

# 大学院教育支援機構 企業寄附奨学制度（DDD） 報告書

氏名	氏原実優
研究科・専攻	農学研究科・応用生物科学専攻
修士/博士・学年	修士 1 年生
支援企業名	ニッポン

・提出期限：2024 年 3 月 29 日（金） 17：00

・ページ数に制限はありません。

・写真や図なども組み込んでいただいて結構です。

・各項目について具体的に記述してください。

## 奨学金を得て行った研究の成果

【目的】終末糖化産物（AGEs）とは、摂取した糖や糖代謝で生じる短鎖アルデヒドが体内のタンパク質と反応して生じる物質だ。AGEs は強い細胞毒性を持ち、動脈硬化、脳認知症等、あらゆる病気を引き起こす。加えて、AGEs となった体内のタンパク質は正常の機能を失ってしまう。一方、主要な短鎖アルデヒドとして、メチルグリオキサール（MG）とグリセルアルデヒド（GA）が存在する。MG は糖の中間産物の中でも特に、迅速に反応する。また、肥満や脂肪肝をはじめ、様々な代謝疾患で MG 濃度が上昇すると報告されている。一方、GA は他の短鎖アルデヒドと比べ、生体内含量が非常に多く、強い細胞障害性を示す。実際に糖尿病患者様の血漿中において、GA 濃度が有意に高かったこと、コロナ後遺症に苦しめられている患者様の血漿中において、MG 濃度が有意に高かったことを見出した。そのため、MG および GA は様々な疾患に関連すると考えられる。しかし、GA に関しては生体内で測定した例が少なく、GA と食成分の摂取や病態との関係に関する研究は進んでいない。また、MG および GA に関して、生成・代謝メカニズムは解明されていない。そこで、本研究では、2 大糖であるフルクトースとグルコースの代謝を調べ、短鎖アルデヒドをどのような経路で生成するかを明らかにすることを目指した。そして、短鎖アルデヒドの生成を抑制する作用のある機能性物質を見出し、病気の治療・予防に貢献することを最終目標とした。

【方法】7 週齢オスマウスを 4 個体ずつ 7 群に分け、1 週間順化した。順化後、コントロール群には純水を投与し、下大静脈血と臓器（肝臓、腎臓、小腸）を採取した。フルクトース投与群（F 群）では、投与後 15 分に 1 群目、30 分後に 2 群目、60 分後に 3 群目の下大静脈血と臓器を採取した。グルコース投与群（G 群）についても同様に処理を行った。また、投与したフルクトースおよびグルコースがどのような経路をたどって、MG および GA を生成するのか動態を追うため、本実験では安定同位体で標識した  $^{13}\text{C}_6$  フルクトースおよび  $^{13}\text{C}_6$  グルコースを用いた（自然界に存在するフルクトースおよびグルコースは  $^{12}\text{C}_6$ ）。その後、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、血漿中および臓器中の MG、GA、血中グルコース・フルクトース、酸化ストレスのバイオマーカーであるマロンジアルデヒド（MDA）を定量した。

## 【結果】

①血中グルコース・フルクトース濃度

血中 1 3 C 6 グルコース濃度および血中 1 2 C 6 グルコース濃度について、図 1 より、1 3 C 6 グルコース濃度については G 群において 1.6 mM 程大きく上昇し、F 群でも、300 μM 程わずかに上昇した。一方、図 2 より、1 2 C 6 グルコース濃度が F 群で 3 mM と非常に大きく上昇した。加えて、この上昇はわずか 15 分という短時間で起こっていることが分かった。この結果から、フルクトースは自身もわずかにグルコースに変換するほか、体内にもともと存在していたアミノ酸等を基質としてグルコースを生成する糖新生そのものを亢進させることが示唆された。一方、図 3 の血中 1 3 C 6 フルクトース濃度定量結果と図 1 の 1 3 C 6 グルコース濃度定量結果の比較により、G 群の 1 3 C 6 グルコース濃度よりも、圧倒的に F 群の 1 3 C 6 フルクトース濃度の方が少ないことが分かった。この結果より、投与した 1 3 C 6 フルクトースはほとんど血中に移行しないことが示唆された。

#### ②肝臓中・腎臓中 MG 濃度

図 5 より、主に糖新生が行われる肝臓中で、F 群で 1 2 C 3 MG 濃度が有意に上昇した。一方、図 4 の 1 3 C 3 MG 濃度と比較しても 1 2 C 3 MG 濃度の上昇が大きいことから、フルクトースは自身が MG の基質となるよりも、他の基質を用いて MG 生成経路を亢進させることが示唆された。また、同じく糖新生を行う腎臓においても同様の結果が得られた。

#### ③十二指腸中 GA 濃度

図 6 より、F 群は G 群と比べ、十二指腸中の GA 濃度が有意に上昇した。また、①より、投与したフルクトースは血中に移行しなかったことから、フルクトースは消化吸収を司る小腸で既に大半が代謝されて GA となり、血中には移行しないことが示唆された。

#### ④血漿中、腎臓中 MDA 濃度

図 7 より、F 群は G 群と比べ、血漿中の MDA 濃度が有意に上昇した。また、腎臓や小腸といった臓器中でも F 群での MDA 濃度上昇が見られた。

#### 【考察】

上記の結果より、フルクトースは①小腸で大半が代謝され GA を多量に生成する。②そのため、血中には移行せず、血糖値が上がらない。③糖を摂取したにも関わらず血糖値が上がらないと異常を感じた肝臓と腎臓が糖新生を亢進させる。④糖新生の亢進と共に MG 生成経路も亢進される。⑤この過剰な代謝が身体に負担をかけた結果、酸化ストレスが上昇する、と考察した。

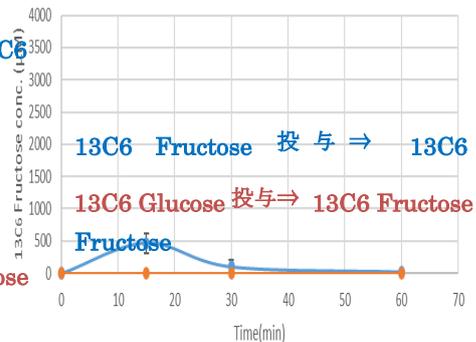
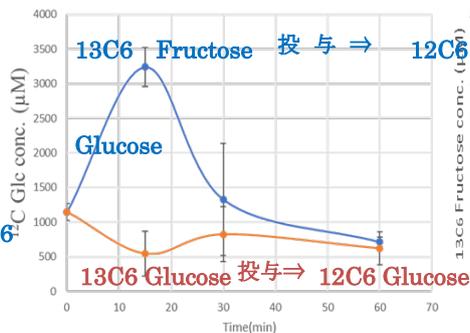
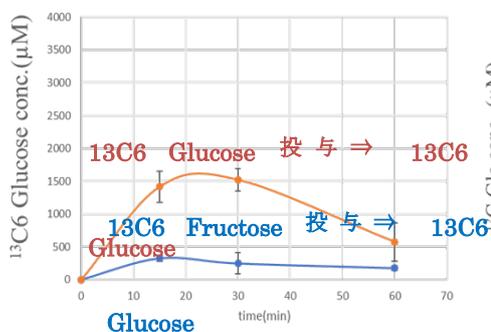


図1 血中<sup>13</sup>C<sub>6</sub>グルコース濃度

図2 血中<sup>12</sup>C<sub>6</sub>グルコース濃度

図3 血中<sup>13</sup>C<sub>6</sub>フルクトース濃度

図1より、G群において<sup>13</sup>C<sub>6</sub>Glucoseは1.6 mM上昇した一方、図2より、F群において<sup>12</sup>C<sub>6</sub>Glucoseは3mMと非常に大きく上昇することが分かる。また、図3より、フルクトースはほとんど血中に移行しないことが分かる。

⇒フルクトースはグルコースよりも、血中への移行は少ない一方、糖新生を大きく亢進させることが示唆された

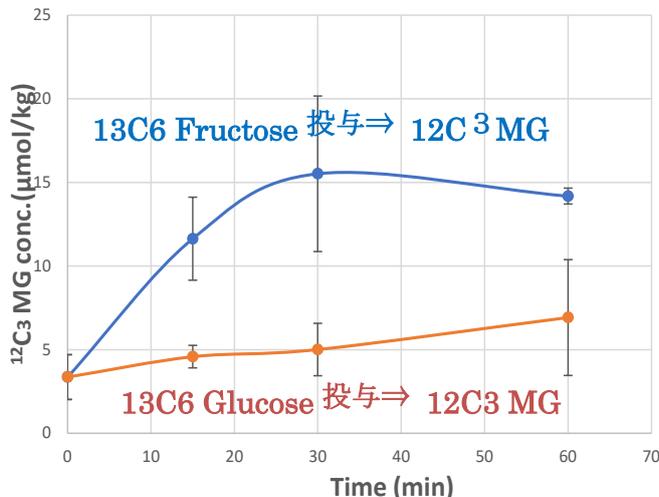
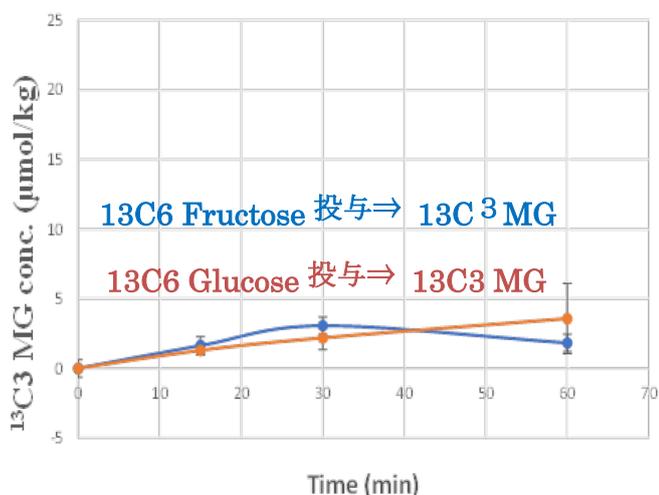


図4 肝臓中<sup>13</sup>C<sub>3</sub>MG濃度

図5 肝臓中<sup>12</sup>C<sub>3</sub>MG濃度

F群において、図4より<sup>13</sup>C<sub>3</sub>MGは3 μM程上昇した一方、図5より<sup>12</sup>C<sub>3</sub>MGは3 μM⇒15 μMと大きく上昇⇒フルクトースは、自身がMGに変換するよりも、MGの生成を亢進する作用が大きいことが示唆された

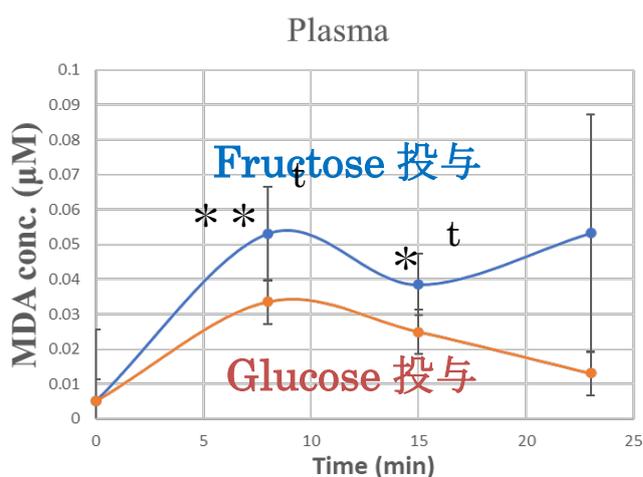
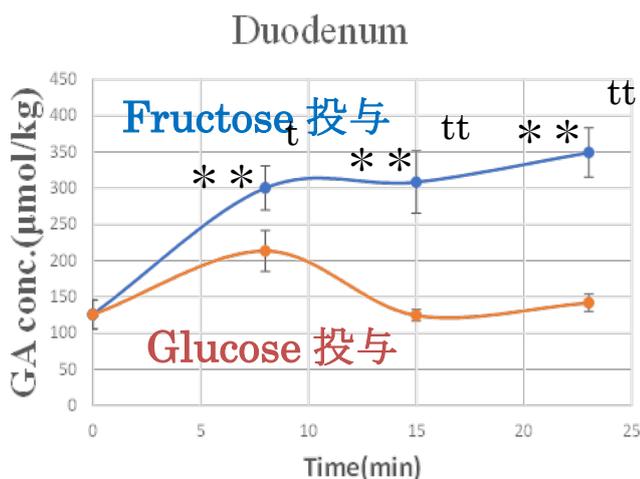


図6 十二指腸中GA濃度

図7 血中MDA濃度

図6よりF群はG群と比べ、十二指腸中GA濃度が有意に上昇した。また、図7よりF群はG群と比べ、血中のMDA濃度が有意に上昇した。

(\*p<0.05 \*\*p<0.01 vs 0min grope, t p<0.05, tt p<0.01 G群 vs F群)

## **産学協同の取組における成果**

企業様の前で研究発表を行うという貴重な経験をさせて頂き、発表のスキルを養うことが出来た。また、自身が思い至らなかった部分について質疑を頂いたことで、今後新たな視点で研究を進めていくことに繋がった。別の奨学生の研究内容を拝見することが出来たことも、自身の研究分野とは異なる研究内容で非常に興味深く、刺激になった。今回の取り組みを踏まえ、今後の研究に尽力していきたい。

## **今後の展望**

上記のフルクトースの代謝の仮説が正しいのかを検証するため、また短鎖アルデヒド生成の根本的な要因を突き止めるため、2つの試験を検討している。1つ目はフルクトースそのものが原因ではなく、甘味受容体の活性によって短鎖アルデヒドが過剰に生じた可能性についての試験である。フルクトースは糖の中でも甘味度が非常に高く、グルコースの2.5倍、砂糖であるスクロースの2倍ある。そのため、今回生じた現象はフルクトースそのものが原因ではなく、甘味受容体の異常な活性による可能性がある。そこで、強い甘味を持つアスパルテーム・スクラロースなどの人工甘味料と比較行うことで、根本的な原因を突き詰めたい。2つ目は、フルクトース摂取に関係なく、小腸内にグリセルアルデヒドが多量に存在することが、その後の糖新生やメチルグリオキサールの生成、そして酸化ストレスの増大という一連の現象を引き起こすという可能性である。そこで、腹部に注射することで小腸内にグリセルアルデヒドを直接投与し、糖新生やメチルグリオキサール生成の活性、酸化ストレスを調べることで明らかにしたい。根本的な原因が違えば、短鎖アルデヒドを抑制するアプローチ方法も異なってくるため、詳細に突き詰めたい。