

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580187

研究課題名(和文)食品因子によるインクレチン制御を標的とした糖尿病予防・抑制機能とその機序の解明

研究課題名(英文)Anti-diabetes and its mechanism using food factors via incretin action.

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：GLP-1(Glucagon-like peptide-1)の分泌促進作用を持つ食品因子とその機序を解明し、これを活用した新たな糖尿病予防・抑制研究の科学基盤を構築することを目的として研究を進めた。その結果、GLP-1分泌促進成分として「クルクミン」を見出した。構造・活性相関についても明らかにした。さらに他の食品因子についてもGLP-1分泌促進作用を見出している。クルクミンの作用機序については不明な点も多いものの、クルクミンは細胞内カルシウム濃度の上昇を引き起こし、カルシウム-カルモデュリン依存性キナーゼIIの活性化が関与することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Increase endogenous GLP-1 secretion from intestinal L cells by food factors is one of the crucial targets for prevention and treatment of diabetes. In the present study, we demonstrate that curcumin, a yellow pigment, significantly increases GLP-1 secretion in L cells model, and we clarified the structure activity relationship using curcumin derivatives. Also, concerning the secretory mechanism, the significant increase in GLP-1 secretion by curcumin involved the CaMKII pathway, and was independent of extracellular signal-regulated kinase, PKC, and the cAMP/PKA-related pathway.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食品成分 糖尿病

#### 1. 研究開始当初の背景

日本人はインスリン分泌能が低く、食事・生活様式の欧米化による僅かな肥満が加わると糖尿病を発症しやすい。最近この課題の解決手段としてインクレチン制御が浮かび上がってきた。インクレチンとは、食事摂取に伴い消化管から分泌され、膵細胞に作用してインスリン分泌を促進するペプチドホルモンの総称であり、中でも特に GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) が 2 型糖尿病の予防・治療に有効と考えられている。

#### 2. 研究の目的

GLP-1 の分泌促進作用を持つ食品因子とその機序を解明し、これを活用した新たな糖尿病予防・抑制研究の科学基盤を構築する。

#### 3. 研究の方法

マウス由来の腸管内分泌細胞を用いて、各種食品因子による GLP-1 分泌刺激を ELISA で検討するとともに、分泌促進機序の解明を試みた。

#### 4. 研究成果

ターメリックに含まれる黄色色素であるクルクミンに GLP-1 分泌促進作用を見出した。クルクミン誘導体による GLP-1 分泌促進作用の構造活性相関を検討した結果、 $\beta$ -ジケトン構造と少なくとも1つのメトキシル基が必要であり、 $\beta$ -ジケトン構造に加えて2つのメトキシル基を持つクルクミンが最も強力であった。一方、メトキシル基が消失、 $\beta$ -ジケトン構造の消失は GLP-1 の分泌を有意に促進しなかった。

次にクルクミンによる GLP-1 の分泌促進作用機序を検討した。GLP-1 の分泌には細胞内  $Ca^{2+}$  レベルの上昇が関与すると考えられる。このときの細胞内  $Ca^{2+}$  レベルの上昇は  $Ca^{2+}$  チャネルによる外因性  $Ca^{2+}$  の取り込み、または内因性  $Ca^{2+}$  の動員によると考えられる。クルクミンの投与は細胞内  $Ca^{2+}$  レベルを上昇させた。この時、 $Ca^{2+}$  チャネルブロッカーや内因性  $Ca^{2+}$  ストアの放出を抑制することで、クルクミンによる GLP-1 の分泌促進は有意に抑制された。さらに CaMK 阻害剤の処理は、クルクミンによる GLP-1 の分泌促進を完全に消失させた。この時の CaMK タンパク質を解析すると、クルクミンの投与は時間依存的および濃度依存的に、CaMK のリン酸化 (活性化) を著しく増加させた。これらの結果からクルクミンは、細胞内  $Ca^{2+}$  レベルを上昇させ、CaMK の活性化を介して GLP-1 分泌を促進すると考えられる。

GLP-1 分泌の促進作用は、細胞内  $Ca^{2+}$  レベルの上昇を伴わず、PKA や PKC が関与していることも知られている。また、MAP キナーゼである ERK1/2 の関与も報告されている。これらの経路を検討したが、クルクミンの投与は細胞内 cAMP レベルに影響を与えず、PKA、PKC や ERK1/2 は、いずれもクルクミンによる GLP-1 の分泌促進に影響を与えなかった。従

ってクルクミンによる GLP-1 分泌促進作用にこれらの経路は関与していないものと考えられる。

#### 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 10 件)

Ju Qiu, J., Maekawa, K., Kitamura, Y., Miyata, Y., Tanaka, T., Tanaka, T., Soga, M., Tsuda, T., Matsui, T. Stimulation of glucose uptake by theasinsensins through the AMP-activated protein kinase pathway in rat skeletal muscle cells. *Biochem. Pharmacol.* (2014) 87: 344-351. (査読有)

Takikawa, M., Kurimoto, Y., Tsuda, T. Curcumin stimulates glucagon-like peptide-1 secretion in GLUTag cells via  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent kinase II activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2013) 435: 165-70. (査読有)

Kurimoto, Y., Shibayama, Y., Inoue, S., Soga, M., Takikawa, M., Ito, C., Nanba, F., Yoshida, T., Yamashita, Y., Ashida, H., Tsuda, T. Black soybean seed coat extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via the activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. *J. Agric. Food Chem.* (2013) 61: 5558-64. (査読有)

Takikawa, M., Kumagai, A., Hirata, H., Soga, M., Yamashita, Y., Ueda, M., Ashida, H., Tsuda, T. 10-hydroxy-2-decenoic acid, a unique medium-chain fatty acid, activates AMP-activated protein kinase in L6 myotubes and mice. *Mol. Nutr. Food Res.* (2013) 57: 1794-802. (査読有)

Tsuda, T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. (Invited review) *Mol. Nutr. Food Res.* (2012) 56: 159-70. (査読有)

Tsuda, T. Anthocyanins as Functional Food Factors - Chemistry, Nutrition and Health Promotion - (Invited review). *Food Sci. Technol. Res.*, (2012) 18: 315-24. (査読有)

Yanagisawa, M., Sugiya, M., Iijima, H., Nakagome, I., Hirono, S., Tsuda, T. Genistein and daidzein, typical soy isoflavones, inhibit TNF- $\alpha$ -mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *Mol. Nutr. Food Res.* (2012) 56, 1783-93. (査読有)

Ikeda, R., Yanagisawa, M., Takahashi, N.,

Kawada, T., Kumazawa, S., Yamaotsu, N., Nakagome, I., Shuichi Hirono, S., Tsuda, T. Brazilian propolis-derived components inhibit TNF- $\alpha$ -mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, (2011) 1810, 695-703. (査読有)

Kanamoto, Y., Yamashita, Y., Namba, F., Yoshida, T., Tsuda, T., Fukuda, I., Nakamura-Tsuruta, S., and Ashida, H. A black soybean seed coat extract prevents obesity and glucose intolerance by up-regulating uncoupling proteins and down-regulating inflammatory cytokines in high-fat diet-fed mice. *J. Agric. Food Chem.* (2011) 59: 8985-93. (査読有)

Fukuda, I., Tsutsui, M., Yoshida, T., Toda, T., Tsuda, T., Ashida, H. Oral toxicological studies of black soybean (*Glycine max*) hull extract: Acute studies in rats and mice, and chronic studies in mice. 2011.11. *Food Chem. Toxicol.* (2011) 49: 3272-78. (査読有)

[学会発表](計 17 件)

曾我実、大橋彩加、谷口恵実、滝川雅仁、松井利郎、津田孝範 血管弛緩性ペプチド Trp-His (WH) の AMP キナーゼ活性化作用とそのメカニズム

2014.3.27-30. 日本農芸化学会 2014 年度大会 (明治大学)

加藤正樹、谷翼、津田孝範 GLP-1 の分泌を促す食品因子の解明とその機序  
2014.3.27-30. 日本農芸化学会 2014 年度大会 (明治大学)

曾我実、大橋彩加、谷口恵実、滝川雅仁、松井利郎、津田孝範 血管弛緩性ペプチド Trp-His (WH) による AMP キナーゼ活性化作用とその機序 第 67 回日本栄養・食糧学会大会 2013.5.24-26 (名古屋大学)

滝川雅仁、栗本雄太、津田孝範 GLP-1 の分泌を促進する食品因子の検討とそのメカニズム解明 第 67 回日本栄養・食糧学会大会 2013.5.24-26 (名古屋大学)

栗本雄太、柴山勇樹、井上聖哉、曾我実、滝川雅仁、伊藤千秋、難波文男、吉田正、山下陽子、芦田均、津田孝範 黒大豆成分の摂取による血糖値上昇抑制作用とその作用機序解明 2013.8.29-31 日本食品科学工学会第 60 回大会 (実践女子大学)

Tsuda, T. et al. Black soybean seed coat extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via the activation of

AMP-activated protein kinase in diabetic mice. 2013.9.9-11. 7th International workshop on Anthocyanins. (Porto 大学, Portugal)

Tsuda, T. Prevention of diabetes using food factors via activation of AMPK and GLP-1 secretion. 2013.11.5-9. Annual Meeting of the International Society for Nutraceuticals and Functional Foods - Functional Foods, Nutraceuticals, Natural Health Products and Dietary Supplements - (Taipei International Convention Center, Taiwan)

滝川雅仁、栗本雄太、津田孝範 GLP-1 の分泌を促進する食品因子の検討とその機序解明 2013.3.24-27. 日本農芸化学会 2013 年度大会 (東北大学)

滝川雅仁、曾我実、熊谷綾、平田晴実、上田学、芦田均、津田孝範 ローヤルゼリー由来中鎖脂肪酸の AMP キナーゼ活性化作用とそのメカニズム解明

2012.5.18-20. 第 66 回日本栄養・食糧学会大会 (東北大学)

栗本雄太、滝川雅仁、柴山勇樹、曾我実、山下陽子、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作用機序

2012.5.18-20. 第 66 回日本栄養・食糧学会大会 (東北大学)

Tsuda, T. Prevention of diabetes using food factors via activation of AMPK. 2012.12.9-13. Annual Meeting of the International Society for Nutraceuticals and Functional Foods (Coutyard King Kamehameha Hotel, Cona, HI, USA).

滝川雅仁、曾我実、熊谷綾、平田晴実、上田学、芦田均、津田孝範 ローヤルゼリー由来中鎖脂肪酸の AMP キナーゼ活性化作用とその機序解明 2012.3.22-25. 日本農芸化学会 2012 年度大会 (京都女子大学)

栗本雄太、滝川雅仁、柴山勇樹、曾我実、山下陽子、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作用機序の解明 2012.3.22-25. 日本農芸化学会 2012 年度大会 (京都女子大学) (2012)

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メカニズムの解明

2011.5.13-15. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会 (お茶ノ水女子大学)

津田孝範 植物由来成分と脂肪細胞機能調節、糖尿病予防 第 65 回日本栄養・食糧学会大会シンポジウム-1「肥満の基礎と臨床への展開」 2011.5.13-15. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会 (お茶の水女子大学)

Tsuda, T., Takikawa, M. Prevention of type2 diabetes using plant-based food factors via activation of AMP-activated protein kinase. 2011.7.13-16. 11<sup>th</sup> Asian Congress of

Nutrition (Singapore International Convention & Exhibition Centre, Singapore)  
Tsuda, T. Prevention of type2 diabetes using anthocyanin-rich berries via activation of AMP-activated protein kinase.  
2011 .11.20-23. 2011International Congress on Food Factors-Food for Wellbeing-from function to processing. (Howard Civil Service International House, Taipei, Taiwan)

〔図書〕(計 3 件)

津田孝範 ニュートリゲノミクスを基盤としたバイオマーカーの開発 シーエムシー出版 p.23-29. (2013)

津田孝範 機能性食品の作用と安全性百科 丸善出版 総ページ数 405 ページ 担当部分は多岐に渡るため抽出不能 (2012)

津田孝範 ポリフェノール：薬用植物および食品の機能性成分 シーエムシー出版 p.248-263. (2012)

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

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

なし

研究者番号：