

もち麦が糖尿病モデルマウスの糖代謝関連臓器の機能に与える影響

Effect of waxy barley on the functions of organs related to glucose metabolism in diabetic model mice

根本 友梨

Yuri Nemoto

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 人間生活科学専攻 修士課程

キーワード：もち麦, GLP-1, 糖尿病

Key words : Waxy barley, GLP-1, Diabetes

1. 目的

糖尿病発症ラットにおいて大麦食での血糖値抑制が顕著であること[1], 高脂肪食肥満誘導モデルマウスにおいて β -グルカンを含有する大麦を摂取させると腹腔内脂肪抑制作用, 耐糖能改善作用, コレステロール正常化を示すことが明らかになっている[2]. しかし, 糖尿病モデルマウスの糖代謝関連臓器(腎臓, 膵臓, 肝臓)の機能に及ぼす影響, GLP-1 の分泌の関与について検討した研究は少ない. そこで, 本研究では, 糖尿病モデルマウスにもち性大麦(以下, もち麦)を摂取させ, 糖尿病モデルマウスの糖代謝関連臓器の機能に及ぼす影響を検討し, そのメカニズムに GLP-1 分泌が関与するのかを明らかにすることを目的とした.

2. 研究実施内容

実験1: 5週齢の KK/Ta マウスを用い, 1群8匹の4群に群分けした. 短期対照群(SC)群と長期対照群(LC)群の飼料は, AIN-93G 組成を基本とし, 脂肪エネルギー比が 50%となるよう調整した. 短期もち麦(SM)群, 長期もち麦(LM)群の飼料は, もち麦を総食物繊維量として 5%となるよう配合した. 短期群は9週, 長期群は18週飼育した.

実験2: 5週齢の C57BL/6J マウスを用い, 1群8匹の3群に群分けした. 無処置(S)群と対照(C)群の飼料は AIN-93G 組成を基本とし, 脂肪エネルギー比が 50%となるよう調整した. もち麦(M)群は, もち麦を総食物繊維量として 5%となるよう配合した. C 群と M 群には, 6週目に streptozotocin (以下, STZ35mg/kg BW) を, S 群は生理食塩水を3日間腹腔内に投与し, 12週飼育した.

実験3: 5週齢の KK/Ta マウスを用い, 1群8匹の4群に群分けした. 対照(C)群の飼料は, AIN-

93G 組成を基本とし, 脂肪エネルギー比が 50%となるよう調整した. もち麦(M)群の飼料は, もち麦を総食物繊維量として 5%となるよう配合した. DPP-4 阻害薬投与対照群(CA)群, DPP-4 阻害薬投与もち麦群(MA 群)の飼料は, C 群と M 群の飼料にアログリプチンが 0.01%となるよう添加し 8週飼育した. 実験飼料と水を自由摂取させ, 体重と飼料採取量を測定した.

解剖の2週間前にインスリン負荷試験(ITT)を, 解剖の1週間前に経口糖負荷試験(OGTT)を実施した. ITT はインスリン (0.7U/kg BW) を腹腔内に投与した. 投与前 (0 分) および, 投与後 15 分, 30 分, 45 分, 60 分に尾部より採血し, 血糖値を電極法により測定した. OGTT は, 8時間の絶食後, 20%グルコース溶液 (1.5g/kg) を経口投与した. 投与前 (0 分), 投与後 15 分, 30 分, 45 分, 60 分, 120 分に ITT と同様の方法で採血, 測定した. 時間と血糖値変化量の曲線から, 曲線下面積 (iAUC) を算出した. 解剖時には, 8時間の絶食後, イソフルラン/炭酸ガスで安楽死させて採血し, 膵臓, 肝臓, 腎臓, 盲腸, 回腸, 腹腔内脂肪を摘出後, 重量を測定した. 盲腸内容物からジエチルエーテルで短鎖脂肪酸を抽出し, MTBSTFA で誘導体化後 GC/MS で測定した. また, 盲腸内の GLP-1 プールサイズ, 血清中の GLP-1 濃度とインスリン濃度, アディポネクチン濃度を ELISA 法にて測定した. 肝臓からは総コレステロールとトリグリセリドを Folch 法により抽出後, 酵素法で測定した. 血清グルコース, トリグリセリド, 遊離脂肪酸濃度は, 酵素法により測定した. さらに, 膵臓, 肝臓, 腎臓, 回腸の機能に関わる mRNA の発現量をリアルタイム PCR 法により測定した.

3. 結果と考察

実験1: 体重増加量, 飼料効率では, LC 群と比較し LM 群で有意に低値を示した. 膵臓, 肝臓, 腎臓の臓器重量の群間差は認められなかった. また, 腹腔内脂肪蓄積量も同様に LC 群と比較し LM 群で有意に低値を示した. 盲腸重量は, SC 群, LC 群と比較し, SM 群, LM 群で有意に高値を示した. しかし, ITT, OGTT の結果では, 群間差は認められなかった. また, 絶食解剖時の血清インスリン濃度と GLP-1 濃度においても群間差は認められなかったことから, 遺伝誘発性 2 型糖尿病モデルマウスのもち麦の耐糖能改善作用は認められなかったと考えられる. 一方, 膵臓のインスリン遺伝子 (Ins1, Ins2) の発現は摂取期間に関わらず, もち麦群が対照群より有意に低値を示した. インスリンの過剰合成が抑制されている可能性が示唆された.

実験2: 体重増加量, 飼料効率では, C 群と比較し M 群で有意に低値を示した. 膵臓, 肝臓, 腎臓の臓器重量の群間差は認められなかった. また, 腹腔内脂肪蓄積量も同様に C 群と比較し M 群で有意に低値を示した. 盲腸重量と盲腸内容物の総短鎖脂肪酸量は, C 群と比較し M 群で有意に高値を示した. 絶食解剖時の血清 GLP-1 濃度に有意差は認められなかったが, GLP-1 プールサイズは, C 群と比較し M 群で有意に高値であった. ITT における 30 分値では, C 群と比較し, S 群, M 群で有意に低値を示した. OGTT では, 0 分, 30 分, 120 分値で C 群と比較し, S 群, M 群で有意に低値を示した. 解剖時のグルコース濃度は, C 群と比較し M 群で低値を示した. インスリン濃度は, C 群と比較し, M 群で低い傾向を示した ($p=0.06$). 肝臓のトリグリセリド量は, C 群と比較し M 群で有意に低値であった. 膵臓の mRNA の発現量では, 膵臓の機能 (Ins1, Ins2, MafA, PDX1) において, 群間差は認められなかった. 肝臓の mRNA の発現量では, 脂質合成に関わる転写因子 (SREBP-1c) において, S 群と比較し M 群で低値を示したが, 糖代謝関連マーカーでは, 群間差は認められなかった. 腎臓の mRNA の発現量では, 繊維化マーカー (Col1A1, Col3A1, Acta2) において, 群間差は認められなかった. 回腸の L 細胞の機能に関わる mRNA の発現量では, NeuroD, GPR43, PGCG において, 群間差は認められなかった. 以上の結果, もち麦の摂取による STZ 誘発性 2 型糖尿病モデルマウスの耐糖能改善作用ならびに腹腔内脂肪蓄積

抑制作用が認められた. 肥満の抑制と GLP-1 分泌および短鎖脂肪酸の産生が促進されることで, 血糖上昇抑制に影響したと考えられる.

実験3: 体重増加量は, CA 群と比較し MA 群で高値を示した. 飼料効率は, C 群と比較し M 群で低値を示した. 膵臓, 肝臓, 腎臓の臓器重量の群間差は認められなかった. 腹腔内脂肪蓄積量では, C 群と比較し M 群で低値を示した. 盲腸重量は, C 群と比較し M 群で, CA 群と比較し MA 群で高値を示した. C 群, M 群と比べて CA 群, MA 群において血清の DPP-4 活性がいずれの群も約 50% 抑制されていた. OGTT の結果では, 0 分値, 15 分値, 30 分値において, CA 群と比較し MA 群で低値を示した. インスリン濃度は, CA 群と比較し, MA 群で低値を示した. GLP-1 プールサイズは, C 群と比較し M 群で, CA 群と比較し MA 群で高値を示した. 膵臓の mRNA の発現量では, インスリン遺伝子 (Ins1) において, CA 群と比較し MA 群で低値を示した. その他の膵臓の機能および炎症マーカー (Ins2, GLUT2, MafA, NeuroD, PDX1, IL-6, TNF- α , MCP-1) においては, 群間差は認められなかったことから, GLP-1 を介したもち麦の耐糖能改善作用が考えられる. したがって, KK/Ta マウスにおいて, もち麦は GLP-1 プールサイズを増加させるが, 単独では耐糖能改善作用を発揮せず, DPP-4 阻害薬の併用により耐糖能改善作用が顕在化することが示された.

4. この助成による学会発表

- [1] 日本食物繊維学会第 29 回学術集会.
- [2] 第 28 回日本病態栄養学会年次学術集会.

付記

本研究は大妻女子大学人間生活文化研究所の令和 6 年度大学院生研究助成 (B) (DB2424) を受けたものである.

主要参考文献

- [1] 池上幸江 (1991) ラットにおける実験的糖尿病発症に対する大麦の効果. 日本栄養・食糧学会誌 44 巻 6 号: 447-454.
- [2] 三尾建斗 (2019) マウスを用いた大麦摂取による糖代謝・脂質代謝に関する腸管-肝臓-脂肪組織のクロストーク解析. 人間生活文化研究 Int J Hum Cult Stud.No29:497-498.