion from enteroendocrine cells in response to long-chain fatty acids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.	6. 最初と最後の頁 1-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00312.2020	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 -
1. 著者名 Harada N.	4. 巻 11
2. 論文標題 Effects of metformin on blood glucose levels and bodyweight mediated through intestinal effects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 1420-1421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13301. Epub 2020 Jun 19	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 -
1. 著者名 Gobron B, Bouvard B, Vyavahare S, Blom LVV, Pedersen KK, Windel JA, Boer GA, Harada N, Zhang S, Shimazu-Kuwahara S, Wice B, Inagaki N, Legrand E, Flatt PR, Chappard D, Hartmann B, Holst JJ, Rosenkilde MM, Irwin N, Mabilieu G	4. 巻 35
2. 論文標題 Enteroendocrine K Cells Exert Complementary Effects to Control Bone Quality and Mass in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Bone Miner Res.	6. 最初と最後の頁 1363-1373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.4004. Epub 2020 Mar 24	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 -

1. 著者名 Kanemaru Y, Harada N, Shimazu-Kuwahara S, Yamane S, Ikeguchi E, Murata Y, Kiyobayashi S, Hatoko T, Inagaki N.	4. 巻 245
2. 論文標題 Absence of GIP secretion alleviates age-related obesity and insulin resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Endocrinol.	6. 最初と最後の頁 13-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/JOE-19-0477	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 -

1. 著者名 Sankoda A, Harada N, Kato T, Ikeguchi E, Iwasaki K, Yamane S, Murata Y, Hirasawa A, Inagaki N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Free fatty acid receptors, G protein-coupled receptor 120 and G protein-coupled receptor 40, are essential for oil-induced gastric inhibitory polypeptide secretion.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 1430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13059	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 -

1. 著者名 Murata Y, Harada N, Kishino S, Iwasaki K, Ikeguchi-Ogura E, Yamane S, Kato T, Kanemaru Y, Sankoda A, Hatoko T, Kiyobayashi S, Ogawa J, Hirasawa A, Inagaki N.	4. 巻 24
2. 論文標題 Medium-chain triglycerides inhibit long-chain triglyceride-induced GIP secretion through GPR120-dependent inhibition of CCK.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience.	6. 最初と最後の頁 102963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102963.	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 -

1. 著者名 Murata Y, Harada N, Yamane S, Iwasaki K, Ikeguchi E, Kanemaru Y, Harada T, Sankoda A, Shimazu-Kuwahara S, Joo E, Poudyal H, Inagaki N.	4. 巻 317
2. 論文標題 Medium-chain triglyceride diet stimulates less GIP secretion and suppresses body weight and fat mass gain compared with long-chain triglyceride diet.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Physiol Endocrinol Metab.	6. 最初と最後の頁 53
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 -

1. 著者名 Harada N, Inagaki N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Regulation of food intake by intestinal hormones in brain.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13708.	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 -

[学会発表] 計15件(うち招待講演 7件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 原田 範雄, 稲垣 暢也
2. 発表標題 消化管ホルモンを介した脂肪摂取後の肥満形成について
3. 学会等名 第41回日本肥満学会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原田 範雄
2. 発表標題 栄養素に対するインクレチン分泌機序
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原田 範雄
2. 発表標題 栄養素に対するインクレチン分泌機序
3. 学会等名 第54回糖尿病学の進歩(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kato T, Harada N, Sankoda A, Ukeguchi E, Iwasaki K, Yamane S, Murata Y, Hirasawa A, Inagaki N.
2. 発表標題 Free fatty acid receptors GPR120 and GPR40 are essential for oil-induced GIP secretion.
3. 学会等名 55th EASD Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Kanmaru Y, Harada N, Shimazu-Kuwahara S, Yamane S, Ikeguchi E, Murata Y, Kyo S, Inagaki N.
2. 発表標題 Deficiency of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) secretion alleviates increasing obesity and insulin resistance with aging.
3. 学会等名 55th EASD Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Murata Y, Harada N, Kishino S, Yamane S, Iwasaki K, Ikeguchi E, Kanemaru Y, Kato T, Hatoko T, Kyo S, Ogawa J, Hirasawa A, Inagaki N.
2. 発表標題 Effects of medium-chain triglyceride (MCT) on long-chain triglyceride (LCT)-induced GIP secretion and body weight gain.
3. 学会等名 55th EASD Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 原田 範雄, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 心血管疾患の高リスク糖尿病患者の診療について.
3. 学会等名 第56回日本糖尿病学会近畿地方会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 原田 範雄, 山根 俊介, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 栄養素に対するインクレチン分泌機序.
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 村田 由貴, 原田 範雄, 岸野 重信, 山根 俊介, 岩崎 可南子, 加藤 朋子, 池口 絵理, 金丸 良徳, 波床 朋信, 許 櫻華, 小川 順, 平澤 明, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 中鎖脂肪酸トリグリセリドは長鎖脂肪酸トリグリセリド摂取時のGIP分泌を抑制し肥満を軽減する.
3. 学会等名 第40回日本肥満学会学術集会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 金丸 良徳, 原田 範雄, 桑原 智子, 山根 俊介, 池口 絵理, 村田 由貴, 許 櫻華, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 GIP分泌の欠損は経年に伴う体重および脂肪量の増加を抑制する.
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 加藤 朋子, 原田 範雄, 池口 絵里, 三小田 亜希子, 波床 朋信, 山根 俊介, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 CKレポーターマウスを用いた腸管内分泌細胞の可視化と遺伝子発現の評価.
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 池口 絵理, 原田 範雄, 金丸 良徳, 三小田 亜希子 山根 俊介, 岩崎 可南子, 今城 正道, 村田 由貴, 鈴木 和代, 城尾 恵里奈, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 転写因子Pdx1は小腸内のGIP遺伝子を制御して加齢に伴うGIP分泌亢進に関与する.
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 KatoT, Harada N, Sankoda A, Ikeguchi E, Iwasaki K, Yamane S, Hirasawa A, Inagaki N.
2. 発表標題 Free fatty acid receptor GPR120 and GPR40 are essential for oil-induced GIP secretion.
3. 学会等名 11th AASD Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 稲垣 暢也, 山根 俊介, 原田 範雄.
2. 発表標題 化管の情報発信 -臓器間ネットワークと肥満- GIPと肥満.
3. 学会等名 第40回日本肥満学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 三小田 亜希子, 原田 範雄, 稲垣 暢也.
2. 発表標題 Mechanisms of oil-induced GIP secretion.
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 原田 範雄	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メディカ出版	5. 総ページ数 3
3. 書名 インクレチン関連薬の作用機序. とことんわかる血糖値	

1. 著者名 原田 範雄, 稲垣 暢也	4. 発行年 2020年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 7
3. 書名 開発中の糖尿病治療薬. 血糖管理のための糖尿病治療薬活用マニュアル	

1. 著者名 池口 絵里, 原田 範雄	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 1
3. 書名 リン脂質, 遊離脂肪酸. 検査値を読む2020 内科	

1. 著者名 原田 範雄, 稲垣 暢也.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 7
3. 書名 開発中の糖尿病治療薬. 糖尿病治療薬活用マニュアル	

1. 著者名 波床 朋信, 原田 範雄.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 ライフメディコム	5. 総ページ数 4
3. 書名 GIPの生理作用. Current therapy	

1. 著者名 三小田亜希子, 原田 範雄.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 糖尿病性腎症重症化予防. 腎臓内科・泌尿器科	5. 総ページ数 6
3. 書名 科学評論社	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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