

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650487

研究課題名(和文)リアルタイムモニタリングによる蛋白質摂取の肝糖代謝への効果の検討

研究課題名(英文) Investigation of soy protein isolate in whole body glucose metabolism

研究代表者

井上 啓 (Inoue, Hiroshi)

金沢大学・脳・肝インターフェースメディスン研究センター・教授

研究者番号：50397832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：大豆たんぱく(SPI)が、インスリン抵抗性を改善する可能性が指摘されていることから、カゼインを主たる蛋白質源とする対照高脂肪食と、カゼインをSPIに置換したSPI高脂肪食を4週間投与し、マウスモデルでの投与実験を行い、糖代謝パラメーターを測定した。

体重・血糖値・血中インスリン値のいずれについても、SPI食および対照食の2群間において、明らかな差を認めなかった。投与後4週間で実施した糖負荷試験においても、明らかな耐糖能の変化を見出さなかった。4週間の高脂肪食負荷に対しては、SPIとカゼインの間に、必ずしも明らかな個体糖代謝・肝糖産生に及ぼす作用に差がない可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Soy protein isolate (SPI) is known to improve insulin resistance. Therefore, we measured parameters of whole body glucose metabolism in mice fed with high fat (HF) diet containing casein or SPI as main protein source for 4 weeks. Between mice fed with casein-HF diet and with SPI-HF diet, there is no difference in body weight, blood glucose levels, and plasma insulin levels. At 4 weeks after the initiation of HF feeding, we performed glucose tolerance test to evaluate whole body glucose tolerance between these two groups and found no difference of glucose tolerance in these two groups. These findings suggested that SPI has little effect to improve insulin resistance under the condition of 4 week HF feeding.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：栄養学 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

メタボリック症状群・糖尿病が増加の一途をたどる中で、食生活の改善による生活習慣病の予防・治療の重要性が増している。実際に、炭水化物・脂質の過剰摂取や飽和・高不飽和脂肪酸の摂取は、メタボリック症状群・糖尿病を増悪させることが指摘され、食事の炭水化物・脂質の質的・量的な摂取指針が推奨されている。しかし、食事の炭水化物・脂質の質・量が糖代謝へ及ぼす作用に比べ、蛋白質摂取による糖代謝への作用については未だ十分に解明されておらず、食事の蛋白質摂取に関する指針も十分な科学的根拠に基づいていない。

蛋白質摂取による糖代謝への作用評価を困難にする一因として、個体糖代謝の要である肝糖産生に対する作用の二面性をあげることができる。蛋白質摂取に伴い、糖代謝調節の主要ホルモンであるインスリン・グルカゴンの両者の分泌が亢進することが報告されている。インスリンは肝糖産生を抑制するが、一方でグルカゴンは、蛋白質摂取後のアラニンなど肝糖産生基質の増加とともに肝糖産生を増加させる。また、このような蛋白質摂取後の複雑な糖代謝作用を検討するための肝糖産生解析が煩雑で時間を要することも、解明を妨げる要因になっている。

研究代表者はメタボリック症状群・糖尿病の病態解明を目的として、遺伝子転写制御による肝糖産生調節メカニズムの解明に取り組んできた。また、その過程において、STAT3 や Crtc2 といった転写制御関連分子の肝糖産生・個体糖代謝への重要性を明らかにする一方で (Wang Y, Inoue H, et al. PNAS. 2010./Inoue H, et al. Cell Metab. 2006/Inoue H et al. Nat Med. 2004.)、糖代謝解析技術および遺伝子改変動物作成技術を習得してきた。

本研究課題では、挑戦的萌芽研究課題として、研究代表者が培ってきた糖代謝解析技術・遺伝子改変動物作成技術を活用し、簡便な肝糖産生モニタリング法に作成・実証することにより、メタボリック症状群・糖尿病の予防に適した蛋白質摂取の解明に取り組むことを目指している。

2. 研究の目的

食事の蛋白質が個体糖代謝に及ぼす作用は、炭水化物・脂質に比べ、十分に解明されていない。蛋白質摂取後の肝糖産生への作用の二面性が、蛋白質摂取に伴う糖代謝作用の解析を困難としている。本研究課題では、蛋白質摂取の個体糖代謝・肝糖産生に及ぼす作用を解明することを目的として検討を行った。

3. 研究の方法

研究代表者は、本研究課題のために、培って

きた遺伝子発現検出技術を応用し、肝糖産生を検出する肝糖産生モニタリングマウスを作成した。肝糖産生モニタリングマウスでは、肝糖産生評価を血液サンプルで行うことから、同一個体で長期間にわたる経時的な肝糖産生評価を可能とする。本研究課題では、(1)肝糖産生モニターマウスの有用性の確認(従来法での肝糖産生評価との整合性の確認)と、(2)高蛋白食摂取(カゼイン/大豆由来蛋白)下での糖代謝測定および肝糖産生モニタリングを行う。

4. 研究成果

研究代表者は、肝糖新生酵素遺伝子 G6pc プロモーター下に、高感度バイオマーカーとして、血中に分泌されるルシフェラーゼを発現するマウスを、肝糖産生モニタリングマウスとして、作成した。当該マウスにおいて、肝糖産生を約 20 倍の感度で検出する肝糖産生モニタリングマウスを作成した。肝糖産生モニタリングマウスでは、肝糖産生評価を血液サンプルで行うことから、同一個体で長期間にわたる経時的な肝糖産生評価を可能とする。本年度には、肝糖産生モニタリングマウスに対し、肝糖産生が変化する食事摂取またはインスリン注入条件において、分泌型ルシフェラーゼの血中活性と従来法での肝糖産生評価との整合性を確認し、特許出願を行った。

肝糖産生モニタリングマウスに対し、随時摂餌状態から、24 時間の絶食を行い、その後再度、餌を与えた後 24 時間までの血中ルシフェラーゼ活性を測定した。G6pc 遺伝子発現の経時変化と同様に、絶食後 24 時間まで増加し、再摂餌後 24 時間まで血中ルシフェラーゼ活性は減弱した。1.25mU/kg/min の高インスリン正常血糖クランプ法では、肝糖産生が抑制され、インスリン投与後 120 分で G6pc 量は約

30%程度にまで減少することを確認している。肝糖産生モニタリングマウスに高インスリン正常血糖クランプ法による検討を行い、血中ルシフェラーゼ活性を測定したところ、インスリン投与後 180 分において、約 60%程度まで血中ルシフェラーゼ活性が減弱した。

大豆たんぱく(SPI)が、インスリン抵抗性を改善する可能性が指摘されていることから、カゼインを主たる蛋白質源とする対照高脂肪食と、カゼインを SPI に置換した SPI 高脂肪食を投与し、マウスモデルでの投与実験を行った。対照高脂肪食、SPI 高脂肪食のそれぞれの投与下においてマウスを飼育し、投与後 4 週間まで毎週随時摂食下の血漿を採取し、血糖値・血中インスリン値などの糖代謝パラメーターとともに、血中ルシフェラーゼ活性を測定した。

体重・血糖値・血中インスリン値のいずれについても、SPI 食および対照食の 2 群間にお

いて、明らかな差を認めなかった。さらに、投与後4週間で実施した糖負荷試験においても、SPI食および対照食の2群間において、明らかな耐糖能の変化を見出さなかった。そこで、肝臓糖脂質代謝関連遺伝子発現の評価を追加して検討を行った。随時摂食下での、肝臓における糖産生系酵素 G6pc・PEPCK を測定し

たが、SPI食および対照食の2群間において、明らかな変化を見出さなかった。これらの結果から、4週間の高脂肪食負荷に対しては、SPIとカゼインの間に、必ずしも明らかな個体糖代謝・肝糖産生に及ぼす作用に差がない可能性が示唆された。

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4件)

1. Kimura K, Nakamura Y, Inaba Y, Matsumoto M, Kido Y, Asahara S, Matsuda T, Watanabe H, Maeda A, Inagaki F, Mukai C, Takeda K, Akira S, Ota T, Nakabayashi H, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H. Histidine augments the suppression of hepatic glucose production by central insulin action. *Diabetes*. 2013 Jul;62(7):2266-77. 査読有.
2. Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, Terasawa K, Kashiwara D, Hirano K, Tani T, Takahashi T, Miyauchi S, Shioi G, Inoue H, Tsujimoto G. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*. 2013;4:1829. 査読有.
3. Lee YS, Sasaki T, Kobayashi M, Kikuchi O, Kim HJ, Yokota-Hashimoto H, Shimpuku M, Susanti VY, Ido-Kitamura Y, Kimura K, Inoue H, Tanaka-Okamoto M, Ishizaki H, Miyoshi J, Ohya S, Tanaka Y, Kitajima S, Kitamura T. Hypothalamic ATF3 is involved in regulating glucose and energy metabolism in mice. *Diabetologia*. 2013 Jun;56(6):1383-93. 査読有.
4. Asahara S, Shibutani Y, Teruyama K, Inoue HY, Kawada Y, Etoh H, Matsuda T, Kimura-Koyanagi M, Hashimoto N, Sakahara M, Fujimoto W, Takahashi H, Ueda S, Hosooka T, Satoh T, Inoue H, Matsumoto M, Aiba A, Kasuga M, Kido Y. Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (RAC1) regulates glucose-stimulated insulin secretion

via modulation of F-actin. *Diabetologia*. 2013 May;56(5):1088-97. 査読有.

[学会発表](計4件)

1. 井上啓: 金沢大学次世代重点研究プログラム 第4回「食」による生活習慣病予防医学の展開シンポジウム「食と肝糖産生の制御」2013年11月21日(金沢)
2. 木村久美、松本道宏、春日雅人、井上啓: 第34回日本肥満学会「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」2013年10月11日(東京)
3. 木村久美、井上啓: 第67回 日本栄養・食糧学会「ヒスチジンは、中枢神経を介してインスリン作用による肝糖産生抑制を増強する」2013年5月25日(名古屋)
4. 井上啓: 第3回「食」による生活習慣病予防医学の展開シンポジウム「ヒスチジンによる肝糖代謝調節」2012年12月6日(金沢)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称: 肝糖産生モニターマウス
発明者: 井上啓
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特願 2012-95075
出願年月日: 2012年04月18日
国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等
<http://inoue.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者
井上 啓 (INOUE HIROSHI)

金沢大学脳・肝インターフェースメディスン
研究センター・教授
研究者番号：50397832

(2)研究分担者
該当なし

(3)連携研究者
該当なし