

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：17601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560056

研究課題名(和文) 軟らかい食物が小太り糖尿病をまねく機序とその分子機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of molecular mechanisms for diabetes induced by soft diet

研究代表者

伊達 紫 (Date, Yukari)

宮崎大学・理事

研究者番号：70381100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：普通食を水で軟らかくした軟食を1日3時間の制限給餌で飼育されたラットは、耐糖能異常、インスリン抵抗性、脂質代謝異常を呈することを明らかにした。組織学的検討では、膵ラ氏島の過形成に加え、細胞でのKi67免疫活性細胞が増加しており、細胞再生の亢進が示唆された。また、肝臓でのインスリンシグナル伝達分子の活性が低下するとともに、高血糖や高インスリン血症により活性化する脂肪蓄積因子の発現が増加していた。これらの結果から、軟食を早食いさせたラットは、顕著な肥満を伴わない糖尿病モデルとなることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we found that rats fed soft diet on 3-h restricted feeding show glucose tolerance, insulin resistance, and lipid accumulation in the liver. These rats also demonstrated impairment of insulin signal transduction in the liver and increase in the number of islets compared with rats fed standard chow. We showed that lipid accumulation factors induced by hyperglycemia and hyperinsulinemia also increase in rats fed soft diet. Taken together, it was thought that rats fed soft diet on 3-h restricted feeding could be a novel of type II diabetes without significant obesity like Japanese and Asian people.

研究分野：内分泌学・代謝学

キーワード：軟食 糖尿病 インスリン抵抗性 脂肪肝 膵ラ氏島過形成

1. 研究開始当初の背景

日本人やアジア人は、小太り(BMI 25程度)でも糖尿病になりやすく、米国の糖尿病患者においてもアジア系アメリカ人での2型糖尿病の発病率が高いことが知られている。その原因として、日本人は欧米人に比べ、インスリン分泌能が低く予備能が低下していることが示唆されてきた。しかしながら、肥満を示さずに耐糖能異常を呈するモデル動物が存在しなかったため、その科学的根拠は明確にはなっていなかった。

2. 研究の目的

私たちは、予備的研究から、ラットに与える食餌の性状を軟らかくすることで、高血糖や高インスリン血症を示す2型糖尿病ラットを作出できることを確認していた。そこで、本研究では、この軟食ラットにおける耐糖能異常の発症機序を検討することで、食物の性状と病態との関連性や米を主食とする日本人の糖尿病の特徴および発症機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 軟食ラットの代謝特性の検討

6週齢の雄性Wistarラットを、炭水化物65%の普通食をそのまま給餌する固形食群と重量比1.5倍の水でペースト状にした軟食群との2群に分けて24週間飼育する。摂餌時間は、午前9時から正午までの3時間とする。体温、酸素消費量、行動量および褐色脂肪組織でのUCP1発現を定量し、軟食ラットの軽度の肥満がエネルギー消費の低下によるものかどうかを検討する。また、同ラットを用いて、食前から食後1時間まで30分毎に採血を行う。採取した血液で、血糖、インスリン、消化管ホルモン；グレリン、コレシストキニン、ペプチYY、GLP-1を測定し、食物の性状と代謝関連ホルモンとの関連を明らかにする。

(2) 軟食ラットの耐糖能およびインスリン感受性に関する検討

絶食させた軟食ラットおよび対象ラットを用いて、耐糖能試験を実施する。また、給餌4時間後の軟食および固形食ラットの腹腔内にインスリンを投与し、経時的に血糖値を測定する。また、軟食および固形食ラットにインスリンを腹腔内投与し、30分後に脂肪組織、肝臓、筋肉を採取する。各臓器からタンパクを抽出し、IRS2やAktのリン酸化をWestern blottingで評価する。

(3) 軟食ラットの食物吸収に関する検討およびバイオマーカーの探索

軟食ラットの摂餌終了6時間後の胃内容物を測定し、栄養吸収の違いを対象ラットと比較検討する。また、腸上皮に存在するグルコーストランスポーターの発現の違いについても検討する。

4. 研究成果

軟食ラットのエネルギー摂取量および体重は、固形食ラットと比べ有意な差を認めなかった。エネルギー消費に関しては、行動量、酸素消費量、また、褐色脂肪組織でのUCP1発現には有意な差を認めなかったが、呼吸商の結果からは、固形食ラットに比べ軟食ラットの方が、脂質をエネルギー源として用いている比率の高いことが判明した。

軟食ラットが耐糖能異常をきたすといった予備的研究の結果から、満腹シグナルとして知られているCCKやPYY、また、インスリン分泌にも関与するGLP-1といった消化管ホルモン動態を検討した。食前、食中、食後で測定したホルモン動態は、軟食ラットと固形食ラット間で有意差を認めなかった。一方で、軟食ラットでは、食後の血糖値上昇が遷延しており、また、食中のインスリン値も高値を示した。軟食ラットの糖負荷試験では、血糖値およびインスリン値ともに2型糖尿病パターンを示し、同ラットではインスリン感受性も低下していた。これらの結果から、軟食ラットでは、明らかな肥満や消化管ホルモン動態の異常は見られなかったが、耐糖能障害およびインスリン抵抗性を呈することが判明した。

これらの結果を踏まえ、軟食ラットの肝臓でのインスリン抵抗性を分子レベルで解析したところ、IRS2の発現とAktリン酸化がいずれも低下していた。さらに、軟食ラットの肝臓では、高血糖や高インスリン血症で誘導される脂質合成因子SREBPおよびChREBPの発現増加、その下流因子であるACCのリン酸化の低下やFasnの発現増加が認められ、同ラットの肝臓で見られた脂肪肝や中性脂肪含量の増加と合致していた。

軟食ラットで明らかになった高インスリン血症やインスリン抵抗性を示す結果を基に、膵臓の組織的変化を検討したところ、膵ラ氏島の過形成とKi67の発現増加を認めた。また、軟食ラットでは、消化管での栄養吸収が極めて速いことに加え、腸上皮でのグルコーストランスポーターの発現が増加していた。これらの知見から、軟食ラットでは糖質の吸収が速く、それに伴いインスリン産生増加およびインスリン抵抗性の病態が形成され、過食や肥満を伴わない2型糖尿病を呈したものと考えられた。現在、軟食ラットからの単離ラ氏島を用いて、インスリン含量や細胞増殖に関与する因子の発現、グルカゴンの発現状況について検討している。また、腸管上皮での糖吸収メカニズムや腸内細菌叢の変化についても検討を始めている。

今回の研究で、食物の性状そのものが、糖代謝に影響を及ぼすことが明らかになった。食物の性状を食育や食習慣の改善に活かしていくために、今後さらなるメカニズムの解明を進めていく。

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)

Utoyama M, Akieda-Asai S, Koda S, Nuno H, Date Y: Role of the neural pathway from hindbrain to hypothalamus in the regulation of energy homeostasis in rats. *Neurosci Lett* 査読有 614:83-88 (2016)

Hasegawa K, Akieda-Asai S, Fujii Y, Bae CR, Yasuda M, Date Y: Guanylin-Guanylyl cyclase-C signaling in macrophages regulates mesenteric fat inflammation induced by high-fat diet. *Endocr J* 査読有 62(10):939-947 (2015)

Hasegawa K, Akieda-Asai S, Date Y: Characterization of inflammatory gene expression and chemotaxis of macrophages guanylin and guanylyl cyclase-C. *American Journal of Life Sciences* 査読有 3 (3):43-47 (2015)

Bae CR, Hasegawa K, Akieda-Asai S, Kawasaki Y, Cha YS, Date Y: The short-term effects of soft pellets on lipogenesis and insulin sensitivity in rats. *Prev Nutr Food Sci* 査読有 19(3):164-169(2014)

Bae CR, Hasegawa K, Akieda-Asai S, Kawasaki Y, Senba K, Cha YS, Date Y: Possible involvement of food texture in insulin resistance and energy metabolism in male rats. *J Endocrinol* 査読有 222(1):61-72 (2014)

Akieda-Asai S, Poleni PE, Date Y: Coinjection of CCK and leptin reduces food intake via increased CART/TRH and reduced AMPK phosphorylation in the hypothalamus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 査読有 306:E1284-E1291 (2014)

Akieda-Asai S, Poleni PE, Hasegawa K, Date Y: Role of the neural pathway from hindbrain to hypothalamus in interaction of GLP1 and leptin in rats. *J Endocrinol* 査読有 220(2):109-116 (2014)

Senba K, Matsumoto T, Yamada K, Shiota S, Iha H, Date Y, Ohtsubo M, Nishizono A: Passive carriage of rabies virus by dendritic cells. *Springerplus* 査読有 2:419 (2013)

Akieda-Asai S, Koda S, Sugiyama M, Furuya M, Miyazato M, Date Y: Metabolic features of rats resistant to a high-fat diet. *Obesity Research & Clinical Practice* 査読有 7(4):e243-250 (2013)

Akieda-Asai S, Sugiyama M, Miyazawa T, Koda S, Okano I, Senba K, Poleni PE, Hizukuri Y, Okamoto A, Yamahara K, Mutoh E, Aoyama F, Sawaguchi A, Furuya M, Miyazato M, Kangawa K, Date Y:

Involvement of guanylin and GC-C in rat mesenteric macrophages in resistance to high-fat diet. *Journal of Lipid Research* 査読有 54:85-96 (2013)

[学会発表](計 11 件)

長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: Possible involvement of food texture in insulin resistance and energy metabolism in rats. 第 10 回 Cardio-Diabetes 研究会 2016.3.5 リーガルロイヤルホテル東京(東京都新宿区)

宇藤山麻衣子, 日高綾乃, 長谷川和哉, 山田千紘, 秋枝さやか, 伊達紫: soft diet 自由摂食ラットにおける代謝バランスと内臓脂肪蓄積. 第36回日本肥満学会 2015.10.3 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

長谷川和哉, 秋枝さやか, 山田千紘, 日高綾乃, 宇藤山麻衣子, 宮里幹也, 寒川賢治, 伊達紫: 軟らかい食物の短期間摂取がインスリン抵抗性に及ぼす影響. 第 88 回日本内分泌学会学術総会 2015.4.23 ホテルニューオータニ東京(東京都千代田区)

長谷川和哉, 秋枝さやか, 川崎友里恵, 伊達紫: 軟らかい食物の短期間摂取がインスリン抵抗性に及ぼす影響. 第35回日本肥満学会 2014.10.25 シーガイアコンベンションセンター(宮崎県宮崎市)

Urushizaki S, Tani C, Akieda S, Ano H, Date Y, Yasuda M, Nishino K, Goto Y, Katamoto H; Inflammatory changes of adipose tissue and pancreatitis in cattle with fat necrosis. XXVIII World Buiatrics Congress 2014.7.27 Carins, Australia

長谷川和哉, 秋枝さやか, 川崎友里恵, 伊達紫: 食物の性状の違いがエネルギーバランスおよびインスリン抵抗性に及ぼす影響. 第 32 回内分泌代謝学サマーセミナー 2014.7.11 富士レークホテル(山梨県南都留郡)

長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: ソフトペレット(軟食)給餌による肥満を伴わない 2 型糖尿病モデルラットの解析. 第 87 回日本内分泌学会学術総会 2014.4.25 福岡国際会議場(福岡県福岡市)

秋枝さやか, 長谷川和哉, 宮澤崇, 宮里幹也, 寒川賢治, 伊達紫: グアニリン/GC-C システムの肥満抵抗性に関する研

究. 第87回日本内分泌学会学術総会
2014.4.24 福岡国際会議場 (福岡県福岡
市)

伊達紫: 肥満抵抗性ラットの解析. 第8回
宮崎サイエンスキャンプ 2014.8.7 青島青
少年自然の家 (宮崎県宮崎市)

伊達紫, 長谷川和哉, 川崎友里恵, 秋枝さや
か: 肥満を伴わない2型糖尿病モデル動物
におけるインスリンシグナル分子と
microRNA-33に関する研究. 第17回日本心
血管内分泌代謝学会学術総会 2013.11.22
千里ライフサイエンスセンター (大阪府豊
中市)

長谷川和哉, 秋枝さやか, 伊達紫: 過食・肥
満を伴わずインスリン抵抗性を示すソフ
トベレット (軟食) 給餌ラットの解析. 第
34回日本肥満学会 2013.10.11 東京国際
フォーラム (東京都千代田区)

[その他]

ホームページ等

宮崎大学フロンティア科学実験総合セン
ター 生理活性物質研究部門 生理活性物
質機能解析分野

<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/peptides/date/jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊達 紫 (Date Yukari)
宮崎大学・理事
研究者番号: 70381100

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

秋枝 さやか (Akieda Sayaka)
宮崎大学・フロンティア科学実験総合セン
ター・助教
研究者番号: 20549076

仙波 和代 (Senba Kazuyo)
別府大学・食物栄養科学部・准教授
研究者番号: 30381031

宮里 幹也 (Miyazato Mikiya)
独立行政法人国立循環器病研究センタ
ー・生化学部・部長
研究者番号: 50291183

寒川 賢治 (Kangawa Kenji)
独立行政法人国立循環器病研究センタ

ー・生化学部・所長
研究者番号: 00112417