

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700696

研究課題名（和文） 食後代謝動態に影響を及ぼす栄養成分の分子基盤の解明と
疾病予防に対する役割研究課題名（英文） Elucidation of the molecular mechanism of the functional carbohydrate
on the postprandial metabolic change

研究代表者

新井 英一（ARAI HIDEKAZU）

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：60325256

研究成果の概要（和文）：

食後の高血糖は生活習慣病の発症に大きく関与し、砂糖の異性体であるパラチノースが食後高血糖を抑止できる栄養成分であることを同定したが、その生体利用については不明な点が多い。負荷試験を行い、代謝動態を観察した結果、パラチノース負荷群ではシュクロース負荷群に比較して、緩やかな血糖上昇に伴う、肝臓での代謝反応および遺伝子の発現を有することが明らかになった。吸収が緩慢な栄養素は、疾病の治療や予防の上で、極めて重要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The postprandial hyperglycemia is associated with onset of metabolic syndrome greatly, and palatinose which is an isomer of the sucrose, was identified that it is the nourishment which can reduce hyperglycemia after a meal. However, the molecular mechanisms and substrate availability of palatinose ingestion are not clear. For the measurement of metabolic flexibility after the carbohydrate load test, the pattern of the metabolic response and the gene expression in the liver accorded with a slower blood glucose rising. This study suggested that exchange of sucrose for palatinose might results in a more favorable metabolic response, and might help to reduce disease such as diabetes mellitus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野： 総合領域

科研費の分科・細目： 健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード： 生活習慣病、食後高血糖、健康長寿

1. 研究開始当初の背景

食後高血糖は肥満や食習慣の乱れの初期段階より観察され、恒常性維持のための代償として、インスリンの過剰分泌による内臓脂肪蓄積や β 細胞疲弊を誘導し、慢性化することで血管内皮機能障害や動脈硬化を促進する。特に、急峻な血糖の動き（グルコーススパイク）は、大動脈壁への単球の接着を介した血管内皮障害に影響を及ぼすことが知られており、食後高血糖を回避することが重要視されている。その予防や治療策の1つとして、低グリセミックインデックス(GI)食の利用などの食環境に注目が集められ、有効性が示唆されている。シュクロースの異性体であるパラチノースが、血糖上昇およびインスリンの過分泌に対して低減効果を示すことを動物およびヒト試験にて報告してきた。また、消化・吸収速度の異なる栄養素の投与では（二糖類パラチノースまたは単糖類フルクトース+グルコース）、パラチノースを摂取した肝臓での脂肪合成量は低値を示した。すなわち、急峻なグルコーススパイクや栄養素の代謝動態を回避することが可能である低GI成分は、生体の恒常性維持に対して影響をおよぼすことが推察されるが、その分子基盤は十分には解明されていない。

2. 研究の目的

各臓器における栄養素の代謝は、栄養素の吸収速度や容量およびそれに伴う内分泌物質の産生・作用によって制御されていることが示唆されている。そのため吸収が緩慢な栄養素（低GI成分）の代謝動態は通常食に比して作用が異なる、すなわち生体の恒常性維持に対して影響をおよぼすことが推察されるが、その分子基盤は十分には解明されていない。そこで本研究は、食後代謝動態に影響を及ぼすパラチノースの分子基盤の解明と疾病予防および健康長寿に対する効果について解明することを目的とする。

3. 研究の方法

パラチノースは、シュクロースと同様にグルコースおよびフルクトースを構成糖とした二糖類であるが、構成糖の結合様式がシュクロースは α 1-2結合であるのに対し、パラチノースは α 1-6結合であるため、パラチノースはシュクロースに比して小腸でゆっくり消化される特徴を有している。そこで、 ^{13}C で標識した種々の糖質（パラチノース、シュクロースおよび単糖類フルクトースまたはグルコース）を用いて、正常ラットに意識下にて単独投与(2g/kgBW)を行い、4時間までの生体内利用（消費、同化、異化）・応答について、経時的に呼気ガス、血液および各臓器を採取し、代謝された栄養素の動態を解析す

る。

(1) 呼気ガス解析

^{13}C 標識した糖質は、腸管で単糖に分解されて吸収され血中に移行し、エネルギー産生に利用された場合は、呼気中に ^{13}C が排出される。一方、合成系に利用された場合は、グリコーゲンや脂肪酸に ^{13}C が取り込まれる。そのため、呼気ガスは各糖質投与3時間までは10分毎に、それ以降は30分毎に呼気をサンプリングし、呼気中の CO_2 変化量をUBiT-IR300装置（大塚電子(株)）を用いて測定する。 ^{13}C 標識ラベルした糖質溶液を投与後、経時的（投与後1、2、3、4時間後）に採血および臓器の摘出（肝臓）を行う。

(2) 遺伝子およびタンパク発現解析

経時的な代謝変化を評価するために、各種糖質の負荷試験を行った後に肝臓および血液サンプルを(1)と同様な時間で採取し、それぞれの糖質および脂質代謝に関する遺伝子またはタンパク質の発現の解析を行った。糖新生(PGC-1 α 、PEPCK、G6P等)、フルクトース代謝(KHK、Aldorase等)、脂質生合成(ChREBP、LXR、FAS、ACC等)、脂質酸化(PPAR α 、ACO、UCP等)および時計遺伝子(Clock、Bmal1、Per、Cry等)に関する遺伝子の発現については、リアルタイムPCR法を用いて定量的および網羅的な解析を行った。同様にタンパク質(ChREBP、Sirt1等)は核内および細胞質に分画後に、ウェスタンブロットおよび2次元電気泳動の解析を行い、発現の差異について検討を行った。

4. 研究成果

(1) 呼気ガス

^{13}C にて標識したパラチノースまたはシュクロースを合成し、投与後における呼気中への CO_2 排泄量について経時的に評価した結果、パラチノース群はシュクロース群に比して、 CO_2 の排出量は徐々に増加してピークを迎えた。興味深いことに、排泄量 AUC_{∞} （経時反応における推定の AUC ）においても、パラチノース群は有意に高値を示した。このことから、パラチノース群は、糖の吸収は緩慢であるが、糖の利用は、体内への蓄積に動員（脂肪貯蔵）されるのではなく、効率的に燃焼（酸化）反応が行われた可能性が示唆された。

(2) 血清脂質および肝臓における遺伝子および蛋白発現

投与試験後の血清脂質および肝臓における代謝に寄与する遺伝子の発現およびタンパク発現について精査した。パラチノースを除く他の二群は、投与1時間後より血漿中性脂肪濃度の増加を示し、パラチノース群は投与3時間後に僅かな増加を示した。そのこと

から、パラチノースは食後脂質異常症(TG血症)を部分的に抑制する可能性が考えられた(Fig. 1)。

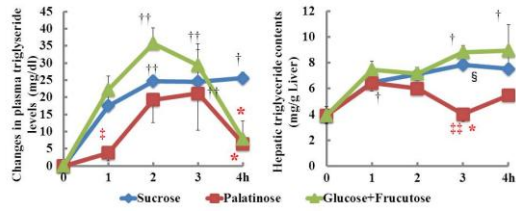


Fig.1 血漿TG濃度および肝臓TG含量
*, vs sucrose group (**: p<0.05); ‡, vs glucose+fructose group (‡‡: p<0.01, ‡: p<0.05); †, vs 0h (††: p<0.01, †: p<0.05, ‡: p<0.07).

脂肪合成関連遺伝子の発現量は、パラチノース群において時間経過に伴い緩やかな増加の動きを示した(Fig. 2)。

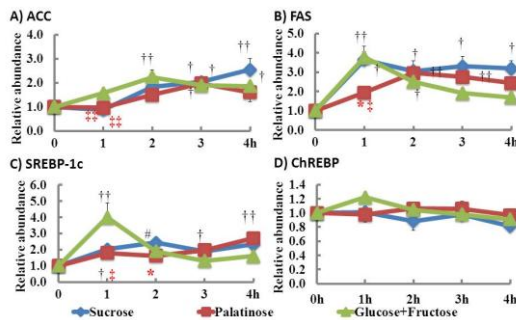


Fig.2 脂質合成関連遺伝子発現の経時変化
*, vs sucrose group (**: p<0.01, *: p<0.05); ‡, vs glucose+fructose group (‡‡: p<0.01, ‡: p<0.05); †, vs 0h (††: p<0.01, †: p<0.05, #: p=0.06).

肝臓におけるグリコーゲン含量は、すべての群で同様の動態を示したが、中でもパラチノース群は緩やかに上昇する傾向を示した(Fig. 3)。

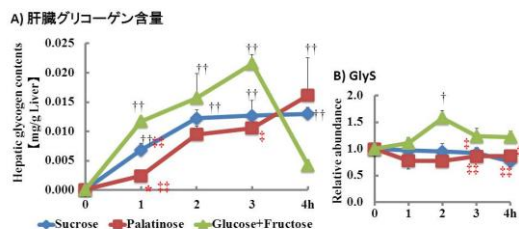


Fig.3 肝臓グリコーゲン含量および合成酵素の発現
*, vs sucrose group (**: p<0.01, *: p<0.05); ‡, vs glucose+fructose group (‡‡: p<0.01, ‡: p<0.05); †, vs 0h (††: p<0.01, †: p<0.05).

また、食後2~3時間までに種々の遺伝子の発現に変化が見られ、中でもフルクトース代謝に寄与する遺伝子において、発現が顕著に変化することを見いだした。フルクトース

は肝臓で主に代謝されるが、フルクトースの代謝速度が細胞内での栄養素の代謝動態を変化させることに寄与すると考えられた(Fig. 4)。

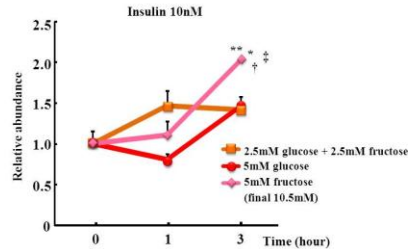


Fig.4 糖質の違いがFGF21発現に与える影響
*: p<0.05 vs glucose + fructose, **: p<0.05 vs glucose, †: p<0.05 vs 0h, ‡: p<0.05 vs 1h

興味深いことに、飢餓や摂食に応答することが報告されている繊維芽細胞増殖因子(FGF21)遺伝子の発現変化が著しいことから、本因子が食後の代謝動態の中心的なレギュレーターである可能性が示唆された。

今後、FGF21に関係する因子および発現調節機構を解明することが可能になることで、疾病との関係性だけでなく、健康長寿を目指す食事療法の開発および貢献に寄与できると考えられる。

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3件)

(1) 新井英一、山本真弓、佐久間理英、上香増喬、武田英二：食後高血糖是正に対する低Glycemic Index食品の有用性：日本病態栄養学会誌。査読有：13(2)，111-121，2011

(2) Uebanso T, Taketani Y, Yamamoto H, Amo K, Ominami H, Arai H, Takei Y, Masuda M, Tanimura A, Harada N, Yamanaka-Okumura H, Takeda E. Paradoxical Regulation of Human FGF21 by Both Fasting and Feeding Signals: Is FGF21 a Nutritional Adaptation Factor? PLoS One. 査読有：6(8):e22976, 2011

(3) Amo K, Arai H, Uebanso T, Fukaya M, Koganei M, Sasaki H, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E. Effects of xylitol on metabolic parameters and visceral fat accumulation. J Clin Biochem Nutr. 査読有：49(1):1-7, 2011

〔学会発表〕(計5件)

(1) 河野里美、佐久間理英、奥野雅浩、新井英一，肝臓の脂質合成系遺伝子発現に対する吸収が緩慢なフルクトースのおよぼす効果：第 64 回日本栄養・食糧学会大会，2010 年 5 月 22 日（徳島）

(2) 阿望幾久子、大南博和、竹谷豊、佐藤佳瑞智、深谷牧子、上番増喬、新井英一、小金井恵、佐々木一、山本浩範、武田英二，糖・脂肪毒性の相互作用を介した膵・細胞障害の発症機序の解明：第 53 回日本糖尿病学会，2010 年 5 月 29 日（岡山）

(3) 大南博和、阿望幾久子、竹谷豊、上番増喬、佐藤佳瑞智、深谷牧子、新井英一、小金井恵、佐々木一、山本浩範、武田英二，組織の脂肪酸組成に対して食餌性糖・脂質の組合せが与える影響とインスリン抵抗性への関連性：第 53 回日本糖尿病学会，2010 年 5 月 29 日（岡山）

(4) 荒木香織、佐野文美、手塚祐美子、宮坂清昭、佐久間理英、新井英一、市川陽子，砂糖代替物質としてのパラチノースの調理特異性の検討：第 65 回日本栄養・食糧学会大会，2011 年 5 月 15 日（東京）

(5) 山内達基、佐久間理英、太田紘之、新井英一，食後高脂血症に対するパラチノースの効果：第 58 回日本栄養改善学会学術総会，2011 年 9 月 10 日（広島）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新井 英一 (ARAI HIDEKAZU)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：60325256

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし