

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11549

研究課題名(和文)ポリフェノールのコレステロール搬出増強作用に着目した新規糖尿病発症予防分子の同定

研究課題名(英文) Identification of a novel antidiabetic molecule focusing on the enhancement of cholesterol efflux by polyphenols

研究代表者

松木 恒太 (MATSUKI, Kota)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40586997

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)：MIN6細胞を用いて、インスリン分泌とコレステロール搬出を促進するポリフェノールの探索を行い、ケルセチンおよびその代謝物であるイソラムネチンがインスリン分泌促進作用およびコレステロール搬出を増強させる作用があることを見出した。

そのメカニズムとして、ABCA1およびABCG1の発現の増強によるものを考え、RT-PCR・Western blottingにより確認したところ、予想に反してケルセチン・イソラムネチンともにABCA1およびABCG1のmRNA発現を低下させるといった結果が得られた。siRNAによる検討も行ったが、その関与を裏付ける結果は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ABCA1およびABCG1の発現を増強することでインスリン分泌およびコレステロール搬出を促進するポリフェノールは確認できなかったが、イソラムネチンのインスリン分泌促進作用とコレステロール搬出の増強作用は他のポリフェノールに比較して強いものであり、膵細胞の保護作用が期待されるポリフェノールとして有力な候補物質の一つであることを見出した。

本課題における研究結果を基盤として推進していくことで、糖尿病の発症予防につながる成果が得られることを期待している。今後は、ヒトでのHDL機能とインスリン分泌の関連について研究を展開することを計画している。

研究成果の概要(英文)：Using MIN6 cells, we searched for polyphenols that promote insulin secretion and cholesterol efflux. We found that quercetin and its metabolite, isorhamnetin, enhance insulin secretion and cholesterol efflux.

We speculated that the mechanism was due to the increased expression of ABCA1 and ABCG1, and confirmed it by RT-PCR and Western blotting. However, both quercetin and isorhamnetin decreased ABCA1 and ABCG1 mRNA and protein expression. A study using siRNA was also performed, but no results supporting its involvement were obtained.

研究分野：糖尿病・脂質代謝

キーワード：cholesterol efflux insulin secretion polyphenol

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者数は世界的に増加の一途をたどっている。日本においても糖尿病はその多様な合併症により健康寿命を短縮する最大の要因となっている。申請者は、効果的な合併症予防と健康寿命の延伸により「健康長寿社会を実現」するためには、健康な人に対して糖尿病の発症そのものを予防する「0次予防」が最も重要であると考えた。

糖尿病の発症には、末梢組織におけるインスリン抵抗性と膵細胞からのインスリン分泌低下が大きく関与する。日本人は欧米人と比較して、インスリン抵抗性の増加の主因である肥満が比較的少ない。一方、日本人は正常耐糖能の段階において、インスリン分泌能が低いことが特徴である (Diabetes Res Clin Pract 2004)。このため、日本人の2型糖尿病の発症を予防するためには、膵細胞を保護しインスリン分泌能の低下を防ぐことが鍵となる。また、食生活の乱れが糖尿病の発症につながる一方で、野菜や果物の摂取量が多い群で糖尿病の発症リスクが低かったとするコホート研究があり (Eur J Clin Nutr 2005)、ポリフェノールなど野菜や果物に多く含まれる成分に糖尿病の発症予防効果が期待される。

High density lipoprotein (HDL) は脂質代謝において動脈硬化に対して防御的に働くコレステロール逆転送系の中心を担っており、ポリフェノールはその抗動脈硬化作用としてマクロファージからの HDL によるコレステロール搬出能 (Efflux) を高めることが報告されている。興味深いことに、近年、HDL が膵細胞においても Efflux を高め、インスリン分泌を増強させることが報告された (J Clin Invest 2010, Arterioscler Thromb Vasc Biol 2010)。そこで、ポリフェノールがマクロファージのみならず膵細胞からのインスリン分泌にも影響を及ぼす可能性を考え、マウス由来膵細胞株である MIN6 細胞を用いて検討したところ、玄米に多く含まれるフェルラ酸、玉ねぎに多く含まれるケルセチンがインスリン分泌および Efflux を増強することを確認した。

これらをもとに、申請者は「ある種のポリフェノールあるいはその代謝物は糖尿病の発症を予防する作用を持つ」という仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、インスリン分泌と膵細胞からの Efflux を促す食品成分の探索とその膵細胞保護作用の検証およびインスリン分泌とコレステロール恒常性に共通する分子機構を解明し、糖尿病の発症を予防することにつながる新たな作用点を見出すことである。

本研究により糖尿病の発症を予防する栄養素が同定できれば、日常臨床における食事指導などに実用できると考えており、食事療法のエビデンスの確立につながることも期待される。また、治療薬としてではなく食事として摂取することで有効性が示された場合には、医療費の抑制にも大きく貢献するものになると考える。

3. 研究の方法

本研究では、糖尿病の発症を予防することが期待されるポリフェノールおよびその代謝物を同定し作用メカニズムを解析するとともに、その膵細胞の保護作用を検証するため、MIN6 細胞などを用いて、ポリフェノールのインスリン分泌促進メカニズムの解析を行う。

インスリン分泌と Efflux という二つの現象をつなげるものとして、コレステロール輸送体である ABCA1 および ABCG1 の関与を第一に考えている。そこでまず、ケルセチンおよびフェルラ酸の Abca1 および Abcg1 の発現に及ぼす影響を RT-PCR、Western blotting にて評価する。次に、インスリン分泌促進作用が Abca1 あるいは Abcg1 を介した Efflux の増加によるものか確認するために、siRNA による機能消失実験を行う。さらに、Abca1 および Abcg1 の発現を制御する LXR などの核内受容体、microRNA-33 などに及ぼす影響を RT-PCR などにて検証する。また、ポリフェノールのなかでもインスリン分泌を促すものと促さないものがあることを予備検討で確認しており、その作用点の違いを明らかにすることから標的分子の同定につながるのではないかと考えている。

4. 研究成果

マウス膵細胞由来の MIN6 細胞を用いて、インスリン分泌とコレステロール搬出を促進するポリフェノールの探索を行い、タマネギに多く含まれるケルセチンおよびその代謝物であるイソラムネチンがインスリン分泌促進作用およびコレステロール搬出を増強させる作用があることを見出した。また、ケルセチンとイソラムネチンを比較すると、イソラムネチンがインスリン分泌およびコレステロール搬出をより強く増強させることを確認した。

ケルセチンおよびイソラムネチンのインスリン分泌とコレステロール搬出を増強させるメカニズムとして、細胞膜に存在しコレステロール輸送体として働く ABCA1 および ABCG1 の発現の増強によるものと考え、RT-PCR により確認したところ、予想に反してケルセチン・イソラムネチンともに ABCA1 および ABCG1 の mRNA 発現を低下させるという結果が得られた。また、Western blotting でも同様に、ケルセチンおよびイソラムネチンが ABCA1 および ABCG1 のタンパク発現

量を低下させる可能性を示唆する結果が得られた。

siRNAにより ABCA1 および ABCG1 がイソラムネチンのインスリン分泌促進作用に関与しているか検討したが、siRNA の効果が不十分だったためか、その関与を裏付ける結果は得られなかった。

これまでに、ABCA1 および ABCG1 の発現を増強することでインスリン分泌およびコレステロール搬出を促進するポリフェノールは確認できなかったが、イソラムネチンのインスリン分泌促進作用とコレステロール搬出の増強作用は他のポリフェノールに比較して強いものであり、膵細胞の保護作用が期待されるポリフェノールとして有力な候補物質の一つであると考えた。

本研究で得られた結果は、第 65 回日本糖尿病学会年次学術集会、American Diabetes Association 82nd Scientific Sessions、European Association for the Study of Diabetes (EASD) 58th Annual Meeting、において口演発表を行った。

今後は、本課題における研究結果を基盤として、ヒトでの HDL 機能とインスリン分泌の関連について研究を展開することを計画している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 松木 恒太、木村 裕輝、松村 功貴、村上 洋、田辺 壽太郎、村上 宏、大門 眞
2. 発表標題 コレステロール搬出能 (Efflux) に着目したイソラムネチンのインスリン分泌に及ぼす作用メカニズムの検討
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsuki K, Kimura Y, Matsumura K, Tanabe J, Murakami H, Daimon M.
2. 発表標題 Effects of Polyphenols on Cholesterol Efflux and Insulin Secretion in MIN6 Cells
3. 学会等名 American Diabetes Association 82nd Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsuki K, Kimura Y, Matsumura K, Tanabe J, Murakami H, Daimon M.
2. 発表標題 Effects of Polyphenols on Cholesterol Efflux and Insulin Secretion in MIN6 Cells
3. 学会等名 European Association for the Study of Diabetes (EASD) 58th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------	---------