

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500862

研究課題名(和文) 栄養素の代謝制御の鍵を握る FGF21 の分子基盤の解明と生活習慣病の予防効果

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular basis of FGF21, which holds the key to the metabolic control of nutrients, and preventive effect of lifestyle-related diseases.

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000 円

研究成果の概要(和文)：FGF21は糖脂質代謝を調節する重要な因子であるが、その発現機構の詳細は不明である。本研究は単糖類およびPFC比率の異なる食事摂取によるFGF21の発現機構を解明することを目的とした。in vivoおよびin vitroともにフルクトース投与により、FGF21 mRNA発現を上昇することが示され、フルクトースはグルコースに比して早い時間でFGF21 mRNA発現を誘導することを明らかにした。さらに、PFC比率の異なる食事を投与すると、炭水化物の摂取量が減少するにともない、発現量が高まることを明らかにした。したがって、FGF21遺伝子の発現は糖質の質・量に依存して発現する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：FGF21 is an important factor regulating glucose and lipid metabolism, details of the expression regulatory mechanism is not known. Therefore, in the present study was aimed to elucidate the expression mechanism of FGF21 by different dietary intake of monosaccharides and PFC ratio. In vivo and in vitro, fructose administration increased the FGF21 mRNA expression, and induced FGF21 in the early time as compared to glucose administration. Furthermore, to give a different diet PFC ratio in rats, FGF21 gene expression was increased when carbohydrate intake is reduced. Thus, it was suggested that the quality and quantity of the carbohydrate might induce expression of FGF21 gene.

研究分野：臨床栄養学

キーワード：FGF21 低GI成分 代謝動態

1. 研究開始当初の背景

近年、カロリー制限が種々の遠隔臓器間における協調的な代謝制御ネットワークを介して、老化や寿命調節機構に有効であることが報告されている。これまでに、ショウジョウバエ、マウスを用いた解析において、インスリン/Insulin growth factor (IGF)経路が寿命に関与することが明らかにされており、カロリー制限がこれらの経路の活性化抑制(インスリンシグナルの制御)を誘導し、寿命延長効果のみならず、疾病発症予防に対して有効であることが示唆されている(Am J Pathol 160:2259-2265, 2002)。一方、グルコースなどの栄養源や内分泌物質から刺激を受けた細胞では、糖・脂質代謝、ストレス応答、DNA修復、エピジェネティクス制御などの様々な生命現象が活発に行われ、個々の細胞としての機能を担っているため、不適切なカロリー制限は細胞機能維持を障害させる可能性が示唆されている(栄養不良)。したがって、適切なカロリー制限またはそれに類似した作用をもつ栄養成分の同定が可能になれば、生体の恒常性維持のみならず、疾病予防および健康長寿に貢献できると考えられる。

これまでに研究代表者は、食後高血糖を回避できる栄養素の分子基盤について解明を進めてきた。中でも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た(Metabolism. 53:977-983, 2004, J Clin Biochem Nutr. 45:155-162, 2009)。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、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・作用によってエネルギー代謝調節が制御されていることが示唆され、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有益な影響をおよぼすことが推察される。さらに興味深いことに、パラチノースの摂取直後に、Fibroblast growth factor (FGF)21 遺伝子の発現上昇を見だし、細胞内での糖・脂質代謝に対して何らかの作用を示すことが推察されるが、その分子基盤は十分に解明されていない。これまでに我々も FGF21 が、高タンパク食による脂肪肝および高中性脂肪血症の抑制に関与すること(Am J Physiol Endocrinol Metab. 297:E76-84, 2009)、飢餓や摂食シグナルに関与すること(PLoS One. 2011;6(8):e22976)など、栄養素の代謝に極めて重要である因子として報告してきた。しかし、飢餓および過栄養(高脂肪食)すなわち相反する食環境に応じて発現が調節されるなど、細胞内で何が誘導因子となりうるのか、また何故その調節が必要であるかといった詳細は不明である。

2. 研究の目的

食後の高血糖、高中性脂肪血症、高リン血症など、様々な栄養素の急激な上昇は、血管内皮障害を誘発し、生活習慣病の発症に大きく関与している。FGF21 は飢餓および過栄養に応答する因子として注目されているが、生体の恒常性維持に対しての影響およびその分子基盤は十分に解明されていない。そこで本研究は、血糖上昇を有さない単糖類、二糖類および糖質制限した食事摂取における食後の代謝動態調節機構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

(1) 単糖類、二糖類投与における FGF21 発現の効果

SDラットに5g/kg/BWのフルクトースまたはグルコースを経口投与し、肝臓における FGF21 および関連遺伝子の発現量を投与後12時間まで経時的に評価した。また、ラットの初代培養肝細胞に5mMのフルクトースまたはグルコースを添加し、FGF21 および関連遺伝子の発現量を添加後24時間まで経時的に評価した。

(2) PFC 比率およびエネルギー制限時における FGF21 発現の効果

9週令の雄性SDラットを3群に分け、各群に糖質エネルギー比率が60・50・40%の飼料を8週間与え飼育した(Regular diet (RD))。各群の1食当たりのエネルギー量(80kcal)およびたんぱく質の比率は一定とし、残りの比率を脂質に置換した。さらに、RDの80%エネルギーになるCalorie restrict diet(CRD)を作成し与えた。また、解剖時に各群を絶食群と再摂食群の2群にさらに分け、食後の代謝動態の差異について、血液生化学検査、肝臓内脂肪量、肝臓における代謝関連遺伝子の発現量を測定し評価した。

4. 研究成果

(1) 単糖類、二糖類投与における FGF21 発現の効果

フルクトース投与群は投与後4時間においてグルコース投与群に比して FGF21 mRNA 発現が増大した。また、投与後8時間において両群の動態が4時間と逆転し、群間で FGF21 mRNA 発現に時間差が観察された。FGF21 の発現調節に寄与する転写因子である PPAR および ChREBP mRNA 発現を測定したところ、PPAR mRNA 発現は両群ともに時間依存的に減少した。ChREBP mRNA 発現は投与後4時間においてフルクトース投与群がグルコース投与群に比して有意に高値を示した。細胞実験において、フルクトース添加群は添加後4時間において添加前に比して FGF21 mRNA 発現が有意に増大した。ChREBP mRNA 発現はフルクトース添加群において添加後4時間において増加傾向が見ら

れた。また、ラットにおける ChREBP タンパク発現を評価したところ、フルクトース投与群とグルコース投与群との間に差は見られなかった。

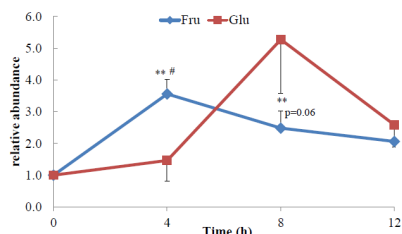


Fig. 1. Effects of FGF21 mRNA expression following oral fructose or glucose administration in rat liver.

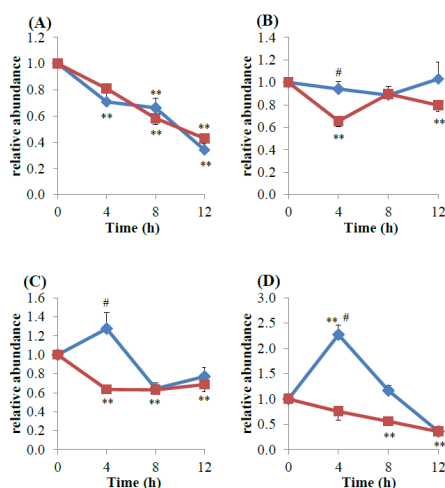


Fig. 2. Effects of gene expression for inducing FGF21 and lipogenesis following oral fructose or glucose administration in rat liver. Time courses of hepatic PPARα (A) and CREBH (B), ChREBP (C), ACC (D) mRNA expression following oral fructose or glucose 5.0g/kg/BW.

(2) PFC 比率およびエネルギー制限時における FGF21 発現の効果

同一のエネルギー間における各群の摂餌量、体重増加量および剖検時における各組織重量に有意な差はみられなかった。しかし、血中中性脂肪濃度はすべての群において正常範囲内であったが、60%群は40%群に比して高値を示した。また、RD 群における肝臓内脂肪量は脂質の比率が上昇するにつれ増加を示したが、CRD 群においては3群間に有意な差はみられなかった。50%群および40%群の FGF21 遺伝子の発現において、絶食時、摂食時では60%群に比して高値を示した。脂質の de novo 合成に関連する遺伝子である ACC や FAS の mRNA の発現量を調べた結果、絶食群では各群の発現量に大きな変化はみられなかったが、摂食群において60%群の発現量は40%群と比較し有意に増加した。また、脂肪肝の形成に関連する遺伝子である PPAR や FSP27 の mRNA の発現量を調べた結果、RD 群において、40%群が60%群に比して高値を示したが、CRD 群において3群間に変化

がみられなかった。

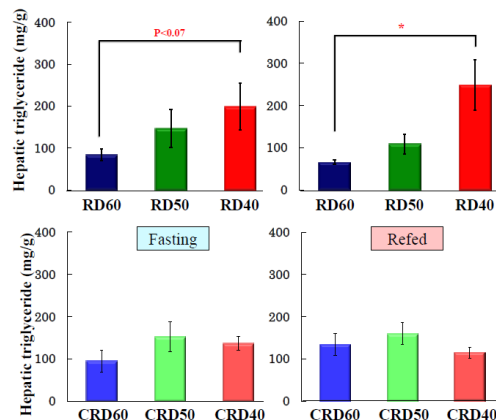


Fig. 3. hepatic triglyceride contents.

Values are mean ± SEM (n=4-5 rats/group).

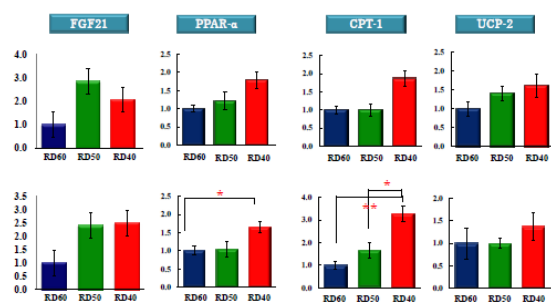


Fig. 4 Expression of hepatic genes involved in lipid metabolism in SD rats fed combinations of differential carbohydrates and fats composition ratio and calorie-restriction for 8 weeks.

Upper panel shows RNA abundance related to S18 was measured by real-time PCR. The data were expressed as relative expression to RD60 or CRD60 group. Values are mean ± SEM (n=4-5 rats/group). *denotes significant difference between group (*: p<0.05, **: p<0.01).

エネルギーが十分、つまり適量以上である場合には、肝臓内中性脂肪の蓄積は PFC 比率の影響を最も受けて蓄積が誘導され、エネルギー制限を行うと、肝臓への中性脂肪の蓄積に対しての影響が少ない可能性が示唆された。また、FGF21 の発現においても同様な代謝動態を示したことから、栄養センサーとして、何が関与しているかを今後検討する必要がある。

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1件)

(1) Ohminami H, Amo K, Taketani Y, Sato K, Fukaya M, Uebanso T, Arai H, Koganei M, Sasaki H, Yamanaka-Okumura H, Yamamoto H, Takeda E.: Dietary combination of sucrose and linoleic acid causes skeletal muscle metabolic abnormalities in Zucker fatty rats through specific modification of fatty acid composition. J. Clin. Biochem. Nutr. 55(1), 15-25 (2014).

〔学会発表〕(計 11 件)

(1) 新井英一、太田紘之、森本優香、山内達基、佐久間理英、「食後血糖値およびインスリン反応を指標とした代謝変化の指標」第 59 回日本栄養改善学会学術総会(名古屋)2012 年 9 月

(2) 山内達基、佐久間理英、森本優香、太田紘之、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 59 回日本栄養改善学会学術総会(名古屋)2012 年 9 月

(3) 山内達基、佐久間理英、新井英一「吸収が緩慢な糖質摂取後における糖・脂質代謝に及ぼす効果」第 16 回日本病態栄養学会年次学術集会(京都)2013 年 1 月

(4) 新井英一、山内達基、松下亜沙実、森本優香、佐久間理英「肝臓における糖・脂質代謝に対する、消化・吸収動態の異なるフルクトースの及ぼす効果」第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)2013 年 5 月

(5) 大南博和、阿望幾久子、竹谷豊、新井英二、小金井恵、佐々木一、奥村仙示、山本浩範、武田英二「高スクロース・リノール酸食は組織中のアラキドン酸を増加させ、インスリン抵抗性を惹起する」第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会(熊本)2013 年 5 月

(6) 川上佳延、宮坂清昭、手塚裕美子、望月和樹、佐野文美、佐久間理英、新井英二、市川陽子「パラチノースを砂糖代替物質として使用した料理摂取による糖質代謝指標の変化」第 67 回日本栄養・食糧学会大会(名古屋)2013 年 5 月

(7) 戸田知里、加治屋裕也、佐久間理英、新井英一「食後の代謝動態に対する異なる糖、脂質の組成比率の効果」第 68 回日本栄養・食糧学会大会(札幌)2014 年 5 月

(8) 伊東香織、宮坂清昭、手塚裕美子、佐野文美、佐久間理英、新井英二、市川陽子「パラチノースを砂糖代替使用した料理摂取による血糖応用 - 異なる種類の肉料理における検討」第 68 回日本栄養・食糧学会大会(札幌)2014 年 5 月

(9) 戸田知里、加治屋裕也、佐久間理英、新井英一「食後の代謝動態に対する異なる糖・脂質の組成比率の効果」第 18 回日本病態栄養学会年次学術集会(京都)2013 年 1 月

(10) Hidekazu Arai, Chisato Toda, Erika Seki, Yuuya Kajiy, Masae Sakuma “The effect due to the interaction of different energy and macronutrients ratio on postprandial metabolism” 12th Asian Congress of Nutrition (Yokohama)

2015 年 5 月

(11) 新井英一、戸田知里、関衣里香、加治屋裕也、佐久間理英「食後の代謝動態に対する異なるエネルギーおよび栄養素組成比率の効果」第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会(下関)2013 年 5 月

〔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