

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月6日現在

機関番号： 37104  
 研究種目： 基盤研究(B)  
 研究期間： 2009～2011  
 課題番号： 21390287  
 研究課題名（和文）  
 摂食調節ペプチド・グレリンによる自律神経のホメオスタシス制御  
 研究課題名（英文）  
 Homeostatic regulation of autonomous nerves system by ghrelin  
 研究代表者  
 児島 将康 (KOJIMA MASAYASU)  
 久留米大学・分子生命科学研究所・教授  
 研究者番号： 20202062

## 研究成果の概要（和文）：

グレリンには体温を低下させる作用がある。高温環境にマウスを置くと、胃でのグレリン合成と血中グレリン濃度の上昇が見られる。グレリン欠損マウスでは高温環境下における体温調節がうまくいかず、野生型マウスに比べて死亡率が高い。マウスなどの小動物は絶食を続けると、体温が大きく低下し活動が抑制される。この状態はトーパー（日内冬眠）と呼ばれるが、グレリン欠損マウスでは絶食を続けてもトーパー状態とならず、体内のエネルギー消費の抑制が起こらない。このような結果から、グレリンは動物が低エネルギー状態に陥ったときに、代謝活動を抑制し、生存をはかるために必要なホルモンであると考えられる。

## 研究成果の概要（英文）：

Ghrelin decreases body temperature. In a hot condition, ghrelin production in stomach is stimulated and plasma ghrelin concentration is increased in mice. In addition, ghrelin KO mice shows high mortality rate in a hot condition, suggesting that these mice lack normal regulatory mechanism of body temperature. Small animals like mice show torpor (daily hibernation) induction after long term food deprivation. In torpor state, they show low body temperature and decrease of activity. However, ghrelin KO mice do not show torpor induction and suppression of energy. Thus, ghrelin is a survival hormone necessary to suppress metabolism and activity.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2010年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2011年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：内分泌学、生化学、生理学

科研費の分科・細目： 医歯薬学・内科系臨床医学・内分泌学

キーワード： グレリン、自律神経、体温調節、トーパー、脂肪酸転移酵素

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは1999年に胃組織からグレリン (ghrelin) を発見し(Kojima et al. Nature 1999)、これが成長ホルモン分泌促進作用を示すとともに、強力な摂食亢進作用を持つことを明らかにした(Nakazato et al. Nature 2001)。グレリンは胃から分泌されて血中を流れるペプチド・ホルモンであり、しかも末梢投与によって摂食亢進作用を示す内因性のペプチド・ホルモンとして唯一のものである。グレリンは摂食行動や成長ホルモン分泌を調節することによって、生活習慣病や摂食障害の病態と密接な関連がある。

このグレリンに関して発見からの9年間で3000件以上のグレリン研究論文が発表されており、また申請者らのグレリンのオリジナル論文は被引用回数が2400回を超えている。このように世界中で活発に研究が行われているグレリンであるが、基礎研究ではまだいくつか未解明のことが残されており、また臨床応用への展開に関しても検討することが多い。

本研究計画は最近、申請者らが見いだしたグレリンによる自律神経の恒常性維持機構を解明し、グレリンによる自律神経機能不全症への治療応用の可能性を探ることが目的である。計画を進めていくうえで、申請者は次のような予備的な研究結果を得ている。

① 目立った表現型の報告のないグレリン・ノックアウトマウス（以下グレリンK0マウス）について、自律神経系の異常を見出した。グレリンK0マウスは自律神経によってコントロールされている生体機能（体温調節、血圧・心拍数など）の日内リズムが欠如し、ベースラインが不安定で変動が大きい。グレリンK0マウスでは交感・副交感神経のバランスが崩れ、自律神経の恒常性が失われている。

② 野生型マウスや、リス、ハムスターなどの小動物は絶食状態に置くと、体温の急激な低下が見られる。この冬眠様の現象はTorpor（トーパー）と呼ばれ、食物摂取が十分でないときに、代謝活動や熱産生を抑制することで、エネルギーの消費を抑え生き延びようとする防御的な意味があると考えられる。申請者らはグレリンK0マウ

スにおいては絶食にもかかわらず Torpor（トーパー）が起こらず、グレリンを欠損するとエネルギーを浪費したままであることを見いだした。

③ グレリンが自律神経を介した消化管運動の正常な機能に必要なことを明らかにした。

④ 以上のような自律神経の異常や Torporの欠如は、グレリン投与によって回復することから、グレリンが自律神経の正常な機能維持や絶食時のTorporの誘導に必要であることを明らかにした。

⑤ グレリンK0マウスは不安・うつ様症状の表現型を示し、また新規環境への適応能力が低下していることを見いだした。

## 2. 研究の目的

上記の背景およびこれまでの研究成果をもとに、本研究はグレリンによる自律神経機能の制御という、まだ解明されていないグレリンの研究を展開する。さらにグレリンによる自律神経機能不全症への治療応用の可能性を探る。研究期間内に以下のことを明らかにする。

### ① グレリン K0 マウスの自律神経機能異常の解析を進める。

グレリン K0 マウスでは、体温や血圧・心拍数の日内リズムが欠如し、基礎値が非常に不安定で変動が大きく、また消化管運動の機能不全が見られる。グレリン K0 マウスにおける他の自律神経機能、たとえば脳循環、呼吸調節、排尿神経機構、などに異常がないかどうか調べる。

### ② グレリンによる自律神経の恒常性維持機構の解明

グレリンがどのような仕組みで自律神経機能をコントロールしているのか、その神経回路を明らかにし、分子レベルでの作用機序を解明する。

### ③ グレリンによる体温調節とエネルギー消費のコントロール

グレリンがどのような仕組みで体温の恒常性維持に関与しているのか、胃から体温調節中枢への求心性の神経回路、中枢から末梢の熱産生臓器（褐色・白色脂肪組織、

肝臓、筋肉など)への遠心性の神経回路などを明らかにする。また Torpor が起こるメカニズムとグレリンとの関連を探る。

#### ④ 自律神経を介した不安・うつ様症状とグレリンとの関連

グレリン KO マウスは不安・うつ様症状の表現型を示し、また新規環境への適応が悪い。グレリンには抗うつおよび不安緩解作用があると報告されているが、グレリンの交感神経抑制作用を考慮すると、グレリンの抗うつ・抗不安作用は自律神経を介した可能性が高い。グレリン KO マウスを使ってグレリンと不安・うつ症状との関連を精神・神経学的に調べる。グレリン KO マウスで、不安・うつ関連の行動試験を行う。またグレリン KO マウスで自律神経作動薬や精神・神経作動薬の作用を調べる。不安神経症やうつ病モデル動物へのグレリン投与による症状の変化を調べる。

近年の肥満症、摂食障害患者の急増によって、摂食調節ペプチドを中心とした内分泌・エネルギー代謝の研究は世界中で盛んに行われており、この数年でも NPW、ガラニン類似ペプチド、ネスファチン-1 など新しい摂食調節ペプチドが見つかっている。グレリンは申請者らが、世界に先駆けてその精製・構造決定を報告したペプチド・ホルモンであり、摂食亢進作用をはじめとするその広範な生理作用から世界中で活発に研究がすすめられている。臨床への応用面ではグレリンの摂食亢進作用を利用した臨床試験研究がスタートしており、現在フェーズ II の臨床試験において、摂食障害やカヘキシアなどに対して良好な結果を得ている。

このように臨床応用研究も進んでいるグレリンであるが、まだまだ未解明の問題が多く残されている。本研究ではグレリンによる自律神経の恒常性維持機構を明らかにし、グレリンを自律神経機能不全症への治療応用へと展開するための研究基盤を確立することを目指す。

### 3. 研究の方法

#### 1, グレリン KO マウスの

### 体温調節とエネルギー消費のコントロール

#### ① グレリンによる体温の恒常性維持

動物の体温は行動性および自律性調節の2つの調節を受け、代謝やエネルギー消費量を一定に保つために厳密にコントロールされている。申請者らは最近、グレリンは体温を下げるホルモンであり、グレリン KO マウスでは野生型マウスに比べて逆に体温が上昇していることを見いだした。さらにグレリン KO マウスでは体温の日内変動リズムが消失し、体温の基礎値が大きく変動し不安定になっていることを見いだした。ここではグレリンがどのような仕組みで体温調節を行うのか、その神経回路はどうなっているのか、などを調べる。

② グレリンの体温低下作用は、プロスタグランジン E2 の産生を抑制し炎症を抑えることで発熱を抑えるのではない。予備的な検討では、グレリンは褐色脂肪細胞、白色脂肪細胞、肝臓、筋肉などに作用して、代謝・エネルギー消費を押さえることで体温低下を誘導すると思われる。グレリン KO マウスと野生型マウスの比較で、マウスを高温環境下に置いたとき、褐色脂肪細胞、白色脂肪細胞、肝臓、筋肉などの組織でどのような遺伝子群が変動するのか、DNA マイクロアレイを用いて検討する。室温環境下と高温環境下で大きく変動する遺伝子については、個々にさらに発現の時間経過や組織を調べる。

③ 高温環境下に実験動物を置いて、グレリンを投与することによって高体温症（日射病や悪性高熱症など）への治療応用ができないか調べる。

#### 2, グレリン KO マウスにおける torpor 欠如とそのメカニズムの解明

野生型マウスや、リス、ハムスターなどの小動物は絶食状態に置くと、体温の急激な低下が見られる。この冬眠様の現象は Torpor (トーパー) と呼ばれ、食物摂取が十分でないときに、代謝活動や熱産生を抑制することで、エネルギーの消費を抑え生き延びようとする防御的な意味があると考

えられる。申請者らはグレリン KO マウスにおいては絶食にもかかわらず Torpor (トーパー) が起こらないことを見いだした。すなわち、野生型マウスでは絶食を続けると 24 時間くらいして体温が急激に低下する。23 度室温の環境下で、この体温低下は 25 度前後になる。それに対してグレリン KO マウスでは 24 時間の絶食によっても体温はわずかに低下するだけで、30 度以下になることはない。従ってグレリンは通常の状態では摂食行動になんら異常は生じないが、食物が十分に得られない状態にこそ不可欠なホルモンである。つまり食物が得られないときに、体温を下げエネルギー消費を抑えることで、生き延びようとするのだと考えられる。

Torpor (トーパー) が起こるメカニズムはまだ解明されていないが、我々の予備的な検討では、自律神経を介した脂肪組織への神経刺激のコントロールがグレリン欠損によって正常に働かないためと考えられた。ここではグレリン KO マウスがなぜ絶食状態でも Torpor (トーパー) を起こさないのか、そのメカニズムを解明する。絶食状態において、一定の時間ごとに褐色脂肪細胞、白色脂肪細胞、肝臓、筋肉などの mRNA を抽出し、DNA マイクロアレイでどの遺伝子群が変動するのかを調べる。またグレリン投与によって Torpor (トーパー) が回復するか調べる。

### 3, グレリンによる自律神経機能維持のための神経回路解析

グレリンによる自律神経機能維持が、どのような神経回路によって制御されているのか、複数の手法を用いて明らかにする。

① 迷走神経の胃末端、延髄孤束核、視床下部弓状核などの部位にコレラ・トキシンやその他のトレーサー毒素を注射し、逆行性あるいは順行性に神経線維を移動し、それを免疫染色によって同定する。これによってグレリンの神経回路網を明らかにし、自律神経とシナプス結合を形成して、その調節を左右する神経連絡を明らかにする。

② また遺伝子改変マウスも利用する。グレリン遺伝子部分を GFP マーカーで置換したノックイン・マウスを作製して、グレリンの神経回路を可視化する。

③ また Cre-LoxP システムを使ったグレリン遺伝子の部位特異的ノックアウト・マウスを作製する。Nestin プロモーター-Cre 発現マウスとの交配で、視床下部で特異的にグレリンを欠損させたマウスと、消化管で特異的にグレリンを欠損させたマウスを作製し、中枢か末梢か、どちらの組織でグレリンを欠損させた時に自律神経機能不全になるのかを調べる。

④ 予備的な実験で、迷走神経切断マウスでは血圧・心拍や体温の日内リズム消失やベース値の不安定性が見られることから、おそらく末梢から迷走神経を介したグレリン・シグナルが自律神経機能の恒常性維持に重要だと考えられる。末梢からのグレリンが、どこの神経核を中継して自律神経機能維持を行うのか調べる。

以上の研究計画から、グレリンによる自律神経の恒常性維持機構を明らかにし、グレリンを自律神経機能不全症への治療応用へと展開するための研究基盤を確立する。

#### 4. 研究成果

自律神経は生体の恒常性 (ホメオスタシス) の維持に重要な役割を果たすが、われわれのこれまでの研究で胃から分泌される摂食亢進ホルモンのグレリンが自律神経の恒常性維持に必要なホルモンであることが明らかになってきた。グレリンの欠損マウスの解析から、このマウスでは血圧・心拍数の日内リズムが消失し、また不安定になっていることを見いだした。また消化管の運動機能も低下しており、消化物の腸管内輸送に障害を受けている。

このグレリンの自律神経機能の恒常性維持機構を明らかにするため、まずグレリンの体温調節作用について検討した。

#### 1, グレリンの体温調節作用について

マウスにグレリンを投与すると体温が下がる。投与後数分して体温は下がり始め、投与2時間でもとの体温よりも2度以上の低下を認めた。次にグレリンKOマウスを高温環境および低温環境においた時の状態を調べた。われわれが作出したグレリン欠損マウスを使った実験からは、グレリンが欠損すると高温環境下にマウスを置いたときに、体温上昇が野生型に比べて大きく、またその結果、野生型では死亡率が5%くらいであるのに対して、グレリン欠損マウスでは死亡率が30%以上と高率になった。

高温環境下においた野生型マウスの血中および胃内のグレリンを調べてみると、血中グレリン濃度は高温環境下では上昇し、また胃内のグレリンmRNA発現レベルも上昇する。このことから、高温環境下ではグレリンの発現・分泌が増加することがわかった。おそらくは高温状態に反応して、体温を下げるためにグレリン合成・分泌が盛んになると考えられた。逆にグレリンKOマウスを低温環境(4℃)においたときの体温変化を野生型マウスと比較した。低温環境においたグレリンKOマウスの体温変化は野生型マウスのものと優位な差がなかった。

次にわれわれは、摂食と体温調節に関わるグレリンの重要な働きを見出した。

## 2, グレリンとトーパー(Torpor: 日内冬眠)との関係

マウスは絶食状態に24時間以上置くと、体温が大きく低下し活動が抑制される。この状態はトーパー(Torpor)と呼ばれ、日内冬眠と訳されるように、小動物に見られる冬眠様の現象である。ところがグレリン欠損マウスにおいては、このトーパーが認められない。グレリン欠損マウスを絶食状態に置いても、体温の著しい低下は見られず、活動量も通常と変わりはない。摂食を再開すると、グレリン欠損マウスも野生型マウスも、すみやかに元の体温状態に戻る。

このようにグレリンは、食物が得られない絶食状態において、おそらくは体温を低下させ、代謝状態を抑制することで、エネルギー消費を抑え、生存をはかるために必

要なホルモンなのだろうと考えられる。このトーパーのメカニズムはまだ不明だが、今後グレリン欠損マウスと野生型マウスとの詳細な比較検討によって、明らかにしていきたい。

その他に、グレリンが褐色脂肪組織に作用して、熱産生に関与する蛋白質、転写因子、転写調節因子の発現を抑制することによって、体温低下につながることを見出した。

次いで低栄養状態においてグレリンがどのような役割をもつのかを明らかにする目的で、時間制限給餌(restricted feeding, RF)実験を行った。

## 3, 低エネルギー状態におけるグレリンの役割

野生型マウスでは、RFの時間経過とともに胃の湿重量およびその体重比が著しく増加した。胃湿重量の体重比がRFの時間経過とともに著しく増加したことは、RFの適応に胃が早い段階から適応する可能性を示している。また、胃を主要な産生組織とするグレリンも、RFの時間経過とともに分泌が亢進した。一方で、グレリンが欠損していると、実験期間前半において、体温が低下すべき空腹期において体温低下が抑えられるのに対し、逆に、実験期間後半では、摂餌をしても体温の上昇が小さい。さらにわれわれは、グレリン投与が体温低下作用を持つことや、グレリン欠損マウスでは絶食時の体温低下が小さいことなどもすでに明らかにしている。これらのことから、低エネルギー状態では、グレリンが体温を低下させることでエネルギーの保持に作用しているものと考えられる。

その他、次のような研究成果を得た。

## 4, 自律神経を介したグレリンの循環調節

Dahl-Iwai 食塩感受性ラットにおいて、グレリン受容体阻害剤を連続投与すると、食塩感受性高血圧の発症が早くなることを見出した。このときカテコールアミン合成系の遺伝子発現が上昇しているの、自律

神経活動の増加が早期高血圧発症の原因の一つになっていると考えられた。

#### 5, レット症候群における血中グレリン濃度の変化

レット症候群は遺伝子変異による進行性の神経疾患で精神遅滞や運動障害がみられる。レット症候群では様々な消化器症状や摂食障害が認められるが、血中グレリン濃度を測定したところ非常に低値であった。レット症候群の症状との関連が示唆される。

#### 6, 活性型グレリン産生に必須な酵素群の同定

グレリンは脂肪酸によって修飾されており、この脂肪酸修飾が活性発現に必須である。生体内では中鎖脂肪酸のオクタン酸がメインの脂肪酸修飾基であり、グレリン前駆体から脂肪酸修飾を受けて、28アミノ酸のグレリン分子にまでプロセシングされる過程の制御が、活性型グレリン産生調節に重要である。そのため、ここでは培養細胞の系を用いて、活性型グレリンを産生するのに必須な因子になにがあるか検討した。特にプロセシング酵素の発現が異なるいくつかの培養細胞を組み合わせることで、グレリン前駆体からの必須コンポーネントを検討した。

まず培養細胞における活性型グレリン産生について調べた。TT細胞、AtT20、COS-7におけるグレリンのプロセシングを調べるために、グレリンの発現ベクターを用いて、培養液中にオクタン酸がない状態での、活性型グレリン産生をチェックした。培地中にオクタン酸がないと、TT細胞とAtT20ではデス・アシル・グレリンまで産生されるが活性型グレリンの産生はない。COS-7では明確なグレリン・ペプチドは産生されない。この結果から培養細胞の種類によって、必ずしもグレリンのプロセシングが進まないことが明らかになった。

次にわれわれはオクタン酸を培地に加えたときの培養細胞における活性型グレリン産生について調べた。TT細胞、AtT20、COS-7細胞に対して、グレリンの発現ベクターを用いて、培養液中にオクタン酸を加えたと

きの活性型グレリン産生をチェックした。TT細胞では活性型グレリンの産生が認められたが、AtT20とCOS-7では活性型グレリン・ペプチドは産生されなかった。

このように、TT細胞ではグレリン遺伝子を発現させ培地中にオクタン酸を添加すると活性型グレリンまで産生されるが、AtT20ではデス・アシル・グレリンまでプロセシングされるだけで、COS-7ではグレリンのプロセシングが全く進行しない。

以上の結果から、COS-7細胞は細胞だけではグレリンのプロセシングが全く進行しないので、活性型グレリン産生までの必須因子を調べる系として最適だと考えられた。以下の実験ではCOS-7を用いて検討した。

われわれはグレリン、プロセシング・プロテアーゼ Furin およびグレリン脂肪酸転移酵素GOATの3種類の遺伝子をCOS-7細胞に発現させたときの活性型グレリン産生について調べた。3種類の遺伝子を発現させ培地中にオクタン酸を加えると、COS-7においてもオクタン酸で修飾された活性型グレリンが産生された。ところが培地中にオクタン酸がないとデス・アシル・グレリンまでしか産生されない。オクタン酸の有無が活性型グレリン産生を左右することをさらに確かめるために、AtT20細胞においても調べた。AtT20細胞は先に明らかになったように、Furin などのプロセシング・プロテアーゼは存在するが、GOATの発現はない。そこでグレリン遺伝子とともにGOAT遺伝子を発現させ、オクタン酸のあるときとないときで活性型グレリンの産生を調べた。その結果、培地中にオクタン酸があるときにだけ活性型のC8-グレリンが産生されることが明らかになった。

#### 7, グレリン脂肪酸転移酵素 (GOAT: ghrelin O-acyltransferase) の性質について

活性型グレリン産生の調節は非常に重要であるため、活性型グレリンに必至な脂肪酸修飾について、その修飾反応を触媒する酵素GOATについてその性質を調べた。

GOATをCHO細胞に安定発現させた細胞株から酵素画分の膜成分を抽出し、合成デ

ス・アシル・グレリンと脂肪酸とを混和し、酵素抽出液を添加、一定時間後に反応をストップさせ、生成されたペプチドをHPLCとラジオイムノアッセイ、ELISAを使って定量・定性分析を行った。

GOATを発現させた培養細胞から、酵素液を抽出した。CHO細胞には内因性のGOATは存在していなかった。GOATを発現させた細胞株から酵素液を抽出したところ、可溶性画分ではなく、細胞膜画分に活性が抽出された。このことからGOATは膜結合型の酵素であることが確認された。そこで各種の界面活性剤を使って、GOATが安定して抽出される条件を検討した。粗抽出液に比較して、CHAPSとTween 80 のみがGOATの活性を保持したまま抽出することができた。他の界面活性剤、Triton-X100, Triton-X45, Lubrol, NP-40, NP-9, Brij96vなどはGOATの活性を低下させた。特にTriton-X100, Lubrol, NP-40では活性は完全に消失した。このことからGOATを膜画分から抽出するには界面活性剤の選択が重要であることがわかった。適切な界面活性剤を使用しないと活性は消失あるいはかなり低下してしまう。

また酵素液量（タンパク質量）と反応時間に比例して、ある一定濃度と時間において、反応は直線的に進んだ。

GOATの至適温度は37度から55度とかなり広い温度範囲で活性が保たれた。このことからGOATは比較的熱に安定的であると考えられた。実際に50度付近でも活性がかなり保たれている。

また至適pHは7前後であり、pH6になると活性はかなり低下した。このことから、プロセシング・プロテアーゼによってグレリン前駆体が切断される前に、すでにグレリンの脂肪酸修飾が起こっていることが推測された。それはプロセシング・プロテアーゼの至適pHが酸性側であり、細胞内でゴルジ体から分泌顆粒にペプチド・ホルモンが輸送される経路では中性から酸性にpHが変化することが知られているからである。

また金属の影響を調べた結果、GOATは鉄および銅で活性が阻害されることがわかった。このことは鉄や銅を含んだ食物の摂取によって胃内での鉄や銅の濃度が上昇し、

場合によってはグレリンの脂肪酸修飾が阻害される可能性が考えられる。特に銅は非常に低濃度から阻害するので、要注意である。

GOATはグレリン・ペプチドの3番目のセリン残基に脂肪酸を転移するが、どのくらいの長さのペプチドまで脂肪酸修飾を行うかはわかっていなかった。われわれはグレリンのN末端ペプチドのさまざまな長さの合成ペプチドを用いることによって、脂肪酸修飾の最小単位を*in vitro* で調べた。その結果、GOATはアミノ酸4残基までのペプチドを修飾することがわかった。しかし合成ペプチドの長さが短くなるにしたがって、脂肪酸修飾の効率は著明に減っていった。すなわち、GOATはアミノ酸4～8のグレリン・ペプチドも脂肪酸転移反応を行うが、その長さが修飾基の起こりやすさに重要である。

生体内ではオクタン酸によって修飾されているグレリンがメインの分子フォームであるが、その他に炭素数6個のヘキサン酸や炭素数10個のデカン酸によって修飾されたグレリンも少量ながら存在する。ここでは*in vitro* の系を用いて、GOATの基質としての脂肪酸親和性を調べた。

その結果意外なことに、生体内のメインの脂肪酸修飾基であるオクタン酸よりも、ヘキサン酸に対する親和性の方が高いことがわかった。すなわちGOATはオクタン酸よりもヘキサン酸の方をより効率よくグレリンの修飾に使えるということである。このことは、以前のわれわれの実験で、ヘキサン酸を経口摂取したときに、非常に効率よく内因性のヘキサン酸修飾グレリン濃度が上昇することを見いだしていたが、それがGOATの酵素的な性質によるものであることが明らかになった。

##### 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23件)

1: Mifune H, Nishi Y, Tajiri Y, Masuyama T, Hosoda H, Kangawa K, Kojima M. Increased production of active ghrelin is

relevant to hyperphagia in nonobese spontaneously diabetic Torii rats. *Metabolism*. 2012 Apr;61(4):491-5. (査読有り)

2: Hamada N, Nishi Y, Tajiri Y, Setoyama K, Kamimura R, Miyahara K, Nuruki N, Hosoda H, Kangawa K, **Kojima M**, Mifune H. Disrupted Regulation of Ghrelin Production Under Antihypertensive Treatment in Spontaneously Hypertensive Rats. *Circ J*. 2012 Mar 16. (in press) (査読有り)

3: Fukumori R, Sugino T, Shingu H, Moriya N, Hasegawa Y, **Kojima M**, Kangawa K, Obitsu T, Kushibiki S, Taniguchi K. Effects of calcium salts of long-chain fatty acids and rumen-protected methionine on plasma concentrations of ghrelin, glucagon-like peptide-1 (7 to 36) amide and pancreatic hormones in lactating cows. *Domest Anim Endocrinol*. 2012 Feb;42(2):74-82. (査読有り)

4: **Sato T**, Nakamura Y, Shiimura Y, Ohgusu H, Kangawa K, **Kojima M**. Structure, regulation and function of ghrelin. *J Biochem*. 2012 Feb;151(2):119-28. (査読有り)

5: **Kojima M**, Kangawa K. The discovery of ghrelin: with a little luck and great passion. Preface. *Peptides*. 2011 Nov;32(11):2153-4. (査読なし)

6: Nishi Y, Yoh J, Hiejima H, **Kojima M**. Structures and molecular forms of the ghrelin-family peptides. *Peptides*. 2011 Nov;32(11):2175-82. (査読なし)

7: Hara M, Nishi Y, Yamashita Y, Yoh J, Takahashi S, Nagamitsu S, Kakuma T, Hosoda H, Kangawa K, **Kojima M**, Matsuishi T. Ghrelin levels are reduced in Rett syndrome patients with eating difficulties. *Int J Dev Neurosci*. 2011 Dec;29(8):899-902. (査読有り)

8: Fukumori R, Yokotani A, Sugino T, Itoh F, Kushibiki S, Shingu H, Moriya N, Hasegawa Y, **Kojima M**, Kangawa K, Obitsu T, Taniguchi K. Effects of amino acids infused into the vein on ghrelin-induced GH, insulin and glucagon secretion in lactating cows. *Anim Sci J*. 2011 Apr;82(2):267-73. (査読有り)

9: Fukumori R, Sugino T, Hasegawa Y, **Kojima M**, Kangawa K, Obitsu T, Taniguchi

K. Plasma ghrelin concentration is decreased by short chain fatty acids in wethers. *Domest Anim Endocrinol*. 2011 Jul;41(1):50-5. (査読有り)

10: Yoh J, Nishi Y, Hosoda H, Tajiri Y, Yamada K, Yanase T, Doi R, Yonemoto K, Kangawa K, **Kojima M**, Tanaka E, Kusukawa J. Plasma levels of n-decanoyl ghrelin, another acyl- and active-form of ghrelin, in human subjects and the effect of glucose- or meal-ingestion on its dynamics. *Regul Pept*. 2011 Feb 25;167(1):140-8. (査読有り)

11: Nanjo Y, Adachi H, Hirai Y, Enomoto M, Fukami A, Otsuka M, Yoshikawa K, Yokoi K, Ogata K, Tsukagawa E, Kasahara A, Murayama K, Yasukawa H, **Kojima M**, Imaizumi T. Factors associated with plasma ghrelin level in Japanese general population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Apr;74(4):453-8. (査読有り)

12: **Kojima M**, Kangawa K. Ghrelin: more than endogenous growth hormone secretagogue. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Jul;1200:140-8. (査読なし)

13: **Sato T**, Nakashima Y, Nakamura Y, Ida T, **Kojima M**. Continuous antagonism of the ghrelin receptor results in early induction of salt-sensitive hypertension. *J Mol Neurosci*. 2011 Feb;43(2):193-9. (査読有り)

14: Sugino T, Kawakita Y, Fukumori R, Hasegawa Y, **Kojima M**, Kangawa K, Obitsu T, Taniguchi K. Effects of glucose and amino acids on ghrelin secretion in sheep. *Anim Sci J*. 2010 Apr;81(2):199-204. (査読有り)

15: Ida T, Miyazato M, Lin XZ, Kaiya H, **Sato T**, Nakahara K, Murakami N, Kangawa K, **Kojima M**. Purification and characterization of caprine ghrelin and its effect on growth hormone release. *J Mol Neurosci*. 2010 Sep;42(1):99-105. (査読有り)

16: Nonoshita A, Nishi Y, Takushima S, Oshima M, Hosoda H, Kangawa K, **Kojima M**, Mifune H, Tanaka E, Hori D, Kamura T. Dynamics of placental ghrelin production and its receptor expression in a Dahl salt-sensitive rat model of intrauterine growth

restriction. Placenta. 2010 May;31(5)358-64. (査読有り)

17: Takahashi H, Kurose Y, Suzuki Y, Kojima M, Yamaguchi T, Yoshida Y, Azuma Y, Sugino T, **Kojima M**, Kangawa K, Hasegawa Y, Kobayashi S. Changes in blood pancreatic polypeptide and ghrelin concentrations in response to feeding in sheep. J Anim Sci. 2010 Jun;88(6):2103-7. (査読有り)

18: Ariyasu H, Iwakura H, Yamada G, Kanamoto N, Bando M, Kohno K, **Sato T**, **Kojima M**, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. A postweaning reduction in circulating ghrelin temporarily alters growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone in male mice but does not affect somatic growth. Endocrinology. 2010 Apr;151(4):1743-50. (査読有り)

19: **Kojima M**, Kangawa K. Ghrelin: from gene to physiological function. Results Probl Cell Differ. 2010;50:185-205. (査読なし)

20: Takahashi T, Ida T, **Sato T**, Nakashima Y, Nakamura Y, Tsuji A, **Kojima M**. Production of n-octanoyl-modified ghrelin in cultured cells requires prohormone processing protease and ghrelin O-acyltransferase, as well as n-octanoic acid. J Biochem. 2009 Nov;146(5):675-82. (査読有り)

21: Ohgusu H, Shirouzu K, Nakamura Y, Nakashima Y, Ida T, **Sato T**, **Kojima M**. Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) has a preference for n-hexanoyl-CoA over n-octanoyl-CoA as an acyl donor. Biochem Biophys Res Commun. 2009 Aug 14;386(1):153-8. (査読有り)

22: Garcia EA, King P, Sidhu K, Ohgusu H, Walley A, Lecoer C, Gueorguiev M, Khalaf S, Davies D, Grossman AB, **Kojima M**, Petersenn S, Froguel P, Korbonits M. The role of ghrelin and ghrelin-receptor gene variants and promoter activity in type 2 diabetes. Eur J Endocrinol. 2009 Aug;161(2):307-15. (査読有り)

23: Hiejima H, Nishi Y, Hosoda H, Yoh J, Mifune H, Satou M, Sugimoto H, Chiba S, Kawahara Y, Tanaka E, Yoshimatsu H, Uchimura N, Kangawa K, **Kojima M**. Regional distribution and the dynamics of

n-decanoyl ghrelin, another acyl-form of ghrelin, upon fasting in rodents. Regul Pept. 2009 Aug 7;156(1-3):47-56. (査読有り)

[学会発表] (計9件)

①佐藤貴弘 2011.9.23 第32回日本肥満学会(兵庫県淡路市、淡路夢舞台)「低エネルギー条件下におけるグレリン遺伝子欠損マウスの体温変動」

②佐藤貴弘 2011.7.8 第29回内分泌サマナーセミナー(仙台市、東北大学医学部)「制限給餌条件下におけるグレリン遺伝子欠損マウスの体温変化」

③児島将康 2010.5.20 第52回日本小児神経科学会総会(福岡市、福岡国際会議場)特別講演「成長ホルモン分泌と食欲を刺激するホルモン“グレリン”の多彩な生理作用」

④児島将康 2010.11.25 第63回日本薬理学会西南部会「新薬理学セミナー」(鹿児島市、鹿児島大学)シンポジウム「グレリンと体温調節」

⑤児島将康 2010.10.1 第31回日本肥満学会(前橋市、前橋テルサ)シンポジウム「グレリンと体温調節・肥満」

⑥児島将康 2010.9.8 18th International Symposium of Regulatory Peptides(ベルファスト、アイルランド)シンポジウム「Ten years after the discovery of ghrelin: novel functions and processing」

⑦児島将康 2010.3.29 14th International Congress of Endocrinology(ICE2010)(京都府京都市、京都国際会議場)シンポジウム「Phenotypic analysis of ghrelin knockout mouse」

⑧児島将康 2009.10.21 第82回日本生化学会大会(兵庫県神戸市、神戸国際会議場)シンポジウム「Phenotypic analysis of ghrelin knockout mouse」

⑨児島将康 2009.10.2 Satellite Symposium of 9th VIP/PACAP Symposium in Yakushima(鹿児島県、屋久島いわさきホテル)シンポジウム「Peptide hunting: from Drosophila to Human」

[産業財産権]

○出願状況(計1件)

名称: ショウジョウバエ由来生理活性ペプチ

ド

発明者：井田隆徳、児島将康、桑和彦

権利者：久留米大学、熊本大学

種類：特許

番号：特願 2010-45816

出願年月日：平成 22 年 3 月 2 日

国内外の別：国内

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

児島 将康 (KOJIMA MASAYASU)

久留米大学・分子生命科学研究所・教授

研究者番号：20202062

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

佐藤 貴弘 (SATO TAKAHIRO)

久留米大学・分子生命科学研究所・准教授

研究者番号：50368883

井田 隆徳 (IDA TAKANORI)

(申請当時：久留米大学・分子生命科学研究  
所・助教) 現・宮崎大学・IR 推進機構、IRO  
特任助教

研究者番号：00381088