

## 平成28年度 プロジェクト研究費研究実績報告書

平成 29 年 5 月 8 日

代表者 志村 二三夫

研 究 課 題 名	肝細胞を標的とし耐糖能改善を志向する機能性食品素材の探索とその機構に関する検討：とくにピルビン酸について
研 究 期 間	平 成 2 8 年 4 月 1 日 ～ 平 成 2 9 年 3 月 3 1 日
共 同 研 究 者	佐々木 菜穂
1. 今年度の研究概要	
<p>本研究は、エネルギー・物質代謝の中枢をなす肝細胞を標的とし、耐糖能改善を志向する機能性食品素材の探索とその機構解明をめざすものである。今年度は、ピルビン酸(Pyr)がインスリンを凌ぐ強さでヒト肝がん由来細胞株 HepG2 によるグルコースの細胞内取込みを促進するという申請者らの新知見を掘り下げた。Pyr はエネルギー栄養素代謝の重要な中間体として古くから知られ、近年は機能性食品としての利用が研究されている。しかし、Pyr の細胞外作用の実体やその機構はほとんど解明されていない。また、Pyr の細胞内グルコース取込みに対する作用の解析のために確立した評価系は汎用性があることから、これを用いてハーブ性機能性食品素材コレウス・フォルスコリ抽出物(CFE)の作用を検討した。</p> <p>研究代表者らは、機能性食品等が生活習慣病対策に資するとの観点から、政策決定に寄与できるレギュラトリサイエンス研究として、同食品の素材の有効性・安全性評価に取り組んでいる。公表論文[カバ, Food Chem Toxicol 46 (2008)被引用件数 18:イチョウ葉, J Pharmacol Sci 109 (2009) 被引用件数 18:コレウス・フォルスコリ, Food Chem Toxicol 50 (2011) 被引用件数 11:その他]の被引用件数によれば研究実績の評価は高い。本研究は、これらを踏まえ、体内代謝の中枢また生体異物主要処理器官である肝臓について細胞レベルで掘り下げる過程で得た上記知見を発展させるものである。肝細胞を標的とし耐糖能改善を志向する機能性食品素材等の探索・開発の基礎となり、ピルビン酸はもとより、類縁作用を有する物質の応用への道を拓き、産学官連携の方向性をもつ研究に当たる。</p> <p>マウス骨格筋由来 C2C12 細胞では、超生理的濃度のピルビン酸がグルコースの細胞内取り込みを抑制するという報告(Philp ら:Am J Physiol Cell Physiol 299 (2010))がある。一方、生理的濃度のピルビン酸の培養肝細胞によるグルコース取込みへの影響はこれまでに明らかとなっていない。よって、本研究は、学術的な意義も高い。</p>	
2. 研究の成果	
<p>1)Pyr の HepG2 における糖・脂質に対する作用</p> <p>①Pyr は HepG2 による細胞内グルコース取込みを生理的濃度(&lt;100 <math>\mu</math> M)で有意に亢進させた。最大作用の比較では、Pyr はインスリンを凌ぐ強さを示した。</p> <p>②OilRedO 染色法による検討で、Pyr は細胞内脂肪蓄積の亢進させた。</p> <p>③Pyr は基質(グルコース+Pyr)の乳酸への変換率の低下(好氣的代謝の寄与の亢進)をもたらした。</p> <p>④Pyr はミトコンドリア DNA のコピー数を増加させた。</p> <p>⑤Pyr はグリコーゲン蓄積量への影響を示さなかったが、ATP 量の蓄積をもたらした(予備的知見)。</p> <p>⑥糖代謝・脂質代謝関連遺伝子の発現への影響は Pyr と Ins では全く異なった。</p> <p>結論:Pyrは Ins とは異なる機序で HepG2 のグルコース取り込みを促すと推定される。Pyr はミトコンドリアの数または活性を増大し、細胞内呼吸を好氣的呼吸に移行させ、それに付随して上流のグルコース取り込みを促進する可能性がある。</p>	

2) CFE の HepG2 における糖・脂質に対する作用

①CFE は培養肝細胞によるグルコース取り込みを促進して中性脂肪蓄積を促した.

②この作用は単一成分ではなく複数成分の相互作用による.

結論:本研究は多成分系であるハーブ素材の有効性・安全性確保に向けた先駆的研究の特色をもつ.

3. 研究成果の公表実績・予定 (年月日, 方法)

1) 倉若美咲樹, 館花春佳, 佐々木菜穂, 志村二三夫. (2016)ピルビン酸は培養肝細胞によるグルコースの取り込みを促進する. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会. 神戸.

2) 館花春佳, 倉若美咲樹, 佐々木菜穂, 山崎優子, 梅垣敬三, 志村二三夫. (2016)コレウス・フォルスコリ抽出物 (*Coleus Forskohlii extract*: CFE) の培養肝細胞に対する作用. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会. 神戸.

3) 倉若美咲樹, 館花春佳, 佐々木菜穂, 山崎優子, 志村二三夫. (2016) 培養肝細胞によるグルコース取り込みと糖代謝関連酵素・輸送体の遺伝子発現に対するピルビン酸 (Pyr) の作用. 第 63 回日本栄養改善学会学術総会. 青森.

4) 館花春佳, 倉若美咲樹, 佐々木菜穂, 山崎優子, 梅垣敬三, 志村二三夫. (2016) 培養肝細胞におけるコレウス・フォルスコリ抽出物 (*Coleus forskohlii extract*: CFE) のグルコース代謝に対する作用. 第 63 回日本栄養改善学会学術総会. 青森.

5) 倉若美咲樹, 館花春佳, 佐々木菜穂, 志村二三夫. (2017) 培養肝細胞株 HepG2 によるグルコースの取り込み: インスリンを凌ぐピルビン酸の促進効果. 第 71 回日本栄養・食糧学会大会 (演題受理). 沖縄.

6) 培養肝細胞株 HepG2 によるグルコースの取り込みに対するピルビン酸の作用 (英文学術雑誌投稿準備中: 平成 29 年 9 月投稿予定)

7) 培養肝細胞株 HepG2 によるグルコースの取り込みに対するコレウス・フォルスコリ抽出物の作用 (英文学術雑誌投稿準備中: 平成 29 年 9 月投稿予定)

平成 29 年 11 月 24 日

平成 28 年度(2016 年) 研究概要

研究所・部門	プロジェクト研究費
研究課題名	肝細胞を標的とし耐糖能改善を志向する機能性食品素材の探索とその機構に関する検討:とくにピルビン酸について
研究代表者	志村 二三夫
研究期間	平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
共同研究者	佐々木 菜穂

1.研究成果取組状況

(1)国内外の学会発表

状況	発表者, 発表課題, 学会誌名, 発表年月日, 発表場所	招待講演
発表済	平成 29 年 5 月 日本栄養・食糧学会(沖縄) 一般演題(ポスター発表) 培養肝細胞株 HepG2 によるグルコースの取り込み:インスリンを凌ぐピルビン酸の促進効果 ○倉若美咲樹, 館花春佳, 佐々木菜穂, 志村二三夫	
発表済	平成 29 年 9 月 日本栄養改善学会(徳島) 一般演題(口頭発表) 外因性ピルビン酸が培養肝細胞のエネルギー栄養素の代謝に与える影響 ○倉若美咲樹, 館花春佳, 但木三恵, 名地佑紀美, 佐々木菜穂, 山崎優子, 志村二三夫	

(2)雑誌論文(学内紀要含む)

状況	発表者, 発表課題, 学会誌名, 発表年月日, 発表場所	査読有無
投稿予定	倉若美咲樹, 志村二三夫, 山崎優子: ケミルミイメーシングを用いた細胞内 A T P 測定の検討. 十文字学園女子大学紀要	有
投稿予定	Kurawaka M, Tatehana H, Sasaki N, Yamazaki Y, Shimura F: Exogenous pyruvate improves glucose metabolism and mitochondrial function in HepG2 hepatocytes. American Journal of Physiology-Cell Physiology	有

(3)図書等の出版

状況	発表者, 発表課題, 学会誌名, 発表年月日, 発表場所
出版済	
出版予定	

(4) シンポジウム・講演会等の開催

状況	主催者名・協賛社名等, 講演(発表タイトル), 実施年月日, 実施場所
開催済	
開催予定	

(5) 本研究に関連して本学経費以外に支援を得た補助金など

年度	機関・財団名, 事業名, 課題名