

乳由来カルシウムの摂取が糖尿病モデルマウスの糖代謝および膵臓機能に及ぼす影響

著者	山中 千恵美
学位名	博士（生活科学）
学位授与機関	大妻女子大学
学位授与年度	2017
学位授与番号	32604博人甲第7号
URL	http://id.nii.ac.jp/1114/00006533/



学位論文審査の結果の要旨

報告番号 : 甲(又は乙) 第 7 号

学位申請者	山中 千恵美
論文題目	乳由来カルシウムの摂取が糖尿病モデルマウスの糖代謝および膵臓機能に及ぼす影響
審査委員	主査 青江 誠一郎
	副査 高波 嘉一
	副査 田中 直子
	上西 一弘 (女子栄養大学)

提出された学位申請論文「乳由来カルシウムの摂取が糖尿病モデルマウスの糖代謝および膵臓機能に及ぼす影響」の内容に関する査読審査を行った。

カルシウムの過不足により、糖尿病のリスクにどのように影響するのか、糖尿病モデルマウスを用いて膵臓の機能を中心に調べた研究である。そしてカルシウムの中でも牛乳中のカルシウムが糖尿病モデルマウスの膵臓の機能維持に、有効であること、どの成分が寄与しているかを明らかにした研究である。

研究の背景として、カルシウムの摂取不足あるいは乳製品の摂取量減少が2型糖尿病ならびに肥満発症のリスクと関連があるという研究報告が2000年以降多く発表された。すでに、申請者は修士論文でカルシウム摂取による内臓脂肪蓄積抑制作用についてマウスを用いて検証し、論文として報告している。今回の研究は、カルシウム摂取による糖尿病のリスク低減を検証すべく膵臓の機能に着目して研究したものである。

論文は6章で構成されている。第1章は、研究の背景、先行研究と修士論文から課題を整理した。

第2章は、通常用いられる炭酸カルシウムを用いて、摂取量の過不足が膵臓機能にどのように影響するのか調べた。飼料はAIN-93G組成を基本組成とし、カルシウム含量が0.25%、0.5%、1.0%となるように炭酸カルシウムを配合した。マウスの飼料ではカルシウムとして0.5%配合するのが標準で、その半量と倍量で検討した。その結果、作用メカニズムは異なるが、カルシウムの摂取が過不足のいずれにおいても膵臓機能に悪影響を及ぼすことが示された。糖尿病の初期段階で慢性低カルシウム摂取は、膵臓での炎症を誘発し、インスリン抵抗性を促進することが認められた。また、高カルシウム摂取では、カルシウム摂取の低下とは異なり、血清PTH濃度が低下することで血清リン濃度が上昇し、インスリン抵抗性に影響している可能性が考えられた。本結果は、日本栄養・食糧学会誌に投稿し、掲載可と評価された。

第3章は、炭酸カルシウムと牛乳由来のカルシウムを比較するため、乳製品から牛乳の主要なカルシウム形態であるミセル性リン酸カルシウム(MCP)を調製することを試みた。市販のミルクカルシウムはMCPの形態をしていないため、自ら大量調製法を検討した。検討の結果、酸性下でMCPをレンネットカゼインから分離し、別途カゼインホスホペプチド(CPP)を加えるこ

とで MCP-CPP を調製する方法が確立できた。HPLC 分析の結果、既報の MCP-CPP と同等の MCP-CPP が調製できたことが確認でき、次の実験を可能にした。

第 4 章では、第 3 章で調製した MCP-CPP を用い、その耐糖能および膵臓機能に及ぼす影響を検討した。飼料のカルシウム含量は 0.5% として、糖尿病の初期段階の検討を行うために 10 週間飼育を、糖尿病の進行期の検討を行うために 12 週間飼育を行った。その結果、10 週間飼育では、ITT 試験（インスリン負荷試験）により、インスリン投与前後の血糖値の値が炭酸カルシウム群に比べて、MCP-CPP 群で有意に低値を示した。膵臓の機能ならびに炎症に関わる mRNA 発現量が、炭酸カルシウム群に比べて MCP-CPP 群で有意に低値を示した。糖尿病が進展してくる 12 週間飼育では、糖尿病の悪化に伴い起こる膵臓での炎症を MCP-CPP は顕著に抑制していることがわかった。したがって、2 型糖尿病モデルマウスである KK/Ta マウスにおいて、MCP-CPP 摂取は炭酸カルシウム摂取に比べて、インスリン抵抗性の進展が抑制され、糖尿病の進展に伴う膵臓での炎症が抑制された可能性が示された。

第 5 章では、乳中のカルシウム形態である MCP-CPP と同様の組成をした組成塩を作成し、MCP-CPP 組成塩が耐糖能および膵臓機能に関して MCP-CPP と同様の作用を示すかを検討した。膵臓の機能に関わる mRNA 発現では、インスリン分泌に関わる *Ins1*、*Ins2* やその上流に位置する *PDX-1*、*MafA*、インクレチンの応答に関わる *GLP1-R* の mRNA 発現がコントロール群（炭酸カルシウムをカルシウム源）に比べて MCP-CPP 組成塩群、MCP-CPP 群で有意に低値を示し、膵臓での炎症に関わる *IL-6*、*TNF α* 、*MCP-1*、*IL-1 β* の mRNA 発現量も、コントロール群に比べて MCP-CPP 組成塩群、MCP-CPP 群で有意に低値を示した。本結果より、MCP-CPP 組成塩、MCP-CPP の摂取はともに、2 型糖尿病モデルマウスの膵臓機能を維持し、膵臓での炎症を抑制することが確認され、MCP-CPP 組成塩と MCP-CPP の膵臓機能、炎症に関する効果が同等であることが認められた。したがって、ミセル性リン酸カルシウムの構成成分であるカルシウムイオン、カゼインホスホペプチド、無機リンの三要素がミセル性リン酸カルシウムの機能に必要であることが証明された。

第 6 章では、カルシウムイオンとカゼインホスホペプチドが重要な因子と考え、単独あるいは組み合わせて効果を比較した。インスリン抵抗性ならびに膵臓の機能に関わる mRNA 発現量の結果、塩化カルシウム（溶解してイオン化するカルシウム）ならびに MCP-CPP 組成塩で悪化が抑制された。また MCP-CPP 組成塩のみで炎症の抑制が観察された、これらの結果より、炭酸カルシウム摂取よりも塩化カルシウム摂取の方が膵臓の機能を維持し、炎症を抑制することが確認された。さらに、塩化カルシウムに CPP を加えると消化管内で MCP-CPP が生成し、インスリンの分泌や膵臓の炎症をより顕著に抑制することが確認できた。以上の結果、カルシウムイオンが大きく関与していること、カゼインホスホペプチドとカルシウムイオンの組み合わせが MCP-CPP 形成に重要であり、最も効果を発揮することを明らかにした。

本研究は一貫して、2 型糖尿病モデルマウスを用い膵臓機能を調べるために炎症マーカーならびに様々な膵臓機能マーカーを遺伝子レベルで解析するとともに、経口グルコース負荷とインスリン投与試験も並行して行い個体全体の反応もチェックしながら詳細な検討を加えた。質疑応答による審査において、カルシウム過剰時のリンの作用がまだ解明されていないこと、MCP-CPP がどのような代謝経路で膵臓機能に影響を及ぼしたかについて直接的な証明がないことが指摘された。これらは、今後の課題として整理された。

これらの研究成果は、カルシウムの適量摂取が膵臓機能の維持ならびに 2 型糖尿病の予防に有効であること、また、カルシウムの質としては乳由来のミセル性リン酸カルシウムが有効であることを示した研究となった。本研究は、栄養学、健康科学の分野で大きな貢献をなしうると評価し、提出された論文に併せて履歴書、研究業績書などを総合的に審査して博士（生活科学）の学位を授与するに相応しいことを審査員一同は認める。