

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590729

研究課題名（和文） 胃ホルモン・グレリン概日リズムと戦略的治療法の探索

研究課題名（英文） A Food-entrainable, Circadian Rhythm in Humans: Ghrelin Secretion is Controlled by Regular Eating Habits

研究代表者

大津留 晶 (OHTSURU AKIRA)

長崎大学・病院・准教授

研究者番号：00233198

研究成果の概要（和文）：光同調性概日リズムは、明暗刺激に同調し 1 日周期の概日リズムを形成する。一方、胃ホルモン・グレリンは 1 日 4 峰性ピークのリズムを持ち、このグレリン概日リズムは、従来の概日リズムとは全く別の制御メカニズムによると推測される。グレリンの日内変動が、単に食事摂取カロリーや血糖などの代謝要因にのみで規定されるのか、それとも食習慣にもとづく何らかの概日リズムに左右されているかを明らかにした。解析した結果、グレリンは摂食時に変動する代謝因子以外の、調整因子、即ち食習慣によって規定される新たな概日リズムによって制御されていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The physiological circadian rhythm corresponding to a synchronous food-anticipatory activity has not been demonstrated in human studies. The plasma ghrelin level characteristically shows four peaks per day, compared to the typical one peak of other hormones based on light-entrainable circadian rhythm. We examined whether ghrelin secretion is mainly controlled by food-entrainable circadian rhythm or metabolic factors. Fourteen healthy subjects received a regular diet with three meals at fixed times for 14 days. Blood was collected from an intravenous brachial catheter every 60 min between 7:00 and 20:00 on the 1st and 14th study day. There were no significant differences in BMI and % body fat during the 2-week period with fixed meal times. There were no meaningful differences between the average 7:00 to 20:00 ghrelin, blood glucose, and cortisol levels, but the leptin and insulin levels were significantly lower on Day 14 than on the Day 1. Following a fixed feeding schedule for the 2-week period resulted in a regular ghrelin circadian rhythm reflecting a periodic pre-meal elevation instead of an individually irregular pattern (coefficient of variation of Day 1 vs. Day 14,  $0.64 \pm 0.10$  vs.  $0.49 \pm 0.06$ ;  $p < 0.01$ ). The circadian patterns of blood glucose, insulin, leptin, and cortisol showed no significant differences between Day 14 and Day 1. The results of the present study show that, in healthy adults, a regular eating habit can create a ghrelin-based, food-entrainable circadian rhythm, which might be related to reductions in leptin and insulin resistance.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計			

研究分野：医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：グレリン、光同調性概日リズム、食事同調性概日リズム、レプチン、インスリン感受性、β酸化代謝経路

## 1. 研究開始当初の背景

胃癌などで胃切除術を受けた患者は、食欲低下・体重減少をきたし、骨軟化症・ダンピング症候群・貧血・免疫力低下などの症状を併発しやすくなる。近年、オーファン受容体の内因性リガンドであるグレリン(Ghrelin)が胃の新規内分泌ホルモンとして同定され、成長ホルモン刺激因子とは異なる機構で、成長ホルモン(GH)分泌を促すことが報告された(Nature 402: 656-60, 1999)。その後グレリンは食欲増進作用のあることが明らかとなり、我々もグレリンの意義を胃切除症例で検討した結果、空腹時グレリンレベルと術後体重減少が相関することが明となった(日本臨床 62(9)406-409, 2004.)。グレリンは通常1日4峰性リズムで胃より分泌されるが(New Engl J Med 346: 1623-30, 2002.)、グレリン日内変動の病態生理学的意義に着目した研究はこれまでほとんどない。すなわち1日4峰性リズムの要因は、食事による血糖やインスリンの分泌がグレリン濃度を低下させ、逆に血糖とインスリンが下がるとグレリン濃度は上昇する代謝調節説が有力で、一日3回食事をすれば、当然4峰性リズムになると考えられてきた。ところが絶食試験を行ったところ、予想に反し、血糖やインスリンの変動が少なくても、グレリン日内変動が見られた。さらに食事時間を通常より2時間遅らせて摂る実験を行った。すると通常の決まった食事時間のほうに一致したグレリンのピークが見られた。もし代謝因子のみでグレリン分泌が規定されているのであれば、実際の食事と分泌ピークは一致するはずである。このことはグレリンの分泌は、何らかのまだ解明されていない概日リズムによって胃内分泌細胞より分泌リズムが規定されているのではないかと推測される。

## 2. 研究の目的

胃ホルモン・グレリンの日内変動を、対照群の健康成人と胃切除群で比較し、グレリンー成長ホルモンの概日リズムが何によって規定されるか、具体的には食習慣で規定されるのかどうかを解析し、新規概日リズムの存在を明らかにする。

## 3. 研究の方法

血漿グレリン(c-terminal & n-terminal)と血糖、インスリン、BNP, GH, IGF-I, レプチン、ケトン体、遊離脂肪酸などの日内変動を採血し、血清および血漿を保存する。自覚症状1) 食欲不振、2) 腹鳴、3) 全身倦怠感、4) 睡眠を、ビジュアル・スコアスケールにより0~10で評価。身長・体重・体脂肪率を測定。

$\%Ghrelin = (\text{測定値} - \text{最小値}) \times 100 / \text{最大値}$   
変動係数 = 標準偏差 ÷ 平均

統計解析処理法：対応のある t-検定。

不規則な食生活を送っている健康成人に対し、14日間、カロリー制限をせず、決まった時間、朝(8時)・昼(12時)・夕(18時)に食事をとってもらい、第1日目と第14日目に、前腕皮静脈の留置針より7~20時の間、毎正時に採血を行う。

本研究は長崎大学病院倫理委員会の承認(0701 18 26-2)、対象者への書面によるインフォームド・コンセントを得ている。



## 4. 研究成果

表1. 2週間の食習慣づけによる朝食前の各種パラメーターの変化

	1st day	14th day
Body weight (kg)	58.3 ± 7.9	57.9 ± 7.9
BMI	21.1 ± 1.6	21.0 ± 1.6
Intake calories (kcal/day)	2258 ± 381	2335 ± 354
% body fat	19.0 ± 8.4	18.6 ± 8.2
Ghrelin (fmol/ml)	22.2 ± 14.8	19.4 ± 8.2
Glucose (mg/dl)	90.4 ± 7.3	86.6 ± 7.1
Insulin (μIU/ml)	5.94 ± 2.20	4.14 ± 1.68
HOMA-R	1.33 ± 0.50	0.88 ± 0.37
Leptin (ng/ml)	5.12 ± 5.03	2.42 ± 2.14 *
Cortisol (μg/dl)	15.5 ± 3.9	19.1 ± 5.4

図1. グレリン日内変動 (1日目)

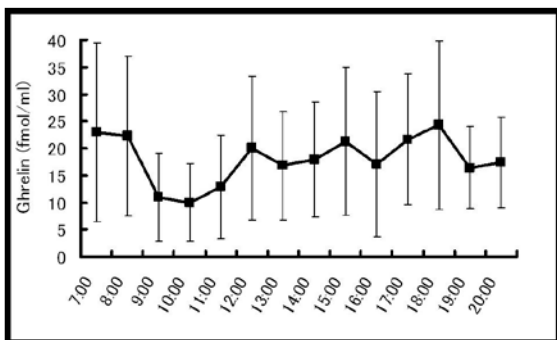


図2. グレリン変動 (14日目)

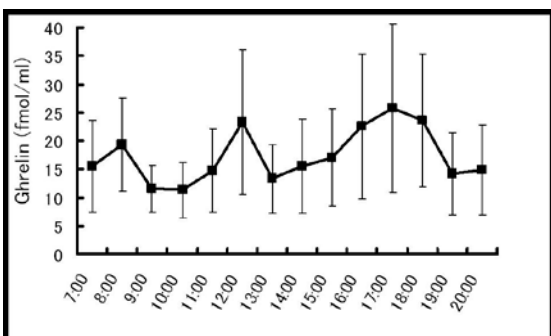


図3. %グレリン日内変動 (1日目)

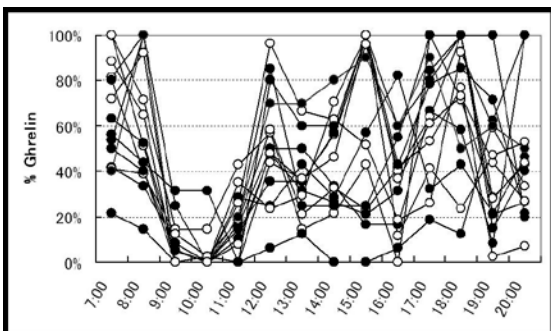


図4. %グレリン日内変動 (14日目)

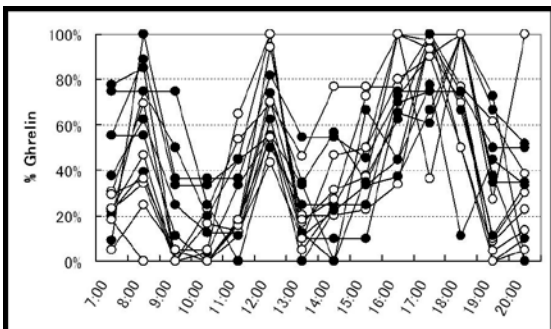


図5. コルチゾール日内変動

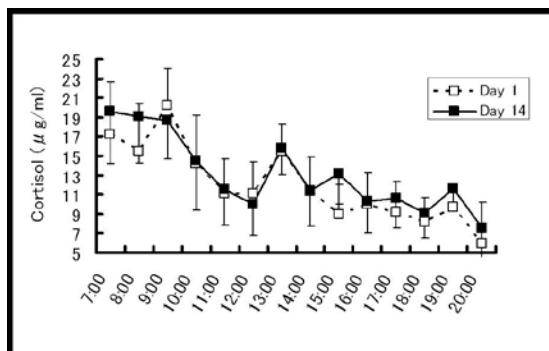


図6. 血糖の日内変動 (1日目と14日目)

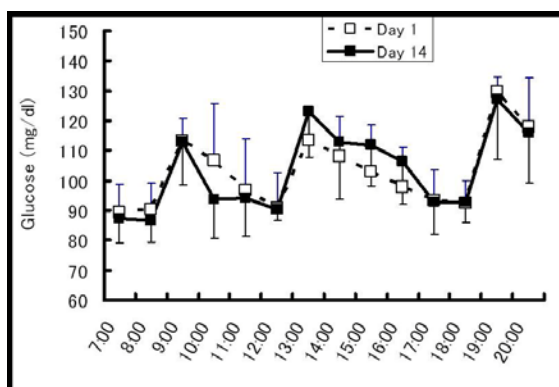


図7. インスリン日内変動(1日目と14日目)

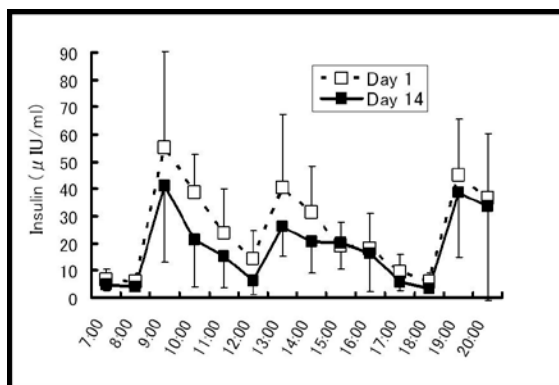


図 8. レプチンの日内変動(1日目と14日目)

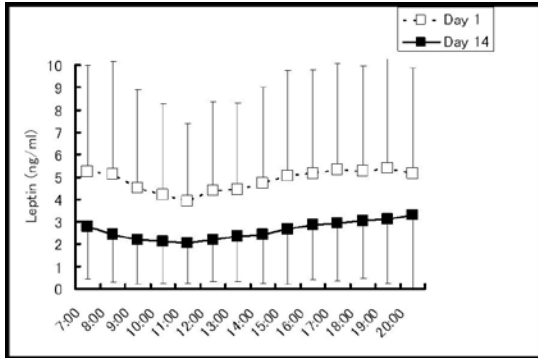


図 9. ケトン体日内変動(1日目と14日目)

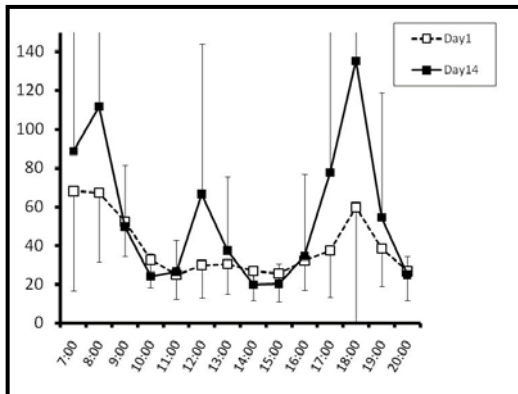
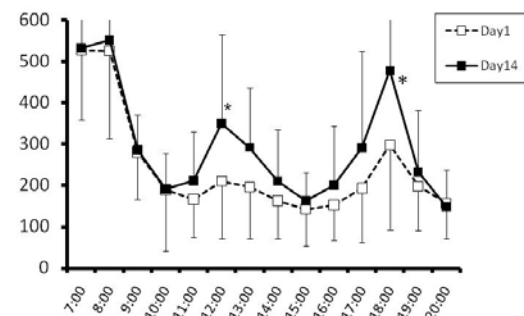
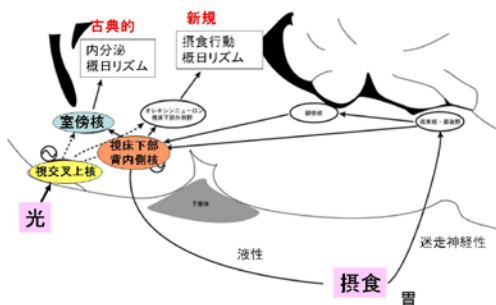


図 10. 脂肪酸日内変動



新規概日リズムの発見  
Food-entrainable circadian pacemaker



Mieda M, Yanagisawa M et al. The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker. Proc Natl Acad Sci U S A. 103(32): 12150-5, 2006. より引用

表 2. 1日目と14日目の各種パラメーターの平均値の比較

	1st day	14th day
Body weight (kg)	64.5 ± 14.1	64.2 ± 14.3
BMI	23.0 ± 4.1	22.9 ± 4.2
Intake calories (kcal/day)	2559 ± 678	2775 ± 963
% body fat	20.2 ± 8.1	20.0 ± 8.0
Ghrelin (fmol/ml)	20.1 ± 13.7	19.9 ± 8.1
Glucose (mg/dl)	92.0 ± 7.4	86.9 ± 6.7*
Insulin (μIU/ml)	5.9 ± 2.1	4.9 ± 2.2
HOMA-R	1.84 ± 2.08	1.06 ± 0.50
Leptin (ng/ml)	5.9 ± 5.0	3.2 ± 2.6 *
Cortisol (μg/dl)	15.6 ± 4.3	18.4 ± 5.1

以上のデータより。

(1) 2週間の規則的食事時間により、グレリンの日内変動リズムは一定化することが示された。

(2) グレリンの日内変動は代謝要因よりも食事同調性概日リズムで制御されている可能性が示された。

(3) 2週間の規則的食事時間は、体重やBMI、%体脂肪などには、有意な差を与えなかったが、著明に血中レプチンレベルを、低下させた。

(4) 14日目の摂取カロリーは、1日目よりやや多いにもかかわらず、平均血糖は変わらずインスリンは有意に低下した。

(5) 2週間の規則正しい食習慣は、健康な被験者においても、食事同調性概日リズム回復によるβ酸化代謝経路の活性化とレプチン感受性の上昇を、ヒトにおいて初めて証明した。

(6) 食事同調性概日リズムの存在を、人ではじめて示唆する研究結果が得られた。

(7) 食事同調性概日リズムは、グレリン分泌制御を介して、インスリン感受性やレプチン分泌に影響を与え、メタボリックシンドロームの上流にある生活習慣規定要素と考えられる。

(8) 糖尿病などが発症していないレベルのメタボリックシンドローム患者において、厳しいカロリー制限を設けない規則的食事を中心とした食事療法の治療効果の可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. S. Makino, N. Mitsutake, M. Nakashima, VA. Saenko, A. Ohtsuru, K. Umezawa, K. Tanaka, A. Hirano, S. Yamashita: DHMEQ, a novel NF-kappaB inhibitor, suppresses growth and type I collagen accumulation in keloid fibroblasts. *J Dermatol Sci* 51(3):171-180, 2008.
2. S. Takakura, N. Mitsutake, M. Nakashima, H. Namba, VA. Saenko, T. Rogounovich, Y. Nakazawa, T. Hayashi, A. Ohtsuru, S. Yamashita: Oncogenic role of miR-17-92 cluster in anaplastic thyroid cancer cells. *Cancer Sci* 9:1147-1154, 2008.
3. Z. Meng, N. Mitsutake, M. Nakashima, D. Starenki, M. Matsuse, S. Takakura, H. Namba, V. Saenko, K. Umezawa, A. Ohtsuru, S. Yamashita: DHMEQ, a novel NF-kB inhibitor, enhances anti-tumor activity of taxanes in anaplastic thyroid cancer cells. *Endocrinology* 149(11):5357-5365, 2008.
4. N. Inoue, H. Isomoto, K. Matsushima, T. hayashi, M. Kunizaki, S. Hidaka, H. Machida, N. Mitsutake, A. Nanashima, F. Takeshima, T. Nakayama, A. Ohtsuru, M. Nakashima, T Nagayasu, S. Yamashita, K. Nakao, S. Kohno: Down-regulation of microRNA 10a expression in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Oncol Lett* 1:527-531, 2010.
5. S. Akita, K. Akino, A. Hirano, A. Ohtsuru, S. Yamashita: Mesenchymal stem cell therapy for cutaneous radiation syndrome. *Health Phys* 98(6):858-62, 2010.
6. S. Akita, K. Akino, A. Hirano, A. Ohtsuru, S. Yamashita: Non-cultured autologous adipose-derived stem cells therapy for chronic radiation injury. *Stem Cells International* 2010:532704, 2010.
7. K. Matsushima, H. Isomoto, N. Yamaguchi, N. Inoue, H. Machida, T. Nakayama, T. Hayashi, M. Kunizaki, S. Hidaka, T. Nagayasu, M. Nakashima, K. Ujifuku, N. Mitsutake, A. Ohtsuru, S. Yamashita, M. Korpál, Y. Kang, PA. Gregory, GJ. Goodall, S. Kohno, K. Nakao: MiRNA-205 modulates cellular invasion and migration via regulating zinc finger E-box binding homeobox 2 expression in esophageal squamous cell carcinoma cells. *J Transl Med* 9(1):30, 2011.
8. E. Ozawa, S. Abiru, S. Nagaoka, K. Yano, A. Komori, K. Migita, H. Yatsuhashi, N. Taura, T. Ichikawa, H. Ishibashi, K. Nakao: Ferritin/alanine aminotransferase ratio as a possible marker for predicting the prognosis of acute liver injury. *J Gastroenterol Hepatol*. 10: 1111, 2011.
9. K. Suzuki\*, N. Mitsutake\*, V. Saenko, M. Matsuse, A. Ohtsuru, A. Kumagai, T. Uga, H. Yano, Y. Nagayama, S. Yamashita: Dedifferentiation of human primary thyrocytes into multilineage progenitor cells without gene introduction. *PLoS ONE* (in press)

[学会発表] (計 5 件)

1. 大津留 晶: グレリンの日内変動を規定する食事同調性概日リズム. 第 82 回日本内分泌学会学術総会 2009.04.24 (前橋)
2. A. Ohtsuru, A. Kumagai, N. Mitsutake, S. Yamashita: Plasma ghrelin level and food-entrainable circadian rhythm. 91th American Endocrine Society Annual Meeting, 2009.06.10-13 (Washington DC, USA)
3. 大津留 晶: Regular mealtime diet controls ghrelin secretion and reduces leptin resistance via food-entrainable circadian rhythm. 第 28 回日本内分泌学会内分泌代謝サマーセミナー 2010.07.09 (長崎)
4. A. Ohtsuru: Radiation Emergency Medicine. 125th-Anniversary Conference on Biomedical Sciences between SPB-MAPO and Nagasaki University 2010.06.10 (St. Petersburg, Russia)
5. 大津留 晶、熊谷 敦史、光武 範史、山下 俊一: アルコール食欲増進効果機序の解明. 第 10 回内分泌学会九州地方会抄録 2010.08.28 (鹿児島)

[図書] (計 2 件)

1. 大津留 晶: 海を渡った被爆者への支援活動 『21 世紀のヒバクシャ』長崎新聞社新書 (in press)
2. 大津留 晶: 被ばく医療の課題 『21 世紀のヒバクシャ』長崎新聞社新書 (in press)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大津留 晶 (AKIRA OHTSURU)

長崎大学・病院・准教授

研究者番号：00233198

### (2) 研究分担者

市川 辰樹 (ICHIKAWA TATSUKI)

長崎大学・病院・助教

研究者番号：80346949

熊谷 敦史 (KUMAGAI ATSUSHI)

長崎大学・病院・助教

研究者番号：40448494