トレハロースの生理作用の探索

始まりからメカニズムにせまる最新の研究まで

誌名	応用糖質科学 : 日本応用糖質科学会誌 = Bulletin of applied glycoscience
ISSN	21856427
著者名	原島,哲
発行元	日本応用糖質科学会
巻/号	7巻2号
巻号補足	
掲載ページ	p. 91-96
発行年月	2017年5月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

応用糖質科学　第7巻　第2号　91-96 (2017)

JSAG The Japanese Society of Applied Glycoscience

総説

Questing Physiological Function of Trehalose: From the Beginning to Late-Breaking News*

トレハロースの生理作用の探索 —始まりからメカニズムにせまる最新の研究まで—*

(2017年1月20日受付；2017年2月14日受理)

原島　哲 (はらしま あきら)[1,**]
Akira Harashima[1,**]

[1] 株式会社林原・研究開発本部ウェルネス部ヘルスケア開発課
702-8006 岡山市中区藤崎 675-11

[1] Health Care Section, Wellness Division, R&D Center, Hayashibara Co., Ltd.
675-1 Fujisaki, Naka-ku, Okayama 702-8006, Japan

要旨：トレハロースは，2分子のグルコースがα,α-1,1-グルコシド結合した非還元性の2糖であり，自然界で多くの動植物・微生物に分布している．その生理作用についても，昆虫での血糖としての利用や動植物における乾燥などのストレス耐性への関与など，古くから数多く報告されている．20年程前に酵素的な手法により，安価にかつ大量に製造する方法が確立されると，食品・化粧品などに広く利用されるようになり，ヒトでの作用の研究も拡大した．その1つの大きな流れは，糖，脂質代謝に関する研究であり，脂肪細胞の肥大化抑制効果の発見からヒトでの生活習慣病リスク低減効果の検証にまで至っている．骨吸収抑制作用の発見から始まった研究からは，骨粗しょう症や歯周病の予防効果への期待も高まってきた．また神経変性疾患においても，予防・発症抑制の可能性を示す結果が数多く報告されている．この様に，数々のヒトでの生理作用の報告がある一方で，分子レベルでのメカニズムについては，強いオートファジー誘導能発見などを端緒として，漸く明らかとなり始めたばかりである．本総説では，トレハロースの生理作用の全貌を概観し，そのメカニズム解明の現状を紹介する．

キーワード：トレハロース，生理作用，オートファジー***

1. はじめに

トレハロース (trehalose) は，2分子のグルコースがα,α-1,1-グルコシド結合した非還元性の2糖である (図1)．1832年にドイツのWiggersが，ライ麦麦芽中の成分として報告したのが文献上の初めての記録とされ，1858年にフランスの化学者Berthelotが，ペルシャ地方の伝統的な食品 (薬？) として使われていたゾウムシの一種が造る繭trehala mannaから分離・抽出したことから，トレハロースと命名された[1]．この経緯からもうかがわれるように，トレハロースは自然界の多くの動植物・微生物に分布しており，特にキノコ・海藻・酵母類での含有量が多いことが知られている[2]．例えばキノコの一種のオオイチョウタケの子実体では，乾燥重量の28.4%がトレハロースであると報告されている[3]．これら自然界に存在するトレハロースによる，各種の生命現象を対象とした研究の歴史は長く，昆虫の血糖として利用されること，動植物において乾燥などの様々なストレス耐性に関与することなど多くの報告がある．またその生合成経路についても，古細菌から植物，昆虫に至る多くの生物種において，複数の経路が報告されている[1,4,5]．

ヒトを含む脊椎動物では，生合成経路は見つかっておらず自ら合成することはできないが，小腸の絨毛上皮や腎臓にはトレハロースを特異的に消化する酵素が存在し，その働きによりエネルギー源として利用されていることがわかっている[1,6]．しかし，ヒトがトレハロースを食品として摂取した場合に，エネルギー源以外として，どのような生理作用を示すかについては，20年程前までほとんど理解が進んでいなかった．

株式会社林原は1994年に，トレハロースを酵素的な手法により安価にかつ大量に製造する方法を確立した．その後，トレハロースは，食品・化粧品などに広く利用されるようになった．その利用の多くは，澱粉の老化抑制，タンパク質の変性抑制などの物理的な特性に基づくものであったが，この安定供給の開始を契機として，動物での試験やヒトでの効果の確認も容易になり，生理作用に関する研究も20年余りで大きく発展を遂げた．以降の項では，その研究の歴史を概観し，最近の分子的なメカニズムに迫る研

*本原稿は，日本応用糖質科学会平成28年度大会糖質科学シンポジウムで一部発表された．
**連絡先 (Tel. 086-276-3141, Fax. 086-276-6885, E-mail: akira.harashima@hb.nagase.co.jp)
***Key words: trehalose, physiological function, autophagy

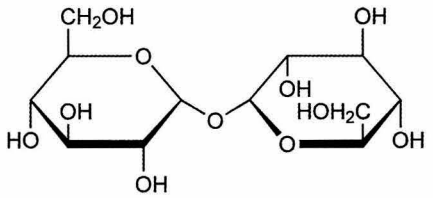

図1. トレハロースの構造式

究の状況までをまとめて報告したい.

2. トレハロースの生理作用研究

2.1. 生体高分子の保護作用

トレハロースの物理的な性質の中で，生理作用との関連で最も注目されるのが，タンパク質を始めとする生体分子に対して，一種のケミカルシャペロンとして保護的に働く作用である．現象として多くの報告がある一方で，そのメカニズムについて定説があるわけではないが，図2に模式図で乾燥状態のタンパク質の例を示したように，諸説が報告されている[7,8]．ガラス化説では，過剰のトレハロースは非晶質・高粘度のガラス化状態となり，生体分子を繭またはカプセルのように包み込みこむことによって，分子の動きを制限し構造変化を抑制すると考えられる．トレハロースは他の糖質に比べガラス化状態への転移温度が高く，より安定なガラス化状態を形成できると考えられている．水置換仮説では，トレハロースは生体分子と水和を形成している水分子と置き換わると考えられている．水補足仮説では，トレハロースは水分子と他の2糖類より強く柔軟な相互作用をすることにより，生体表面の水和を保持すると考えられている．

こうしたケミカルシャペロンとしての保護作用に基づくと考えられる生理作用の代表例が，乾燥・凍結などの環境ストレスに対する耐性である．アフリカの半乾燥地帯に生息する昆虫のネムリユスリカの幼虫では，トレハロースを体内に蓄積することによって，乾季に約97%の水を失っても無代謝の状態で生き続けられるクリプトビオシス (Cryptobiosis) という現象が報告されている[9,10]．また，乾燥地帯，山岳地帯に生息し強い乾燥耐性を示すことから別名，復活草と呼ばれているイワヒバでは，トレハロース合成がその耐性と密接に関連することが報告されている[11]．

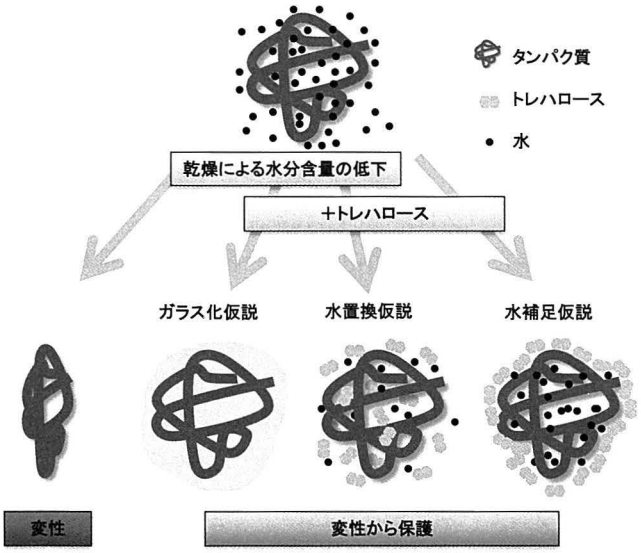

図2. 乾燥時のタンパク質安定化メカニズムに関する仮説

トレハロースには，ヒトの受精卵凍結保存など細胞の凍結保存への応用や，赤血球のフリーズドライへの可能性検討の報告もあるが，これらもケミカルシャペロンとしての機能を利用した応用例であるといえる[12,13]．

2.2. 糖，脂質代謝に対する作用

ヒトを含む脊椎動物での生理作用の解析は，糖質としてのエネルギー代謝の研究から始まった．前述のとおり，トレハロースはヒトでもトレハラーゼにより分解されてグルコースとして吸収されており，カロリーもグルコースとほぼ同等と考えられている．しかし，健常な日本人にて経口摂取での負荷試験を実施して比べてみると，グルコースの摂取時に比べて血糖値の上昇が緩やかで，インスリン値は低く保たれたのである[14,15]．後の研究では，小腸のK細胞から分泌されるインスリン分泌促進に働くインクレチンGIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide) の血清中の濃度も，このときに低値で推移していることが明らかとなっている[16]．

このようなデータを背景に，林原では，日本人の欧米型食生活への変化に起因して増加している，メタボリックシンドロームへの効果を調べる試験に精力的に取り組んだ．その結果，高脂肪食給餌のマウスにおいて，8週間持続的にトレハロースを飲水投与することにより，内蔵脂肪蓄積の指標となる腸間膜脂肪細胞の肥大化抑制効果を認めた (図3)[17]．14週間投与後の糖負荷試験では，耐糖能の悪化が抑制されていることも明らかとなり，これらの作用はフルクトースなどの他の糖質を与えたときには認められない，トレハロースに特異的な効果であることが実証できた[18]．さらに，高脂肪食負荷により予め肥満状態になっているマウスでも，腸間膜脂肪細胞の肥大化抑制，インスリン抵抗性改善効果が確認され，その効果には小型脂肪細胞からの高分子アディポネクチン産生の維持が寄与していることも見出された[19]．

このマウス試験でのデータを元に，ヒトで効果を示す可能性がある摂取量を10 g/日と定め，ボランティア試験としてBMI (body mass index) 23以上の肥満傾向の方を対象に，12週間トレハロース摂取を継続した[20]．その結果，糖負荷試験2時間後の血糖値を指標として，耐糖能が有意に改善することが明らかとなった (図4)．このような効果は，コントロール群 (スクロース摂取) には認められないものであった．

2.3. 骨代謝に関わる作用

林原で初期から取り組んでいたもう1つの生理作用研究が，骨代謝に関わる研究である．閉経後の女性を想定した，卵巣摘出により作成した骨粗しょう症モデルマウスに対して，4週間トレハロースを持続的投与すると，非投与

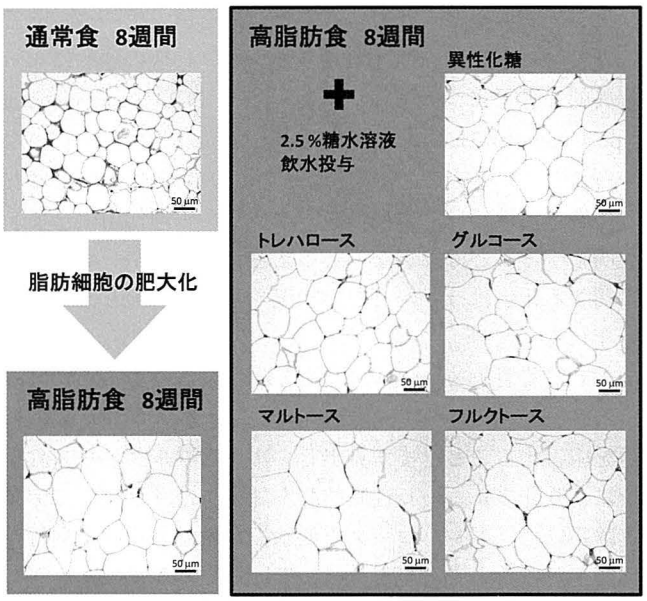

図 3. 高脂肪食負荷による腸間膜脂肪細胞肥大化とトレハロース投与による抑制

C57BL/6N 系統の正常マウスにおいて，通常食摂取を 8 週間継続摂取した群では，腸間膜脂肪細胞の直径は平均約 40～50 μm であったが，同期間，高脂肪食を摂取させることにより約 80～90 μm に肥大化した．トレハロースを同時に飲水投与することにより，その肥大化は約 60～70 μm 程度にまで抑制された．他の糖質には，そのような効果は観察されなかった．

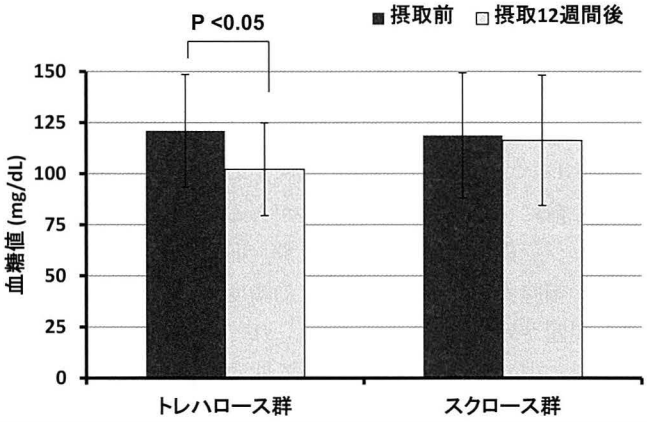

図 4. ヒトにおける耐糖能改善効果

肥満傾向のヒトを対象としたボランティア試験により，1 日 10 g のトレハロースあるいはスクロースを 12 週間摂取させ，摂取前後の糖負荷 2 時間後血糖値を比較した．トレハロース摂取により，糖負荷 2 時間後の血糖値が低下したが，スクロースではそのような効果は認められなかった．被験者数は各群 17 名ずつとした．

群に認められた大腿骨の乾燥重量の低下，破骨細胞数の増加が抑制され，骨粗しょう症の進行が遅延した[21]．このマウスの骨髄細胞では，破骨細胞を刺激して骨吸収を促進する作用を有する IL (interleukin)-6 の産生量が低下していた[22]．また大腸菌由来の LPS (lipopolysaccharide) 投与の炎症モデルマウスにおける試験においても，トレハロース投与は破骨細胞数の増加を抑制し，IL-6 と同様に骨吸収促進作用を示す，TNF (tumor necrosis factor)-α の血清中の濃度を低下させることが明らかとなった[23]．

さらに *in vitro* での小腸由来細胞株を用いた試験では，RANK (receptor activator of nuclear factor κ-B)-RANKL (RANK ligand) の結合阻害を介して，破骨細胞分化を抑制することが知られているオステオプロテジェリンの産生が増強されること，この作用はスクロースやマルトースのような他の 2 糖類には，認められないことが明らかとなった[24]．

近年では，骨粗しょう症と同様に，炎症進行による破骨細胞の活性化が，病態の進行に深く関わっている歯周病や歯周炎について，トレハロースにその進行を遅らせる効果が期待できるという研究成果も報告されている[25,26]．

2.4. 神経変性疾患研究からオートファジー促進作用発見

神経変性疾患に対する治療効果を示す最初の報告は，2004 年のハンチントン病モデルマウスにおける寿命延長効果であった[27]．貫名らは，ポリグルタミン変異を導入したミオグロビンタンパク質に対する凝集抑制効果を指標に，トレハロースを選択した．そして，ポリグルタミン変異導入ハンチンチンタンパク質を強制発現させた細胞株において，同時にトレハロースの合成系を強制発現させても凝集抑制が認められることから，トレハロースは細胞内にて直接的に変異タンパク質に作用し凝集を抑制していると結論付けた．そして，最終的には変異ハンチンチン遺伝子導入のハンチントン病モデルマウスを用いて，トレハロース投与が脳委縮が抑制するとともに，手足を縮めるクラスピング行動を指標としたハンチントン病の症状の進行を遅延し，寿命を延長することを確認した．

2007 年には，トレハロースが mTOR (mammalian target of rapamycin) を介さない系にてオートファジーを活性化し，その作用によって変異ハンチンチンタンパク質やパーキンソン病の原因タンパク質と考えられている α-シヌクレインが分解されるという，細胞レベルの実験でのオートファジー促進に関する初めての報告がなされた[28]．この研究により，トレハロースはポリグルタミン病だけでなく，種々の異常タンパク質の凝集に起因する様々な神経変性疾患の治療への有効性が期待されるようになった．トレハロースには前述のようにケミカルシャペロンとしての作用もあり，また細胞内の小胞体膜の輸送系に対する作用を示す結果もある[29]．よって，神経変性抑制に対するオートファジー活性化の寄与の程度については，議論の余地が残っている．しかしながら，上述の 2 報の報告の後，アルツハイマー病[29]，遺伝性脊髄小脳失調症[30]，筋委縮性脊索硬化症[31]，レビー小体病 (パーキンソン病，レビー小体病型認知症)[32]など，多くの神経変性疾患の治療への有効性を示唆する報告が続いており，一部ではヒトでの臨床試験も開始されている．

2.5. オートファジー促進作用から拡がった新しい可能性

トレハロースによるオートファジー促進作用は，神経細胞に留まらず多くの細胞種で観察される現象であることが，その後の数々の研究で明らかになっている．林原で正常ヒト表皮角化細胞を用いて確認した作用について図 5 に示すが，24 時間の刺激にて細胞内でのオートファゴソーム形成が明瞭に観察されている．そして，オートファジー

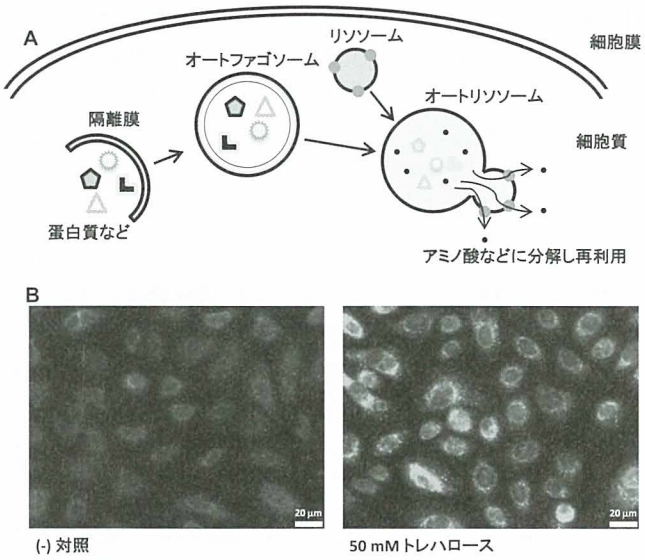

図5. オートファジー：概念図とトレハロースによる正常ヒト表皮角化細胞での誘導

(A) オートファジーの概念図. (B) 正常ヒト表皮角化細胞に50 mMのトレハロースを添加して24時間培養し，オートファゴソーム表面に発現するLC3B (microtubule-associated protein 1 light chain 3 β) を染色した．ドット状に染色されるオートファゴソームと考えられる細胞内構造物が，無添加の培養群に比べ著しく増加した.

の促進作用から，神経変性疾患のみならず多くの疾患の治療への応用の可能性を示すデータが報告されている．例えば，プリオンやサイトメガロウィルスの感染細胞では，オートファジー活性の促進を介した感染タンパク質，ウィルス除去の現象が報告され[33,34]，薬剤による腎臓の糸球体上皮細胞損傷への保護作用も報告されている[35]．また，血管内皮細胞でのオートファジー機能の低下が血管の老化に結び付くことを背景とした，トレハロース摂取による動脈硬化予防への可能性を検討する試みも進行している[36,37].

昨年のノーベル賞の医学・生理学賞は，酵母でのオートファジーのメカニズム研究のテーマで大隅良典先生が受賞された．この授賞式にて選考委員のラーション教授は，「大隅さんは細胞がどうやって組織を再利用し，病気を防ぐのかという長年の疑問を解き明かすための突破口となる研究を行った」と述べられたが，そのオートファジーを促進するトレハロースには，多くの疾患の予防や治癒に働く可能性が秘められているとも言い換えられる．その可能性の一端を上述にて紹介したが，物理的性質を利用してのドライアイ治療薬としての応用や，移植臓器の保存液としての利用も進められており，これらのオートファジー促進以外での機能との複合的な作用により，疾患・疾病の治療への有効性に関する報告は，今後，さらに広がりをみせるものと期待される.

3. 分子レベルでのメカニズム解析の進展

3.1. GLUT (glucose transporter) 阻害によるオートファジー誘導の発見

これまで紹介してきたように，多くの現象およびオートファジー誘導などのメカニズムの一端を示すデータがある一方で，ヒトを含む哺乳類でのトレハロースの標的になる特異的な分子については，味覚受容体T1R3 (taste receptor type 1 member 3) 以外は，最近まで明らかとなっていなかった[38]．このT1R3への作用とケミカルシャペロンとしての働きだけでは，前述のような多彩な生理作用の全てを説明しきることはできないと考えられていたが，標的分子に関する報告はほとんどない状況であった．そうした中，今年になって新たな標的分子としてグルコースの輸送体GLUTに着目した一連の研究成果が報告された[39,40]．De-Boschらは，トレハロースがGLUTによるグルコースの輸送を阻害することをまず見出し，次に高フルクトース食負荷により非アルコール性脂肪肝を誘導したマウスのモデル実験系にて，トレハロースを飲水投与すると病態の進行が抑制されることを確認した[39]．そして，メカニズムがグルコースやフルクトースの細胞への取り込み阻害による，細胞内のエネルギー枯渇により引き起こされるオートファジー，リポファジーの誘導であると提唱した．さらに，阻害メカニズムについて研究を進め，昆虫に発現するトレハロース輸送体であるTretと比較的高い相同性を示すGLUT8を介して，トレハロースが細胞内に取り込まれて，GLUTの細胞内ドメインに結合することにより，グルコースの輸送をブロックするという説を報告した[40].

3.2. 広範なメカニズムの可能性

オートファジーの促進作用の発見を契機とした，GLUT阻害およびGLUT8による細胞への取り込みの発見により，トレハロースの生理作用に関するメカニズム解析は，大きく前に一歩を踏み出した感がある．しかし，このオートファジー促進1つとってみても，血清中トレハロース濃度と，細胞実験で確認される有効濃度との乖離など，未解決の問題が残されていることも忘れてはならない.

また，古くから認識されている問題として，トレハロースが酵素により分解されグルコースとして吸収される糖でありながら，なぜ血糖値の上昇が緩やかなのか？の疑問は解決されていない．低インスリン刺激性なのは，GIPを産生する小腸のK細胞に対して低刺激性であることに起因すると予測されるが，このときK細胞の働きを制御しているメカニズムは未解明である．T1R3は小腸細胞にも発現しており，オステオプロテジェリンの産生増強作用には，このT1R3からの刺激が働いている可能性も考えられている.

この20年で明らかとなった，様々な生理作用を説明する可能性のあるメカニズムを図6の模式図にまとめたが，分子レベルまで掘り下げて考えると，未解決の点が多く残されている.

4. おわりに

トレハロースは，元々自然界に広く分布し，ヒトも日常的に摂取している糖質である．ケミカルシャペロンとして

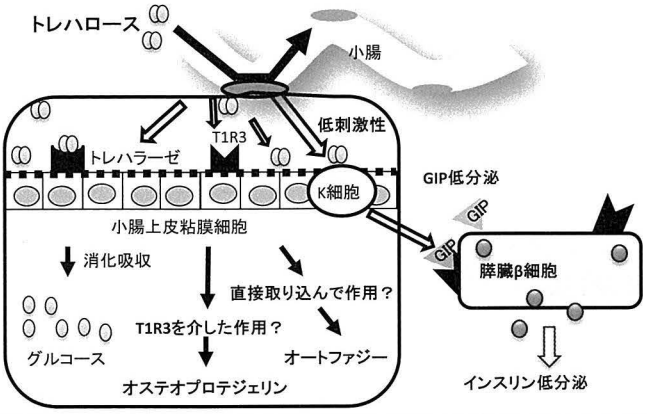

図 6. 経口摂取時の生理作用メカニズムの概念図 (仮説を含む)

の生体高分子の保護作用なども有することから，ヒトは太古より自然にその作用を受け，健康維持にも活用していたと考えられる．近年の研究で，その一端が明らかになってきただけであり，このように多くの生理作用の報告があるのは，ごく当たり前のことであるように感じている．

その一方で，報告されている多くの生理作用について概観しながら，その根本的なメカニズムに未解明の部分が多く残っていることで結ばなければならないことは，消化不良の感がある．しかしながら林原社内のみならず，世界中の研究者がトレハロースの生理作用に興味を示して研究を進めている結果として，今年になって発表されたGLUT阻害のデータなど，その解明は確実に一歩一歩と前進を続けている．今後も標的分子や小腸内の腸内細菌叢を介した働きなど，新たな発見が続くことに期待し，我々も独自の視点で追求を続けて行きたい．

謝辞

今回のシンポジウムの発表および総説の執筆には，多くの方にデータ，資料をご提供頂きました．スペースの関係があり全ての方の名前を記載することはできませんが，総説の図表用のデータをご提供頂いた，新井紀恵氏，新井千加子氏，溝手晶子氏，中村修治氏，有安利夫氏に，この場を借りて感謝の意を表したいと思います．

文献

1) A.D. Elbein: The metabolism of α,α-trehalose. *Carbohydr. Chem. Biochem.*, **30**, 227–256 (1974).
2) 奥　和之，澤谷郁夫，茶圓博人，福田惠温，栗本雅司：食品中のトレハロース含量．日食工誌，**45**，381–384 (1998).
3) 吉田　博，菅原龍幸，林　淳三：野生キノコ類の遊離糖，遊離糖アルコールおよび有機酸．日食工誌，**33**，426–433 (1986).
4) 今井亮三，島　周平，薮内威志，加藤英樹，松井博和：植物におけるトレハロース代謝とその機能．応用糖質科学，**1**，147–152 (2011).
5) A.D. Elbein: New insights on trehalose: a multifuctional molecule. *Glycobiology*, **13**, 17R–27R (2003).
6) T. Kamiya, K. Hirata, S. Matsumoto, C. Arai, C. Yoshizane, F. Kyono, T. Ariyasu, T. Hanaya, S. Arai, T. Okura, K. Yamamoto, M. Ikeda and M. Kurimoto: Targeted disruption of the trehalase gene: determination of the digestion and absorption of trehalose in trehalase-deficient mice. *Nutr. Res.*, **23**, 287–298 (2003).
7) N.K. Jain and I. Roy: Effect of trehalose on protein structure. *Protein Sci.*, **18**, 24–36 (2009).
8) 太田恒孝：トレハロースの機能性とその応用展開の可能性．「技術シーズを活用した研究開発テーマの発掘」技術情報協会，東京，pp. 681–688 (2013).
9) T. Kikawada, A. Saito, Y. Kanamori, Y. Nakahara, K. Iwata, D. Tanaka, M. Watanabe and T. Okuda: Trehalose transporter 1, a facilitated and high-capacity trehalose transporter, allows exogenous trehalose uptake into cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* **104**, 11585–11590 (2007).
10) M. Sakurai, T. Furuki, K. Akao, D. Tanaka, Y. Nakahara, T. Kikawada, M. Watanabe and T. Okuda: Vitrification is essential for anhydrobiosis in an African chironomid, *Polypedilum vanderplanki. Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* **105**, 5093–5098 (2008).
11) M.S. Liu, C.T. Chien and T.P. Lin: Constitutive components and induced gene expression are involved in the desiccation tolerance of *Selaginella tamariscina*. *Plant Cell Physiol.*, **49**, 653–663 (2008).
12) G. Brumfiel: Just add water. *Nature*, **428**, 14–15 (2004).
13) J.H. Crowe, L.M. Crowe, W.F. Wolkers, A.E. Oliver, X. Ma, J. H. Auh, M. Tang, S. Zhu, J. Norris and F. Tablin: Stabilization of dry mammalian cells: Lessons from nature. *Integr. Comp. Biol.*, **45**, 810–820 (2005).
14) T. Oku and S. Nakamura: Estimation of intestinal trehalase activity from a laxative threshold of trehalose and lactulose on healthy female subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **54**, 783–788 (2000).
15) J.G. van Can, L.J. van Loon, F. Brouns and E.E. Blaak: Reduced glycaemic and insulinaemic responses following trehalose and isomaltulose ingestion: Implications for postprandial substrate use in impaired glucose-tolerant subjects. *Br. J. Nutr.,* **108**, 1210–1217 (2012).
16) C. Yoshizane, A. Mizote, M. Yamada, N. Arai, S. Arai, K. Maruta, H. Mitsuzumi, T. Ariyasu, S. Ushio and S. Fukuda: Glycemic, insulinemic and incretin responses after oral trehalose ingestion in healthy subjects. *Nutr. J.*, **16**, 9 (2017).
17) C. Arai, N. Arai, A. Mizote, K. Kohno, K. Iwaki, T. Hanaya, S. Arai, S. Ushio and S. Fukuda: Trehalose prevents adipocyte hypertrophy and mitigates insulin resistance. *Nutr. Res.*, **30**, 840–848 (2010).
18) 新井千加子，宮田　学，吉實知代，小出一広，溝手晶子，新井紀恵，花谷利春，新井成之，福田惠温：トレハロースのランゲルハンス氏島保護作用：形態学的解析．栄食誌，**66**，17–24 (2013).
19) C. Arai, M. Miyake, Y. Matsumoto, A. Mizote, C. Yoshizane, Y. Hanaya, K. Koide, M. Yamada, T. Hanaya, S. Arai and S. Fukuda: Trehalose prevents adipocyte hypertrophy and mitigates insulin resistance in mice with established obesity. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **59**, 393–401 (2013).
20) A. Mizote, M. Yamada, C. Yoshizane, N. Arai, K. Maruta, S. Arai, S. Endo, R. Ogawa, H. Mitsuzumi, T. Ariyasu and S. Fukuda. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **62**, 380–387 (2016).
21) Y. Nishizaki, C. Yoshizane, Y. Toshimori, N. Arai, S. Akamatsu, T. Hanaya, S. Arai, M. Ikeda and M. Kurimoto: Disaccharide-trehalose inhibits bone resorption in ovariectomized mice. *Nutr. Res.,* **20**, 653–664 (2000).
22) C. Yoshizane, N. Arai, C. Arai, M. Yamamoto, Y. Nishizaki, T. Hanaya, S. Arai, M. Ikeda and M. Kurimoto: Trehalose suppresses osteoclast differentiation in ovariectomized mice (correlation with decreased in vitro interleukin-6 production by bone marrow cells). *Nutr. Res.,* **20**, 1485–1491 (2000).
23) C. Arai, M. Kohguchi, S. Akamatsu, N. Arai, C. Yoshizane, N. Hasegawa, T. Hanaya, S. Arai, M. Ikeda and M. Kurimoto: Trehalose suppresses lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis bone marrow in mice. *Nutr. Res.,* **21**, 993–999 (2001).
24) T. Ariyasu, C. Arai, C. Yoshizane, F. Kyono, T. Hanaya, S. Arai, M. Ikeda and M. Kurimoto: Trehalose augments osteoprotegerin production in the FHs74Int human intestinal epithelial cell line. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, **38**, 30–34 (2002).
25) K. Taya, K. Hirose and S. Hamada: Trehalose inhibits inflammatory cytokine production by protecting IκB-α reduction in mouse peritoneal macrophages. *Arch. Oral. Biol.*, **54**, 749–756

(2009).
26) Y. Endo, T. Tomofuji, D. Ekuni, T. Azuma, K. Irie, K. Kasuyama and M. Morita: Preventive effects of trehalose on osteoclast differentiation in rat periodontitis model. *J. Clin. Periodontol.*, **40**, 33–40 (2013).
27) M. Tanaka, Y. Machida, S. Niu, T. Ikeda, N.R. Jana, H. Doi, M. Kurosawa, M. Nekooki and N. Nukina: Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease. *Nat. Med.*, **10**, 148–154 (2004).
28) S. Sarka, J.E. Davies, Z. Huang, A. Tunnacliffe and D.C. Rubinsztein: Trehalose, a Novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and α-Synuclein. *J. Biol. Chem.*, **282**, 5641–5652 (2007).
29) N.T. Tien, I. Karaca, I.Y. Tamboli and J. Walter: Trehalose alters subcellular trafficking and the metabolism of the Alzheimer-associated amyloid precursor protein. *J. Biol. Chem.*, **291**, 10528–10540 (2016).
30) T. Seki, N. Abe-Seki, T. Kikawada, H. Takahashi, K. Yamamoto, N. Adachi, S. Tanaka, I. Hide, N. Saito and N. Sakai: Effect of trehalose on the properties of mutant PKC, which causes spinocerebellar ataxia type 14, in neuronal cell lines and cultured purkinje cells. *J. Biol. Chem.*, **285**, 33252–33264 (2010).
31) K. Castillo, M. Nassif, V. Valenzuel, F. Rojas, S. Matus, G. Mercado, F.A. Court, B. van Zundert and C. Hetz: Trehalose delays the progression of amyotrophic lateral sclerosis by enhancing autophagy in motoneurons. *Autophagy*, **9**, 1308–1320 (2013).
32) K. Tanji, Y. Miki, A. Maruyama, J. Mimura, T. Matsumiya, F. Mori, T. Imaizumi, K. Itoh and K. Wakabayashi: Trehalose intake induces chaperone molecules along with autophagy in a mouse model of Lewy body disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **465**, 746–752 (2015).
33) Y. Aguib, A. Heiseke, S. Gilch, C. Riemer, M. Baier, H.M. Schätzl and A. Ertmer: Autophagy induction by trehalose counteracts cellular prion infection. *Autophagy*, **5**, 361–369 (2009).
34) J.P. Belzile, M. Sabalza, M. Craig, E. Clark, C.S. Morello and D.H. Spector: Trehalose, an mTOR-independent inducer of autophagy, inhibits human cytomegalovirus infection in multiple cell types. *J. Virol.*, **90**, 1259–1277 (2015).
35) Y.L. Kang, M.A. Saleem, K.W. Chan, B.Y.M. Yung and H.K. W. Law: Trehalose, an mTOR independent autophagy inducer, alleviates human podocyte injury after puromycin aminonucleoside treatment. *PLoS One*, **9**, e113520 (2014).
36) T.J. LaRocca, G.D. Henson, A. Thorburn, A.L. Sindler, G.L. Pierce and D.R. Seals: Translational evidence that impaired autophagy contributes to arterial ageing. *J. Physiol.*, **590**, 3305–3316 (2012).
37) R.E. Kaplon, S.D. Hill, N.Z. Bispham, J.R. Santos-Parker, M.J. Nowlan, L.L. Snyder, M. Chonchol, T.J. LaRocca, M.B. McQueen and D.R. Seals: Oral trehalose supplementation improves resistance artery endothelial function in healthy middle-aged and older adults. *Aging*, **8**, 1167–1183 (2016).
38) T. Ariyasu, S. Matsumoto, F. Kyono, T. Hanaya, S. Arai, M. Ikeda and M. Kurimoto: Taste receptor T1R3 is an essential molecule for the cellular recognition of the disaccharide trehalose. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, **39**, 80–88 (2003).
39) B.J. DeBosch, M.R. Heitmeier, A.L. Mayer, C.B. Higgins, J.R. Crowley, T.E. Kraft, M. Chi, E.P. Newberry, Z. Chen, B.N. Finck, N.O. Davidson, K.E. Yarasheski, P.W. Hruz and K.H. Moley: Trehalose inhibits solute carrier 2A (SLC2A) proteins to induce autophagy and prevent hepatic steatosis. *Sci. Signal.*, **9**, ra21 (2016).
40) A.L. Mayer, C.B. Higgins, M.R. Heitmeier, T.E. Kraft, X. Qian, J.R. Crowley, K.L. Hyrc, W.L. Beatty, K.E. Yarasheski, P.W. Hruz and B.J. DeBosch: SLC2A8 (GLUT8) is a mammalian trehalose transporter required for trehalose-induced autophagy. *Sci. Rep.*, **6**, 38586 (2016).