

<平成 27 年度助成>

日本食における「食べる順序」の研究 —健康維持・増進に対する有用性の科学的検討—

矢部 大介

(関西電力医学研究所 糖尿病研究センター)

背景と目的

肥満や糖尿病を代表とする生活習慣病の発症予防や治療に対して、インクレチンと呼ばれる消化管ホルモン glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP)、glucagon-like peptide-1 (GLP-1) が注目されている^{1,2)}。GLP-1、GIP は食事由来の様々な栄養素に反応して、消化管内分泌細胞から分泌され、血糖降下作用を発揮するほか、血圧降下作用や脂質改善作用を有する^{1,2)}。栄養素による GLP-1、GIP の分泌促進について、グルコースやアミノ酸（特にグルタミン）、脂肪酸による分泌促進メカニズムが明らかにされつつあるが、いまだ不明な点が多く検討が必要である^{3,4)}。最近、我々はインクレチン分泌と「食事の順番」に着目して研究を進める過程で、会席料理にみられるような魚料理を米飯の前に喫食することで GLP-1 分泌が促進され、胃排出遅延やインスリン分泌促進を介して食後血糖上昇を著しく抑制していることを見いだした⁵⁾。本知見は、栄養素に対する暴露順序がインクレチン分泌に重要なことを示唆するが、米飯の前に魚料理を喫食することでどのような代謝経路が活性化され、GLP-1 分泌が促進されるのか、先行研究は一切なくメカニズム解明が急務である。さらに、魚料理に変えて肉料理（熱量と栄養素比率を魚料理に一致）でも、GLP-1 分泌が促進され、胃排出遅延やインスリン分泌改善を介して食後血糖上昇が抑制される一方、興味深いことに、肉料理では GIP 分泌がより強く促進されることを見いだしている。GIP は脂肪蓄積作用を有するため、食事内容によっては食べる順番に配慮した食事療法が、肥満や糖尿病を代表とする疾患の発症を加速させる可能

性も危惧されるが、GIP 分泌促進メカニズムも不明であり解明が待たれる。

インクレチン分泌および作用を至適化する食事療法や機能性食品、薬剤の同定は、糖尿病をはじめ生活習慣病の発症抑制につながるものと考えられる。そこで、本研究では、1) 「食べる順番」に配慮した食事療法の長期効果を検証し、2) 網羅的メタボロミクスを用いた「食べる順番」の効果発現の鍵を握る栄養素の同定とインクレチン分泌制御機構の検討を行うことで、インクレチン系を介した生活習慣病予防戦略の基礎・臨床的検証を試みる。

方法

① 「食べる順番」に配慮した食事療法の長期効果の検証：

健診にて食後高血糖の存在が疑われる糖尿病ハイリスク者を対象に、「食べる順番」を基軸とした簡便な食事指導と、「栄養バランス」を基軸としつつ簡便に行える工夫をした食事指導の有効性を、従来療法との比較検討により明らかにする。

② GLP-1、GIP 分泌における代謝シグナルの同定とその役割解明：

GIP 分泌細胞および GLP-1 分泌細胞として確立された STC-1 細胞や GLUTag 細胞から、限界希釈法により糖・脂肪酸・タンパク質に対するインクレチン分泌特性の異なる細胞株を樹立、包括的メタボローム解析を行い、インクレチン分泌制御に関わる新規代謝シグナルを同定する。

結果と考察

① 「食べる順番」に配慮した食事療法の長期効果の検証：

関西電力健康保険組合に加入し、所定の事業所（合計4事業所）に勤務するもののうち、健診結果から積極的支援が必要とされるかつ、空腹時血糖値 126 mg/dL 未満 /HbA1c 5.6 % 以上を満たし、スクリーニング時の BMI が 18 kg/m² 以上、30 kg/m² 以下、年齢が 40 歳以上、60 歳以下の男女をリクルートし、43 名から参加同意を得た。43 名のうち 1 名がすでに糖尿病と診断され、内服加療中であったため除外した。各事業所単位で被験者のランダム割付を行ったところ、「食べる順番群」18 名、「栄養バランス群」13 名、「従来群」11 名となった。介入前の被験者背景は、「食べる順番群」が「従来群」と比して有意に若齢である以外は、3 群間で大きな差異は認められなかった（表 1）。介入前の身体計測、採血、連続皮下血糖測定終了後、特定保健指導に準じて初回面接を行った。「食べる順番群」、「栄養バランス群」は所定の教育プログラムを指導した。以後、月 1 回の電話、メールでの継続支援を行い、食べる順番および栄養バランスに関する遵守率も確認した。介入 6 ヶ月後に、身体測定、採血、連続皮下血糖測定を実施し（表 1）、前後比較および群間比較を行った。興味深いことに体重変化について、「従来群」（+ 0.90 ± 0.48 kg）に比して、「食べる順番群」（− 0.53 ± 0.48 kg）では、6 ヶ月間の介入により減量効果が統計学的に有意に高かった。一方、「栄養バランス群」（− 0.58 ± 0.87 kg）では、「食べる順番群」同様に減量効果が高かったが、「従来群」と比して統計学的有意差は得られなかった。介入前後の総エネルギー摂取量の差は、「従来群」（+ 45.6 ± 120.6 kcal/日）に比して、「食べる順番群」（− 165.6 ± 87.0 kcal/日）、「栄養バランス群」（− 206.4 ± 113.8 kcal/日）では共に減じる傾向があり、両群の減量効果を一部説明し得ると考えられた。なお、三大栄養素の摂取比率に関して、いずれの群においても介入前後で大きな差は認められなかった。空腹時

血糖値および食後血糖値の指標である 1,5-AG の変化量は、「従来群」に比して、「食べる順番群」、「栄養バランス群」のいずれも有意な差を示さなかった（表 1）。さらに、連続皮下血糖測定においても、72 時間の平均血糖値の平均変動幅は、「従来群」（− 0.18 ± 0.21 mM）に比して、「食べる順番群」（− 0.06 ± 0.31 mM）、「栄養バランス群」（− 0.13 ± 0.17 mM）のいずれも有意な差を示さなかった。本研究の被験者は、耐糖能が正常に近いため、血糖に関する指標において、「食べる順番群」、「栄養バランス群」の効果が十分見られなかった可能性がある。なお、3 群の食事療法に関する遵守率は、「従来群」（3.6 ± 0.2 点 /5 点満点）、「食べる順番群」（3.5 ± 0.2 点 /5 点満点）、「栄養バランス群」（2.9 ± 0.2 点 /5 点満点）であり、「栄養バランス」は、「従来群」に比して有意に遵守率が低かった。また、3 群の運動療法に関する遵守率は、「従来群」（3.3 ± 0.2 点 /5 点満点）、「食べる順番群」（3.5 ± 0.1 点 /5 点満点）、「栄養バランス群」（3.1 ± 0.2 点 /5 点満点）と同等であり、平均 1 日歩数も、「従来群」（8,967 ± 599 歩 /日）、「食べる順番群」（8,796 ± 720 歩 /日）、「栄養バランス群」（10,147 ± 729 歩 /日）と有意な差異はなかった。以上から、食べる順番は糖尿病に代表される生活習慣病のハイリスク患者に対して、減量効果を有する継続可能な食事療法であることが示唆された。

② GLP-1、GIP 分泌における代謝シグナルの同定とその役割説明：

STC1 細胞、GLUTag 細胞をはじめ、従来からインクレチン分泌研究に用いられている培養細胞を複数検討した結果、いずれも三大栄養素すべてに応答するものはなかった。栄養素感知に必要な膜表面受容体やトランスポーターの遺伝子発現を、quantitative RT-PCR により解析すると、グルコースの取り込みに必要とされる sodium/glucose co-transporter (SGLT) -1 の発現が著しく減じていた。そこで、SGLT1 を強制発現する細胞株を作出した。本細胞株を用いて各栄養素刺激前後でメタボローム解析、プ

表1 介入前後における各種パラメーターの変化

	従来療法 (n=11)			スマート和食 (n=13)			食べる順番 (n=18)			p値		
	介入前	介入後	差	介入前	介入後	差	介入前	介入後	差			
年齢	52.7±2.0	-	-	53.8±2.4	-	-	47.8±1.1*	-	-	-		
BMI	25.6±0.39	25.9±0.50	0.32±0.16	0.081	25.7±0.58	25.5±0.64	-0.22±0.30	0.468	26.1±0.59	26.0±0.74	-0.17±0.15*	0.320
体重 (kg)	75.7±1.5	76.6±1.6	0.90±0.48	0.087	75.7±2.2	75.0±2.4	-0.58±0.87	0.521	79.7±2.2	79.2±2.1	-0.53±0.48*	0.289
内臓脂肪面積 (cm ²)	153.5±5.5	140.9±9.0	-12.6±5.4	<0.05	145.8±8.2	132.3±8.6	-13.5±7.0	0.079	159.2±7.0	149.5±5.8	-9.7±4.1	<0.05
腹囲 (cm)	95.1±1.1	93.9±1.5	-1.2±0.9	0.205	95.1±1.5	92.8±1.8	-2.3±0.9	<0.05	96.7±1.4	95.7±1.2	-1.0±0.7	0.148
収縮期血圧 (mmHg)	130.5±4.7	125.5±4.4	-5.0±4.1	0.250	130.2±4.3	135.1±4.1	5.0±3.1	0.140	132.2±3.7	125.8±3.2	-6.4±3.4	0.077
拡張期血圧 (mmHg)	87.6±2.5	80.2±3.4	-7.5±2.6	<0.05	81.7±2.1	88.3±2.2	6.6±2.4*	<0.05	85.4±2.9	82.8±2.2	-3.7±2.7	0.185
空腹時血糖値 (mg/dL)	111.0±4.9	107.4±5.5	-3.6±2.4	0.154	110.4±2.9	105.0±2.9	-5.4±1.2	<0.05	115.6±2.3	109.3±2.9	-6.3±1.9	<0.05
HbA1c (%)	6.00±0.17	6.07±0.15	0.07±0.07	0.307	5.87±0.11	5.84±0.08	-0.07±0.04	0.307	5.94±0.08	5.99±0.08	0.05±0.04	0.252
グリコアルブミン (%)	14.16±0.60	14.27±0.54	0.11±0.11	0.337	13.66±0.34	13.92±0.31	0.25±0.14	0.090	13.84±0.30	14.08±0.30	0.24±0.08	<0.05
1,5-AG (μg/mL)	21.84±2.83	20.71±2.74	-1.13±0.52	0.057	26.85±2.08	25.97±2.10	-0.88±0.58	0.153	20.59±2.20	20.42±2.29	-0.17±0.34	0.619
インスリン	6.37±0.93	6.60±0.92	0.23±0.66	0.737	6.87±0.82	5.90±0.88	-0.97±0.56	0.110	8.33±0.67	9.30±0.74	0.97±0.78	0.227
HOMA-IR	1.75±0.28	1.80±0.33	0.05±0.18	0.812	1.87±0.23	1.51±0.22	-0.36±0.16	<0.05	2.37±0.19	2.52±0.21	0.15±0.24	0.541
HOMA-β	50.80±7.56	59.02±8.61	8.18±7.47	0.299	55.70±8.94	56.90±12.48	1.20±5.56	0.832	59.90±6.73	76.68±8.16	16.82±6.03	<0.05
Total GIP (pmol/L)	25.7±4.6	25.6±5.0	-0.0±3.4	0.996	23.0±3.2	22.3±4.6	-0.7±4.9	0.893	25.6±4.1	24.1±2.2	-1.5±3.6	0.683
Total GLP-1 (pmol/L)	3.2±0.5	3.2±0.5	-0.1±0.3	0.807	3.4±0.4	3.2±0.4	-0.2±0.2	0.286	3.5±0.4	3.5±0.3	0.1±0.3	0.764
Glucagon (pmol/mL)	9.9±1.1	9.9±1.1	0.0±0.7	0.992	9.8±1.4	7.1±1.1	-2.7±0.5	<0.05	10.4±1.4	8.8±1.2	-1.6±1.0	0.125
LDL-cholesterol (mg/dL)	123.4±9.5	132.2±8.7	8.8±3.6	<0.05	144.0±8.8	135.7±8.3	-8.3±4.1*	0.067	128.9±6.8	130.6±8.1	1.7±5.3	0.755
HDL-cholesterol (mg/dL)	55.5±4.2	56.4±4.4	0.9±2.0	0.659	52.2±3.7	52.8±3.1	0.6±1.2	0.618	50.8±3.3	51.2±3.2	0.4±1.2	0.718
Triglycerol (mg/dL)	136.1±20.3	180.7±44.9	44.6±25.8	0.114	154.9±21.6	153.8±25.4	-1.08±18.7	0.955	179.7±21.7	207.4±28.9	27.7±20.5	0.193
ALT (IU/mL)	27.9±4.6	23.8±2.3	-4.09±2.6	0.142	30.5±5.6	28.2±3.1	-2.38±5.9	0.695	47.1±7.2*	40.2±4.8*	-6.83±4.8	0.170
AST (IU/mL)	23.8±2.7	21.5±1.3	-2.4±1.5	0.150	25.0±2.2	22.5±1.2	-2.46±2.5	0.345	31.7±4.0	27.9±2.3*	-3.78±2.8	0.187
UA (mg/dL)	6.75±0.28	6.97±0.33	-4.09±2.6	0.076	6.99±0.31	6.64±0.29	-0.354±0.23*	0.145	7.04±0.30	6.87±0.32	-0.178±0.20	0.392

*, p<0.05 対 従来療法

ロテオミクス解析を行っており、いくつかの候補経路を同定した。現在、候補経路の律速酵素を siRNA でノックダウンを行い、効果を検討するとともに、遺伝子改変動物を用いて、食べる順番の機能発現における同酵素の役割を明確にしつつある。

謝 辞

公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団から研究助成を受けることで、本研究の遂行が可能になりました。深謝いたします。

参考文献

- 1) Yabe, D., and Seino, Y. (2013) Incretin actions beyond the pancreas: lessons from knockout mice. *Current opinion in pharmacology* 13, 946-953
- 2) Yabe, D., and Seino, Y. (2011) Two incretin hormones GLP-1 and GIP: comparison of their actions in insulin secretion and beta cell preservation. *Progress in biophysics and molecular biology* 107, 248-256
- 3) 矢部大介, and 清野裕. (2013) インクレチンと血糖管理 (1) 栄養素によるインクレチン分泌制御. *Diabetes Frontier* 24, 649-654
- 4) Parker, H. E., Gribble, F. M., and Reimann, F. (2014) The role of gut endocrine cells in control of metabolism and appetite. *Experimental physiology* 99, 1116-1120
- 5) Kuwata, H., Iwasaki, M., Shimizu, S., Minami, K., Maeda, H., Seino, S., Nakada, K., Nosaka, C., Murotani, K., Kurose, T., Seino, Y., and Yabe, D. (2016) Meal sequence and glucose excursion, gastric emptying and incretin secretion in type 2 diabetes: a randomised, controlled crossover, exploratory trial. *Diabetologia* 59, 453-461

Meal-Sequence in Washoku: Mechanisms and clinical evidence

Daisuke YABE

*Yutaka Seino Distinguished Center for Diabetes Research,
Kansai Electric Power Medical Research Institute, Osaka, Japan*

The incretins have recently been receiving substantial attention in type 2 diabetes prevention and management. The incretins, glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1), are secreted from the gut in response to the ingestion of various nutrients, including carbohydrates, proteins, and lipids, and enhance insulin secretion in a glucose-dependent manner to exert their glucose-lowering effects (J Diabetes Investig. 2010 Apr 22;1(1-2):8-23). It has also been demonstrated that GLP-1 delays gastric emptying and suppresses glucagon secretion to prevent postprandial glucose excursion, and that GLP-1 also induces satiety, thereby reducing bodyweight. In contrast, GIP, in collaboration with saturated and mono-unsaturated fats, stimulates energy storage in adipose tissues, and is thus linked to obesity. We demonstrated in a hospital setting that eating fish before rice enhanced GLP-1 secretion and ameliorated postprandial glucose excursions by increasing insulin secretion and delaying gastric emptying, in comparison to eating fish after rice (Diabetologia. 2016 Mar;59(3):453-61). A similar reversal of rice and meat, which is rich in saturated and mono-unsaturated fats that enhance the secretion of not only GLP-1 but also GIP, facilitates fat accumulation. Therefore, the types of fats ingested before carbohydrates should be chosen carefully. Using continuous glucose monitoring, we have recently shown that dietary instructions including meal-sequence are highly effective in reducing postprandial glucose elevation in healthy volunteers. Furthermore, we have also demonstrated that dietary instructions including meal-sequence are more effective than conventional instructions in reducing bodyweight and total calorie intake, among prediabetes subjects with similar adherence rates during a 6-month observation period. Thus, the meal-sequence is important not only for the management of type 2 diabetes, but also for its prevention. In this study, we also established entero-endocrine cells, in order to study the mechanisms regulating incretin secretions in response to various nutrients received in different sequences.