

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：81603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05920

研究課題名（和文）腸管の脂肪酸エタノールアミドによる食行動調節に関する研究

研究課題名（英文）Study on the regulation of feeding behavior by intestinal fatty acid ethanolamides

研究代表者

五十嵐 美樹（Igarashi, Miki）

一般財団法人脳神経疾患研究所・先端医療研究センター・研究員

研究者番号：70340172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：腸管の脂肪酸エタノールアミド（FAE）の食行動調節機構を明らかにするため、(1)腸管下部に寄生する腸内細菌由来のオレオイルエタノールアミド（OEA）による食欲調節、(2)肥満における腸管アナンダマイド（AEA）の変動とその制御機構、(3)腸管上部のFAEシグナルと食嗜好の関連性、の3テーマを設けて研究を行った。その結果、腸管下部に到達したオレイン酸（OA）から腸内細菌が生合成したOEAが受容体を介して食後の満足感を誘導している可能性を見出した。また、肥満の腸管ではAEAを含めたアラキドン酸代謝が亢進していた。さらに、腸管のAEAが増加している状態では嗜好性が変化することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸管が代謝や行動に影響を与える重要な器官であることがわかり、加えてそこに寄生する腸内細菌は宿主に影響を与える代謝物を生成することが明らかになってきている。肥満が世界的に増加しているため、その解決法や治療方法には社会的な関心があり、画期的な策を探る必要がある。過剰な栄養が蓄積することで起こる肥満を解決するためには、まずはエネルギー摂取を減らす必要があるが、上手に食欲を調節するのは難しい。腸管の食行動を調節する機能や代謝物について掘り下げ有意義な新規の知見を得た本研究は、学術的および社会的意義が高いと考える。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the importance of intestinal fatty acid ethanolamide signaling on feeding behavior by conducting several experiments: (1) feeding regulation by gut microbiota-derived OEA in the lower gastrointestinal tract, (2) regulation of intestinal AEA signaling in obese condition, and (3) effect of intestinal FAE signaling on nutrient preferences. As the results, we found that (1) OEA was biosynthesized by gut microbiota, and it induced satiety. In addition, (2) arachidonic acid metabolites including AEA were increased in the gut of obese model mice, and (3) the condition may alter nutrient preferences.

研究分野：栄養生理学

キーワード：脂肪酸エタノールアミド 食行動 腸 肥満 食欲

1. 研究開始当初の背景

肥満は体脂肪が過度に蓄積した状態で、様々な生活習慣病を引き起こす一因である。そのため、適切な対処あるいは治療をして、健康障害を軽減することや未然に防ぐことが必要である。食事療法や運動療法に始まり薬物療法や外科的治療なども行われてはいるが、肥満の原因は家系的なものから生活スタイルなど様々なため、原因や個に合わせた効果的な対応が必要である。

これまでに、新たな肥満の解消や治療手段を探すことを大きな目的として、食行動調節機構について研究を行ってきた。摂食や食欲調節は中枢の支配を受けていることは確かであるが、第二の脳ともいわれる腸管によっても支配されている。腸管は栄養素の吸収を行う器官であるが、栄養素を受容体で感知して様々なシグナルを惹起することで代謝や行動に影響を与える感覚器官ともいわれる。興味深いことにその受容体には、味覚受容体として機能しているものもある。加えて、腸内に寄生している腸内細菌が注目を浴びており、それらがどのように腸管の機能に寄与しているのかに興味があった。

脂肪酸エタノールアミド (FAE) はシグナル分子であり、腸管でも生合成され機能している。その一つであるオレオイルエタノールアミド (OEA) が腸管上部で生合成されると迷走神経を介して食後の満足を誘導して摂食量を抑えることをこれまでの研究で明らかにしてきた。また、これも FAE の一つであるアナンダマイド (AEA) は空腹時に腸管で増加して食欲を増進、つまり空腹のシグナルであると考えられていた。生合成の過程が同じ経路であると考えられるが機能が違っていると示唆されているこれらの腸管の FAE について研究することは、生化学的にも臨床的にも有意義な結果が得られるであろうと考えた。

そこで腸管の FAE シグナルに起因する食嗜好を含めた食行動調節機構について掘り下げていく本研究の構想に至った。得られる情報は肥満の解消や治療の新規の策につながる可能性があり、本研究の社会的意義や波及性は大きいと考える。

2. 研究の目的

本研究では、腸管が食嗜好を含めた食行動を主体的に調節する機構を持つか否かについて明らかにしようとした。特に、その機能調節に関わるとされる脂質シグナル分子の OEA と AEA に焦点を当てた。

腸管で栄養素が吸収される前に栄養素の感知が起こる。腸管上部においてオレイン酸 (OA) が脂肪酸受容体で感知されると食欲抑制に働く OEA が生合成される。関与する受容体の中には、味細胞にも発現して味覚受容体として機能し食嗜好や食依存の確立に関与するものもある。AEA は、食欲増進に関与するシグナルといわれている。これまでの我々の研究で、腸管では摂食と脂質投与で OEA が増加し、摂食で AEA が低下することを確認した (図 1)。また、AEA は糖質で低下する傾向を示した。さらに、食事の OA 量が OEA の生合成にとって重要であることを明らかにした。高脂肪食誘導肥満マウスの腸管では OEA の量が低下しており、一方で AEA は増加するという興味深い結果も得ていた。同じ FAE ではあるが、機能が異なるこれらのシグナルについて深く掘り下げることは、新規の知見にたどり着く可能性があった。

腸管の機能は腸内細菌によって支配されている部分がある。予備試験の結果は、腸内細菌が FAE を生合成している可能性を示していた。腸管上部で吸収を逃れた脂質の腸内細菌での資化は不明な点が多かった。そこで、腸内細菌が生合成する FAE が、宿主の食行動や代謝調節に影響を与えるかについて、それらに関与する受容体について探ることを目的とした。

上記の研究背景と目的を踏まえて、腸管の OEA と AEA シグナルが食欲や食嗜好などをどのように調節しているかについて動物レベルでの試験を行った。

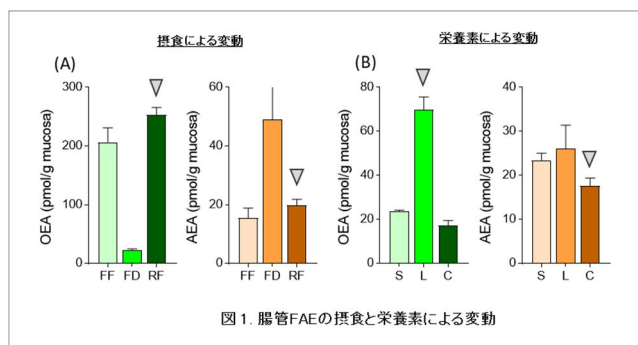


図 1. 腸管FAEの摂食と栄養素による変動

3. 研究の方法

(1) 腸管下部に寄生する腸内細菌由来の OEA による食欲調節

吸収を逃れた OA が腸管下部で腸内細菌によって OEA に代謝されることが宿主にとって“資化”であるかを調べるため、腸管下部の OEA の食欲調節への影響を評価した。マウス (B6J♂) の回腸下部 (盲腸近く) にカテーテルを装着して、OA や OEA を注入して盲腸の OEA の定量と摂食パターンの評価を行った。また、摂食後の腸管内容物中の OEA の変動を確認した。また、OEA の受容体といわれる G タンパク質共役型受容体である GPR119 の関与について調べた。

(2) 肥満における腸管 AEA の変動とその制御機構

KK-Ay マウスは遺伝的背景から早期に肥満や糖尿病を発症する動物モデルである。このモデルマウスの腸管の AEA を含むアラキドン酸代謝物を測定し、摂食パターンを観察した。また、野生型マウスの腹腔内にインスリンを投与して腸管の AEA を測定した。

(3) 腸管上部の FAE シグナルと食嗜好の関連性

小腸で摂食や栄養感知によって変動する FAE シグナルが食嗜好に関与するかを検証した。脂質 (Soybean oil) と糖質 (Sucrose) を提示する二瓶選択試験とし、マウスの腸管上部にカテーテルを装着して栄養素 [脂質、糖質、タンパク質 (Peptone); 0.2 kcal] を投与した後の栄養素の選択を評価した。

4. 研究成果

(1) 腸管下部に寄生する腸内細菌由来の OEA による食欲調節

抗生物質を与えると盲腸内の OEA の量が低下することから、盲腸内の OEA はマウスの飼料に含まれる OEA の蓄積だけでなく、腸内細菌が OEA を生合成することを確認していた。そこで、盲腸内に直接 OEA を投与した後の摂食パターンを観察したところ、摂餌量が低下し、投与後に起こる最初と二番目の meal について、その量や摂食時間に差はないものの、食後の満足感 satiety ratio が増加することがわかった (図 2)。OA を盲腸内に投与すると 2 時間後には盲腸内で OEA の増加が確認できた。そこで、OA を投与した後の摂食パターンを観察したところ、投与後すぐに起こる最初の meal の満足感は増加しなかったが、OEA の生合成が確認できた 2 時間後辺りで起こる二番目の meal の satiety ratio が増加することが分かった。このことから、腸管上部組織で生合成される OEA だけでなく、吸収を逃れ腸管下部に到達した OA が腸内細菌で OEA に代謝されて食後の満足感誘導に影響することが明らかとなった。

OEA は、G タンパク質共役型受容体である GPR119 の内因性のリガンドであることが報告されている。そこで、腸管における *Gpr119* の発現レベルを確認したところ、腸管全体的に *Gpr119* の発現が確認され、特に盲腸と大腸で発現が高かった。*Gpr119* 欠損マウスの摂餌量を測定したところ、自由摂食条件下では差はないが、絶食後の再摂食時の摂餌量が野生型マウスに比べて増加した。摂食パターンを観察すると、絶食後の再摂食時の meal 回数が増加しており、最初の meal に変化はないものの、観察時間内の平均の食事間隔が短くなり、satiety ratio が低下していた。このことから、食後しばらくしてから発生する満足感シグナルが *Gpr119* 欠損マウスで誘導されにくいことが考えられた。OA を腸管下部に投与した実験の結果と合わせて考えると、腸管下部に発現する GPR119 が腸内細菌によって生合成される OEA を感知して満足感の誘導をしている可能性があった。次の試験としては、*Gpr119* 欠損マウスの腸管下部へ OEA を投与した時の摂食パターンの解析を考えており、現在その実験の計画を進めている。

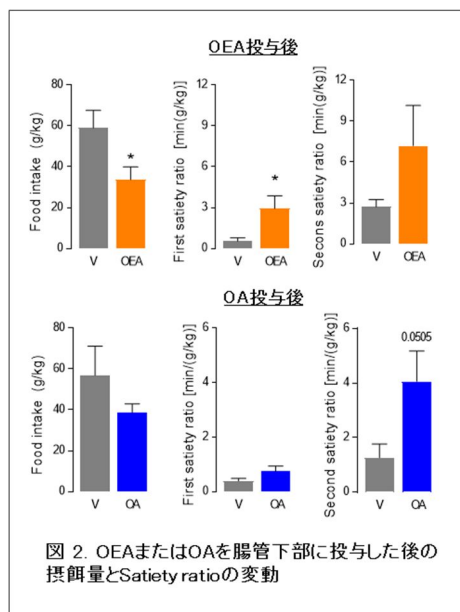


図 2. OEAまたはOAを腸管下部に投与した後の摂餌量とSatiety ratioの変動

(2) 肥満における腸管 AEA の変動とその制御機構

高脂肪食誘導肥満マウスにおいて腸管の FAE シグナルが変動していることを確認していたが、高脂肪食の短期間負荷で肥満が誘導されていない場合でも同じように変動していた。そこで、肥満による腸管 FAE の変動が餌による直接的な影響であるのかを確認するため、遺伝的背景により過食が起こり早期に肥満と糖尿病を発症する KK-Ay マウスの腸管の脂質分析を行った。その結果、AEA が腸管で増加しており、その他にも増加するアラキドン酸代謝物が確認できた。このことから、単純に餌の影響ではなく肥満状態で腸管のアラキドン酸代謝が全体的に亢進することがわかった。そこで摂餌量を測定すると、KK-Ay マウスは自由摂食時でも絶食後の再摂食時でも摂餌量が増加していた。再摂食時の摂食パターンを観察した結果、摂食時間が短い摂餌量の変わらない meal を多く持つことが分かった。

これまでの研究で、糖質を腸管に投与すると腸管の AEA が低下すること、インスリン受容体欠損細胞株 (Caco-2) でアラキドン酸代謝関連酵素の発現が増加することを確認している。これらの結果から摂食後の AEA の低下にインスリンシグナルが関与する可能性が考えられたため、野生型マウスの腹腔内にインスリンを投与したところ腸管の AEA が低下することが分かった。

以上のことから、肥満マウスの腸管ではアラキドン酸代謝が亢進していること、その亢進はインスリン抵抗性によって引き起こされた可能性があった。腸管におけるインスリン作用やインスリン抵抗性については情報が少ないため、今後深く掘り下げていく予定である。

(3) 腸管上部の FAE シグナルと食嗜好の関連性

腸管に栄養素を投与すると腸管の OEA と AEA の量が変化する。その変化が、その後の栄養選択に影響するかについて検討した。エネルギーを投与することなく脂質と糖質の二瓶選択試験を行ったところ、通常食を与えたマウスでは脂質と糖質の摂取に差はなかった。そこで、腸管上部に脂質、糖質、タンパク質を投与し二瓶選択試験を行ったところ、通常食を与えたマウスでは脂質投与の場合に糖質の摂取量が増えることがわかった。高脂肪食を一週間与えたマウスでは、栄養素の投与に影響されることなく糖質を好む傾向を示した。通常食マウスの腸管に脂質を投与すると、腸管の OEA が増加するが AEA は高値のままであり(図1)、一方で高脂肪食を与えたマウスでは腸管の OEA は低く、AEA は高値であった。以上の結果と実験(2)の結果を合わせて考えると腸管 AEA と糖質嗜好の関連性が示唆されたため、今後そのメカニズムを解明していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Miki Igarashi, Tetsuhiko Hayakawa, Haruka Tanabe, Keita Watanabe, Akari Nishida, Ikuo Kimura	4. 巻 67
2. 論文標題 Intestinal GPR119 activation by microbiota-derived metabolites impacts feeding behavior and energy metabolism	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Metabolism	6. 最初と最後の頁 101649
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.molmet.2022.101649	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Tetsuhiko Hayakawa, Tsuyoshi Tsuduki, Ikuo Kimura, Kei Maruyama, Keisuke Yoshikawa	4. 巻 13
2. 論文標題 Dietary oleic acid contributes to the regulation of food intake through the synthesis of intestinal oleoylethanolamide	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1056116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fendo.2022.1056116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Keisuke Yoshikawa	4. 巻 165
2. 論文標題 Feeding regulation by oleoylethanolamide synthesized from dietary oleic acid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids	6. 最初と最後の頁 102228 ~ 102228
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plefa.2020.102228	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Keisuke Yoshikawa, Tsuyoshi Tsuduki, Ikuo Kimura
2. 発表標題 Dietary oleic acid modulates feeding behavior by altering intestinal OEA production
3. 学会等名 The 2021 ISSFAL Virtual Congress（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五十嵐美樹、早川徹彦、田邊はるか、木村郁夫
2. 発表標題 食事オレイン酸由来オレオイルエタノールアミドによる摂食調節と脂質センサーの関与
3. 学会等名 日本脂質栄養学会第30回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五十嵐美樹、早川徹彦、田邊はるか、渡辺啓太、西田朱里、木村郁夫
2. 発表標題 腸管のオレオイルエタノールアミドによる摂食調節と脂質センサーGPR119の関与
3. 学会等名 日本脂質栄養学会第31回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Tsuyoshi Tsuduki, Ikuo Kimura, Kei Maruyama, Keisuke Yoshikawa
2. 発表標題 Dietary oleic acid modulates satiety by mobilizing intestinal oleoylethanolamide signaling
3. 学会等名 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition in Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------