

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(G)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580146

研究課題名（和文）メタボリックシンドローム予防の標的鍵分子、AMP キナーゼを制御する食品因子の研究

研究課題名（英文）Activation of AMP-activated protein kinase using food factors

研究代表者

津田 孝範 (TSUDA TAKANORI)

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号：90281568

研究成果の概要（和文）：

メタボリックシンドロームの増加を食い止め、活力ある高齢化社会を実現するために最も理想的な標的鍵分子である AMP-activated protein kinase (AMP キナーゼ；AMPK) の活性化食品因子の検討と作用機構解明を行い、AMPK を介したメタボリックシンドローム予防を実現するための食品機能学的アプローチを展開する。

研究成果の概要（英文）：

Recent studies show that AMP-activated protein kinase (AMPK) is one of the most important factors for cellular energy balance and is recognized as a potential therapeutic target in the prevention and treatment of type2 diabetes. Food factors can activate AMPK and this activation may potentially have anti-diabetic effects. Therefore, the present study was designed to examine whether the administration of food factors activate AMPK and reduces blood glucose level and improves insulin sensitivity in type 2 diabetic mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：食品機能学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：糖尿病、肥満、食品因子

1. 研究開始当初の背景

国民健康・栄養調査等からも明らかかなよう

に、わが国の肥満とこれに伴うメタボリックシンドロームの増加は深刻である。国民医療費の膨張を食い止め、活力ある高齢化社会を実現するためには、予防の視点からの食品による制御が不可欠である。しかし今のところ対策としては、運動や食事制限以外に有効な手段が見当たらない。

このような状況において、最適な問題解決の方法は、肥満や2型糖尿病に関わる鍵分子を制御して、予防・治療へつなげることである。最近の研究から理想的な標的としてAMP-activated protein kinase (AMPK)が浮かび上がってきた。

AMPKは、5' AMPによって活性化されるセリン・スレオニンキナーゼである。多用な機能を有するが、その役割は細胞内のエネルギー状態の調節であり、その活性化は肥満・糖尿病の予防や抑制につながることを期待できる。

2. 研究の目的

AMPキナーゼ(AMPK)は肥満・2型糖尿病の予防、治療のための最も理想的な標的鍵分子であることから、本研究では、理想的な分子標的、AMPKの活性化作用に関わる食品因子の検討と作用機構解明を行い、AMPKを介したメタボリックシンドローム予防を実現するための科学的基盤の確立を目的とする。

3. 研究の方法

マウス由来筋芽細胞株C2C12あるいはラット由来筋芽細胞株L6を用いた。細胞は定法により筋管細胞へ分化させて、これを骨格筋のモデルとして食品因子を投与後のAMPK α タンパク質の活性化(T172リン酸化)を調べた。

次に絞り込んだ食品因子のAMPK活性化を介した糖・脂質代謝改善効果の立証、メカニズムの解明を試みた。さらに細胞レベルで明らかにすることができたAMPKの活性化作用

に関わる食品因子について、動物個体レベルでのAMPKの活性化を介した2型糖尿病における血糖値上昇抑制、インスリン感受性の上昇作用を検証した。

具体的には、2型糖尿病予防効果の立証として、2型糖尿病モデルであるKK-*A*マウスに試料を摂取させた。血糖値、インスリン感受性試験からの糖尿病予防効果の検証とその機構として筋、肝組織でのAMPK活性化と関連分子を検討、立証した。

4. 研究成果

筋管細胞をモデルとして種々の食品因子によるAMPKの活性化を検討した。その結果、数種の食品因子については、AMPKの活性化作用を有することを明らかにした。また肝細胞でも同様に検討したところ、必ずしも両方の細胞で活性化作用を示すのではなく、細胞ひいては臓器特異性があることが推測された。

AMPKの活性化作用を有する食品因子について、その活性化メカニズムについて検討を試みた。その結果、細胞内のエネルギーバランスの指標として考えられるAMPやATPの細胞内濃度と活性化作用との相関が認められないことから、AMPKの活性化作用は別の因子が関与していると考えられた。

引き続き筋管細胞を用いてこれまでに絞り込んだAMPK活性化食品因子についてさらに検討を進めた。すなわちAMPKを介した糖・脂質代謝改善効果の検討を行った結果、細胞への糖の取り込みの上昇、AMPKの下流因子であり、脂肪合成に関与するアセチルCoAカルボキシラーゼのリン酸化(Ser79)を促進することを明らかにした。

AMPK活性化メカニズムについては、AMPKはエネルギーセンサーであり、細胞内ATPの低下に反応する。そこで細胞内AMP/ATP比を定量した。しかしながらこのAMPK活性化に

は細胞内 AMP/ATP 比は関係していなかった。

これまでに絞り込んだAMPK活性化食品因子として、アントシアニンを選定し動物個体での検討を進めた。

アントシアニンの摂取は2型糖尿病モデルマウスにおいて、血糖値上昇を有意に抑制した。このとき、血清アディポネクチン濃度や白色脂肪組織での遺伝子発現レベルには有意な差が認められなかった。そこで細胞レベルでの結果に基づきAMPKの点から検討した。その結果、各組織において、肝臓でのAMPK活性化と糖新生の抑制が認められた。骨格筋においても同様にAMPKの活性化作用と糖輸送体4の上昇が認められた。

以上の結果からこれまでの細胞での成果を反映して動物個体においても AMPK 活性化作用とこれに伴う糖尿病モデルでの作用、メカニズムを確認するにいたった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① M. Takikawa, S. Inoue, F. Horio, T. Tsuda Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. *J. Nutr.* 2010, 140: 527-533. 査読有
- ② 津田孝範 アントシアニンの抗酸化効果と目の健康 *Functional Food* 2009, 3(1): 32-37. 査読無
- ③ T. Tsuda Prevention of obesity and type2 diabetes associated with metabolic syndrome using some plant-based food factors. *Proceedings of the tropical fruits in human nutrition and Health conference2008.* 2009, p.77-87. 査読無
- ④ 津田孝範 ショウガの辛味成分—化学、

生理機能とその活用— フードリサーチ 2009, 2009(2): 22-25. 査読無

- ⑤ Y. Isa, Y. Miyakawa, M. Yanagisawa, T. Goto, M.S. Kang, T. Kawada, Y. Morimitsu, K. Kubota, T. Tsuda. 6-Shogaol and 6-gingerol, the pungent of ginger, inhibit TNF- α mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008, 373: 429-434. 査読有
- ⑥ 津田孝範 2 型糖尿病の予防を目指して—食品機能研究からのアプローチ— *フードリサーチ* 2008, 2008 (10): 12-17. 査読無
- ⑦ 津田孝範 サプリメントサイエンスセミナー ⑤ アントシアニン (Anthocyanin) あたらしい眼科 2008, 25(10): 1393-1395. 査読無
- ⑧ 津田孝範 広がりつつあるサプリメントを理解する—腎不全患者に活用するために— 各論② アントシアニン (Anthocyanin) *臨床透析* 2008, 24(13): 1740-1741. 査読無

[学会発表] (計 36 件)

- ① 中込 泉、山乙教之、合田浩明、熊澤茂則、津田孝範、広野修一 2011年3月 アディポネクチン発現低下を抑制するプロポリス成分化合物とPPAR γ LBDの相互作用解析 日本薬学会第131年会(静岡) 2011年3月29日(震災により開催中止、発表は成立) .
- ② 張天順、北野嶺、吉田正、戸田登志也、津田孝範、芦田均 2011年3月 黒大豆種皮抽出物の変異原性と抗変異原性について 日本農芸化学会 2011 年度大会 (京都) 2011年3月26日. (震災により開催中止、発表は成立)
- ③ 山下陽子、金本優紀、難波文男、吉田正、

- 津田孝範、鶴田(中村)祥子、芦田均 黒豆種皮抽出物の肥満抑制作用機構の解明 日本農芸化学会 2011 年度大会(京都) 2011 年 3 月 26 日。(震災により開催中止、発表は成立)
- ④ 滝川雅仁、安田龍司、中根康貴、福島洋一、江頭健二、高橋祥子、加藤久典、津田孝範 コーヒー摂取による糖尿病抑制作用とメカニズム解明 日本農芸化学会 2011 年度大会(京都) 2011 年 3 月 27 日。(震災により開催中止、発表は成立)
- ⑤ 史文磊、待井沙織、中村早岐、永峰里花、鏑田仁人、高垣欣也、比良徹、原博、津田孝範 甘藷若葉「すいおう」は耐糖能を改善する 日本農芸化学会 2011 年度大会(京都) 2011 年 3 月 27 日。(震災により開催中止、発表は成立)
- ⑥ 池田理恵、柳沢政由、高橋信之、河田照雄、熊沢茂則、広野修一、津田孝範 プロポリス由来成分の脂肪細胞に対する作用とその機構解明 日本農芸化学会 2011 年度大会(京都) 2011 年 3 月 26 日。(震災により開催中止、発表は成立)
- ⑦ 栗本雄太、井上聖哉、滝川雅仁、上田学、芦田均、津田孝範 黒大豆成分の血糖値上昇抑制作用とその機構解析 日本農芸化学会 2011 年度大会(京都) 2011 年 3 月 26 日。(震災により開催中止、発表は成立)
- ⑧ 津田孝範 ショウガの化学、生理機能とその活用 全国漬物検査協会 第 20 回漬物技術セミナー(東京都江東区森下文化センター) 2011 年 3 月 14 日。
- ⑨ 津田孝範 ビルベリーの機能性開発ー糖尿病抑制作用と作用機序ー 科学技術交流財団第 5 回アントシアニン研究会(名古屋市・第二豊田ビル) 2011 年 2 月 8 日。
- ⑩ 津田孝範 糖尿病予防食品の開発ー食品機能学からのアプローチー イノベーションジャパン 2010(東京国際フォーラム) 2010 年 9 月 29 日～10 月 1 日
- ⑪ 津田孝範 糖尿病と食品ー食品機能研究からのアプローチー 日本植物学会第 74 回大会関連集会(愛知県春日井市・中部大学) 2010 年 9 月 9 日。
- ⑫ 柳沢政由、杉谷昌祐、津田孝範 大豆イソフラボンの脂肪細胞機能に対する作用とそのメカニズムの解析 日本食品科学工学会第 57 回大会(東京農業大学) 2010 年 9 月 2 日。
- ⑬ 津田孝範、池田理恵、杉谷昌祐、柳沢政由、岡田直也、高橋信之、河田照雄、熊沢茂則 プロポリス由来成分の脂肪細胞に対する作用とその機構の解析 第 64 回日本栄養・食糧学会大会(アスティ徳島) 2010 年 5 月 16 日
- ⑭ 平田晴実、土田綾乃、小池麻友美、上田学、芦田均、津田孝範 食品因子による AMPキナーゼ活性化作用とその作用機序の解明 第 64 回日本栄養・食糧学会大会(アスティ徳島) 2010 年 5 月 16 日。
- ⑮ 平田晴実、土田綾乃、小池麻友美、上田学、芦田均、津田孝範 AMPキナーゼの活性化に関わる食品因子の検討とその作用メカニズムの解析 日本農芸化学会 2010 年度大会(東京大学) 2010 年 3 月 28 日。
- ⑯ 津田孝範 すいおうの血糖値改善作用とその作用メカニズムの解明 新品種産業化研究会 第 2 回「すいおう」シンポジウム(東京・TKP大手町カンファレンスセンター) 2010 年 3 月 4 日。
- ⑰ 津田孝範 アントシアニンの化学と機能ーサプリメントとしての可能性ー 第 3 回眼抗加齢医学研究会講習会 ランチオンセミナー(東京ステーション不コンファレンス) 2009 年 11 月 3 日。
- ⑱ T. Tsuda, R. Sasaki, Y. Isa Prevention of

- type2 diabetes associated with metabolic syndrome using some plant-based food factors. 19th International Congress of Nutrition (Bangkok, Thailand) 2009年10月9日.
- ⑲ M. Tsutsui, I Fukuda, T. Yoshida, T. Toda, T. Tsuda, H. Ashida Safety Assessment of Extract of Black Soybean Seed Coat: Acute and Chronic Toxicity Studies. International Workshop on Anthocyanins2009 (Nagoya). 2009年9月17日.
- ⑳ Y. Kanamoto, F. Nanba, T. Yoshida, T. Toda, T. Tsuda, I. Fukuda, H. Ashida Black Soybean Seed Coat Prevents Obesity in High-fat Diet-fed Mice. International Workshop on Anthocyanins2009 (Nagoya). 2009年9月17日.
- ㉑ T. Tsuda Anthocyanin as a Functional Food Factor - Prevention of Type2 Diabetes and Its Mechanism - International Workshop on Anthocyanins2009 (Nagoya) 2009年9月16日. (Invited speaker)
- ㉒ 滝川雅仁、井上聖哉、中山義隆、堀尾文彦、津田孝範 2009年9月 ビルベリー果実抽出物の2型糖尿病抑制作用と機構解明 日本食品科学工学会第56回大会(名古屋・名城大学) 2009年9月11日.
- ㉓ 津田孝範 食品因子の機能研究、価値創造から食品開発へ 第6回サプリメント研究会(岐阜県・じゅうろくプラザ) 2009年8月22日.
- ㉔ 津田孝範 おいしくてカラダによいカシスの魅力 1. アントシアニンの可能性 第63回日本栄養・食糧学会大会ランチョンセミナー(長崎ブリックホール他) 2009年5月22日
- ㉕ 柳沢政由、杉谷昌祐、津田孝範 大豆イソフラボンの脂肪細胞に対する作用とそのメカニズム 第63回日本栄養・食糧学会大会(長崎ブリックホール他) 2009年5月22日
- ㉖ 滝川雅仁、井上聖哉、中山義隆、堀尾文彦、津田孝範 ビルベリー抽出物の2型糖尿病抑制作用とそのメカニズムの解析 第63回日本栄養・食糧学会大会(長崎ブリックホール他) 2009年5月22日.
- ㉗ 柳沢 政由・杉谷 昌祐・津田 孝範 大豆イソフラボンの脂肪細胞に対する作用とその機構の解析 日本農芸化学会 2009年度大会(マリンメッセ福岡) 2009年3月28日.
- ㉘ 滝川 雅仁・井上 聖哉・中山 義隆・津田 孝範 ビルベリー抽出物の2型糖尿病抑制機能とその作用機構 日本農芸化学会 2009年度大会(マリンメッセ福岡) 2009年3月28日.
- ㉙ 津田孝範 アントシアニンをはじめとする食品因子の生理機能開発 第2回機能食品開発セミナー(ホテルグランヴィア京都) 2008年12月3日.
- ㉚ 津田孝範 食品機能研究から糖尿病予防食品の開発へ バイオビジネスびわ湖 びわこバイオフォーラム「食品成分の機能開発と新産業創出」(長浜バイオ大学) 2008年11月5日.
- ㉛ T. Tsuda. Prevention of obesity and type2 diabetes associated with metabolic syndrome using some plant-based food factors. Tropical fruits in human nutrition and health conference. (Couran Cove Island Resort, Queensland, Australia). 2008年11月11日(Invited speaker).
- ㉜ M. Yanagisawa and T. Tsuda. Soy isoflavone inhibits TNF- α induced downregulation of adiponectin. 8th International Symposium on the role of soy -in health promotion and chronic disease prevention and treatment. (Tokyo) 2008年11月11日.
- ㉝ T. Tsuda. Blackcurrant anthocyanin as a functional food factor-Possibility of preventing metabolic syndrome- The Inaugural Blackcurrant conference. (Christchurch, New Zealand).

2008年11月19日 (Invited speaker).

㊦ 伊佐保香・宮川裕梨・柳沢政由・後藤剛・康敏淑・河田照雄・森光康次郎・久保田紀久枝・津田孝範 ショウガ成分のアディポネクチン発現低下抑制作用とその機構 日本食品科学工学会 第55回大会(京都大学)、2008年9月6日

㊧ 滝川 雅仁・津田孝範 2008年9月 アントシアニン含有食品素材の2型糖尿病抑制機能 日本食品科学工学会 第55回大会(京都大学)、2008年9月6日

㊨ 柳沢 政由・小出真梨子・津田 孝範 大豆イソフラボンはTNF- α によるアディポネクチンの遺伝子発現低下を抑制する。第62回日本栄養・食糧学会大会(埼玉県・女子栄養大学) 2008年5月5日

[図書] (計 4件)

- ① 津田孝範、須田郁夫、津志田藤二郎編著 アントシアニンの科学ー生理機能・製品開発への新展開ー建帛社 2009, p. 1-6, p. 132-152.
- ② T. Tsuda, H. Matsumoto. Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease. Wiley-Blackwell chapter18, 2009, p. 273-290.
- ③ 津田孝範 食品機能性の科学 産業技術サービスセンター 第11章 第4節ジנגロールおよびその誘導体 2008, p.293-295.
- ④ T. Tsuda Anthocyanins as Food Factor: Recent progress in studies on bioavailability and health. Chaper 6. Regulation of adipocyte function and prevention of metabolic syndrome by anthocyanins. 2008, p.101-116. Research Signpost.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津田孝範 (TSUDA TAKANORI)

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号：90281568

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし