

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23999

研究課題名（和文）Lipidomics解析を用いた糖尿病発症機構における脂肪酸代謝異常の検討

研究課題名（英文）The role of fatty acid metabolism in the pathogenesis of glucose intolerance

研究代表者

中西 尚子（Nakanishi, Naoko）

京都府立医科大学・医学部附属病院・専攻医

研究者番号：40843446

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、食事の変化による便中および体内の代謝産物や脂肪酸のプロファイルの変化と糖脂質代謝への影響をガスクロマトグラフィーを用いたマウス実験で検討した。水溶性食物繊維のイヌリン投与により糞便および食後の門脈血で酢酸、プロピオン酸の短鎖脂肪酸とコハク酸の増加を認めた。イヌリン群では体重は変わらなかったが、内臓脂肪量の減少と糖代謝の改善を認めた。次に、高脂肪高シヨ糖食と同カロリーで脂質量が同等でシヨ糖量を減らしたマルトデキストリン含有食を摂取したマウスでは、明らかな脂肪肝とインスリン感受性の改善を認めた。本研究により食事の変化による代謝産物と脂肪酸の体内動態、糖脂質代謝への影響が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年腸内細菌が全身に及ぼす影響は国内外で注目されており、慢性炎症とインスリン抵抗性に腸内細菌が関与していることが明らかになっている。また、腸内細菌の発酵による産生される短鎖脂肪酸には多様な生理作用があることが報告されている。本研究では水溶性食物繊維や高シヨ糖食が及ぼす糖脂質代謝への影響を、リポドミクスとメタボロミクスを用いたマウス実験により検討した。水溶性食物繊維による腸内代謝産物の変化と脂肪組織に及ぼす影響および糖代謝改善効果、シヨ糖の減量による脂肪肝とインスリン感受性の改善効果が明らかとなった。脂肪酸の動態を含め、食事療法による糖尿病発症予防機構について新たな知見が得られた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated how dietary changes alter the profiles of metabolites and fatty acids in the stool and body and affect glycolipid metabolism in mice using gas chromatography. Administration of inulin, a soluble dietary fiber, increased short-chain fatty acids of acetic acid and propionic acid and succinic acid in feces and postprandial portal vein blood. In the inulin group, although body weight did not change, visceral fat mass was reduced and glucose metabolism was improved. Next, compared with mice fed a high-fat, high-sucrose diet, mice fed with maltodextrin, which contained the same amount of calorie and fat but less sucrose, showed a clear improvement in fatty liver and insulin sensitivity. This study clarified the effects of dietary changes on the disposition of metabolites and fatty acids and on glycolipid metabolism.

研究分野：内分泌・代謝

キーワード：リポドミクス 糖代謝異常 メタボロミクス 水溶性食物繊維 高シヨ糖食

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国で糖尿病患者数が増加している原因の一つとして食生活の変化による脂質摂取の増加が考えられている。脂質摂取の増加は腸内細菌叢を変化させ、Dysbiosis や小腸内細菌増殖症 (Small intestinal Bacterial Overgrowth, SIBO) を引き起こすことが知られている。糖尿病患者では腸内フローラの Dysbiosis を認め、高脂肪・高シヨ糖食摂取と関連していることを我々は報告している (Hashimoto Y et al. J Diabetes Investig. 2020)。腸内細菌の重要な働きである発酵により難消化性食物繊維から短鎖脂肪酸が産生されるが、短鎖脂肪酸にはインスリン抵抗性改善効果があることが報告されている。各種脂肪酸にはそれぞれ異なったインスリン抵抗性促進もしくは改善作用がある。高脂肪食摂取は腸管内に入る脂肪酸の量を直接的に増加させるだけでなく、腸内フローラの Dysbiosis による脂質代謝機能の異常が加わり、腸内脂肪酸組成を変化させると考えられる。本研究では、脂肪酸が経口摂取後にどのように腸管で代謝・吸収され各臓器に影響するのかを網羅的に解析することにより、糖尿病発症機構における各種脂肪酸の役割を可視化する。

2. 研究の目的

食事により変化する腸管内代謝産物と脂肪酸の体内動態を網羅的に評価することにより食事療法の糖尿病発症予防機構における役割を明らかにする。

3. 研究の方法

研究【1】 8週齢の雄性 C57BL/6J マウスにインスリン含有高脂肪高シヨ糖食 (Inulin)、炭水化物/脂肪/蛋白質比が同一組成で同一量のシヨ糖を含有する高脂肪高シヨ糖食 (Control) を 12 週間餌カロリーが等しくなるよう pair-feed した。19 週齢時にブドウ糖負荷試験で耐糖能を、代謝ケージでエネルギー消費量を評価した。20 週齢時に体重、精巣周囲白色脂肪組織 eWAT (内臓脂肪)・鼠径部皮下白色脂肪組織 sWAT (皮下脂肪)・肩甲骨間褐色脂肪組織 (褐色脂肪) を含めた各臓器の重量と組織学的評価を行い、脂肪組織内の UCP-1 発現を評価するため免疫染色を行った。また、Agilent 7890B/7000D (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) を用いたガスクロマトグラフィー質量分析法により脂肪組織のリピドームと血清・脂肪組織・便中のメタボライトを網羅的に評価した。

研究【2】 高脂肪高シヨ糖食 (HFHSD: 4.6kcal/g, 脂質 40%, シヨ糖 40%, 蛋白 20%) または HFHSD のシヨ糖の一部をデキストリンに置換した食餌 (Dextrin: 4.6kcal/g, 脂質 40%, シヨ糖 32%, マルトデキストリン 8%, 蛋白 20%) で雄性 C57BL/6J マウスを 8 週齢から 20 週齢まで給餌し、体重、脂肪重量、肝脂肪化、腹腔内ブドウ糖負荷試験結果 (IPGTT)、腹腔内インスリン負荷試験結果 (ITT、開始時の血糖値を 100% として結果を補正) を比較した。また、肝臓のリピドームをガスクロマトグラフィー質量分析法により定量した。

4. 研究成果

研究【1】 結果: 両群の体重に有意差は認めなかった。Inulin 群は Control 群と比較して、皮下脂肪量の増加を認めたが、内臓脂肪量は減少していた (図 1)。組織学的検査では内臓脂肪内脂肪滴の小型化を認めた (図 2)。Inulin 群では、ブドウ糖負荷試験で耐糖能の改善を認めた (図 3)。メタボローム解析では Inulin 群において便中および門脈血の短鎖脂肪酸の増加、コハク酸量の有意な増加を認めた。Inulin 群では、内臓脂肪の免疫染色で UCP1 の発現が増加しており、また、代謝測定で暗期のエネルギー消費量の有意な上昇を認めた。インスリン投与により、腸管内で代謝され増加した短鎖脂肪酸は内臓脂肪の脂肪蓄積を減少させ、また、コハク酸は内臓脂肪のエネルギー消費を亢進させたと考えられた。

図 1: 脂肪組織/体重比

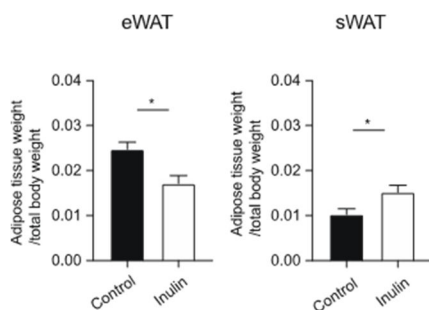


図 2: 内臓脂肪と皮下脂肪の組織学的検査

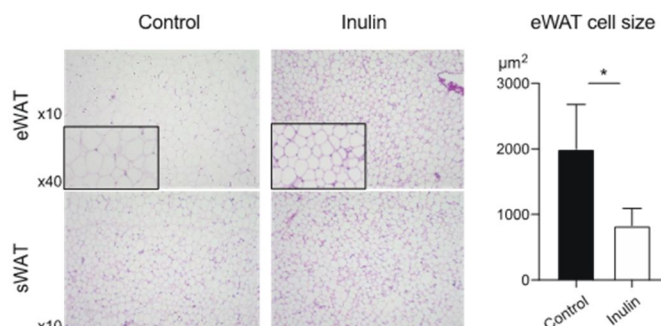


図 3

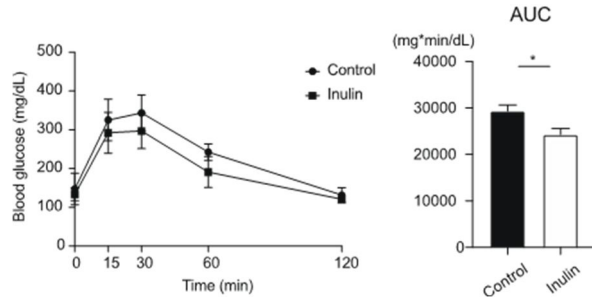
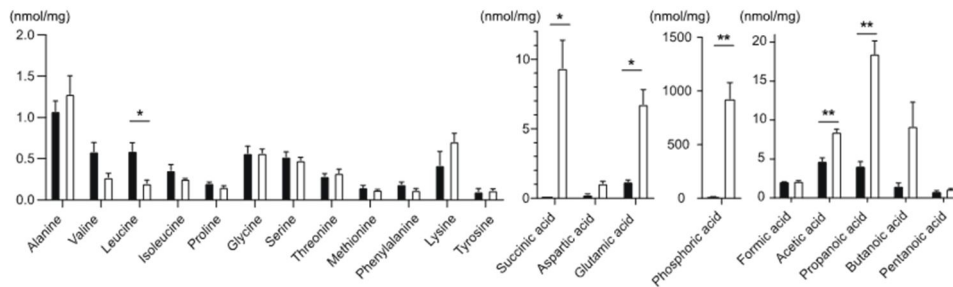
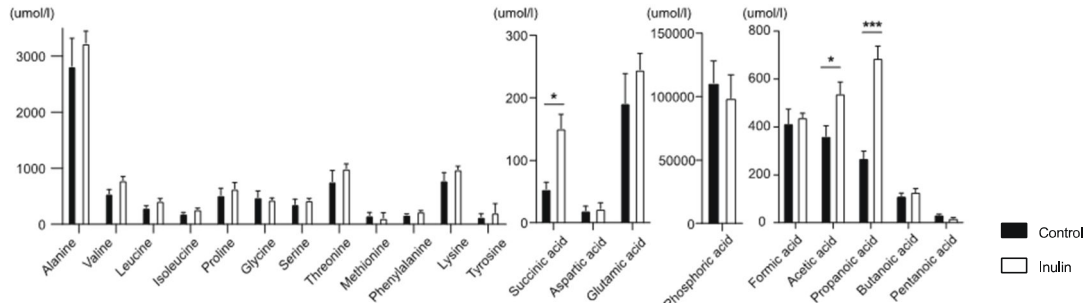


図 4

便中メタボローム解析



門脈血メタボローム解析



研究【2】結果:HFHSD群とDextrin群の食餌摂取量はほぼ同等であった(14.5 g/day, 14.4 g/day)。HFHSD群と比べDextrin群では有意に体重(35.3±2.8 g, 30.8±1.3 g, p=0.005)、精巢上体白色脂肪(1.60±0.40 g, 0.68±0.14 g, p<0.001)、皮下白色脂肪(1.54±0.58 g, 0.31±0.09 g, p<0.001)が少なく、脂肪肝化が軽度であり、IPGTT(図5)とITT(図6)での血糖濃度曲線下面積が低かった。肝臓のリピドーム解析ではステアリン酸などの一部項目を除いて、Dextrin群で肝の各種脂肪酸の含有量が有意に少なかった(図7)。ショ糖の成分の果糖の一部の流入が減少したことにより著明な脂肪肝改善とインスリン抵抗性改善効果が得られたと考えられる。

図 5

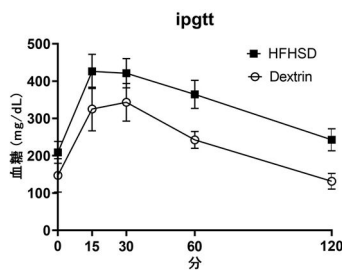


図 6

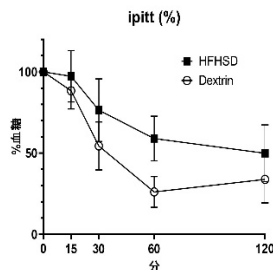


図 7

脂肪酸 ug/g Liver	HFHSD	Dextrin	p 値
laurate(C12:0)	0.42 ± 0.17	0.17 ± 0.09	0.012
myristate(C14:0)	1.5 ± 0.6	0.55 ± 0.16	0.005
palmitate(C16:0)	15.8 ± 8.2	7.7 ± 1.8	0.040
stearate(C18:0)	3.7 ± 0.2	3.7 ± 0.7	0.96
oleate(C18:1(9c))	15.0 ± 10.3	4.7 ± 1.0	0.035
linoleate(C18:2(9c12c))	7.8 ± 1.9	5.5 ± 1.4	0.036
linolenate(C18:3(9c12c15c))	0.27 ± 0.10	0.14 ± 0.05	0.016
C20:2	0.10 ± 0.03	0.054 ± 0.008	0.007
C22:0	0.045 ± 0.006	0.041 ± 0.004	0.24
C20:3n6 エイコサトレン酸	0.52 ± 0.08	0.36 ± 0.08	0.005
C23:0	2.4 ± 0.3	2.5 ± 0.6	0.82
EPA	0.11 ± 0.02	0.086 ± 0.011	0.039
DHA	2.4 ± 0.4	2.7 ± 0.7	0.46

まとめ：

本研究では食事の変化により便中および体内の代謝産物や脂肪酸のプロファイルがどう変化し糖脂質代謝に影響するかについてマウスモデルにおいて検討し、ガスクロマトグラフィーで網羅的分析を行った。水溶性食物繊維のイヌリン投与により、糞便、食後の門脈血で酢酸、プロピオン酸の短鎖脂肪酸とコハク酸の増加を認めた。イヌリン群では体重は変わらなかったが内臓脂肪量の減少と糖代謝の改善を認めた。次に、高脂肪高ショ糖食と同カロリーおよび脂質量が同等でショ糖量を減らしたマルトデキストリン含有食を摂取したマウスでは、明らかな脂肪肝とインスリン感受性の改善を認めた。本研究では食事の変化による代謝産物と脂肪酸の体内動態、糖脂質代謝への影響を明らかにし、食事療法による糖尿病発症予防機構について新たな知見を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中島 華子、中西 尚子、三好 友樹、岡村 拓郎、橋本 善隆、千丸 貴史、牛込 恵美、浅野 麻衣、濱口 真英、山崎 真裕、福井 道明
2. 発表標題 水溶性食物繊維由来の腸内メタボライトは内臓脂肪のエネルギー代謝を調整し耐糖能を改善させる
3. 学会等名 日本糖尿病学会年次集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三好 友樹、中西 尚子、中島 華子、岡村 拓郎、橋本 善隆、福井 道明
2. 発表標題 総摂取エネルギー量が変化しなくともシヨ糖過剰摂取を減らすことでメタボリックシンドローム、肝脂肪化、耐糖能異常は改善する
3. 学会等名 日本糖尿病学会年次集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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