

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791055
 研究課題名(和文) グレリン分泌低下マウスを用いた摂食脂肪蓄積におけるグレリンの生理的意義の検討
 研究課題名(英文) Physiological Roles of circulating ghrelin on food intake and energy homeostasis

 研究代表者
 有安 宏之 (ARIYASU HIROYUKI)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：50378650

研究成果の概要(和文)：

ジフテリアトキシン受容体(DTR)強制発現システムを用いて、後天的にグレリン分泌細胞を破壊しうるマウスを用いて、循環血中グレリンの摂食・脂肪蓄積に関する生理学的役割を検討したところ、解析し得た範囲では、血中グレリン濃度が低下した状況下において、摂食行動は正常に維持されていたものの脂肪利用が高まっていた。循環血中のグレリンは、エネルギー利用効率の修飾を介して体重調節に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：

Ghrelin has a potent orexigenic effect and induces adiposity when administered exogenously. Because plasma ghrelin levels rise before meals, ghrelin has been thought to play a crucial role in the regulation of appetite. By contrast, mice deficient in the production of ghrelin or its receptor, GHS-R, do not eat less, throwing into question the role of ghrelin in the regulation of energy homeostasis. Since these mice lack ghrelin or GHS-R from conception, one cannot rule out the possibility that compensatory mechanisms may have arisen during development. In this study, we used a transgenic mouse that expresses human diphtheria toxin (DT) receptor cDNA under control of the ghrelin promoter (GPDTR-Tg mice). As we previously reported, an injection of DT into this mouse ablates ghrelin-secreting cells in the stomach but not in the hypothalamus, resulting in a reduction in circulating ghrelin levels. We used this model system to evaluate the physiological roles of circulating ghrelin in the regulation of food intake. The meal patterns, diurnal and nocturnal meal sizes, and the cumulative food intake of DT-treated GPDTR-Tg mice were not affected, though circulating ghrelin levels were markedly decreased even after fasting. These mice also displayed normal responses to starvation, but increased their use of fat and exhibited slower weight gain when maintained on a high fat diet. Together, these data suggested that circulating ghrelin does not play a crucial role in feeding behavior, but rather is involved in maintaining body weight.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：成長ホルモン、グレリン

1. 研究開始当初の背景

国立循環器病センターの児島・寒川らによって発見されたグレリンは、成長ホルモン分泌促進作用・摂食促進作用・消化管運動促進作用・エネルギー蓄積作用など、多彩な薬理作用を有することが明らかになっている (Nakazato et al. Nature 2001、Date et al. Biochem Biophys Res Commun 2001)。その一方で、これまでに国内外から報告されたグレリン欠損 or グレリン受容体欠損マウスは、成長や摂食行動について野生型マウスと差を認めず、グレリンの薬理作用との間に大きな離が生じている。(Yuxiang Sun et al. Molecular and Cellular Biology 2003、Wortley et al. J Clin Invest 2005)。

我々は、グレリンの生理的役割（特に摂食や代謝に関する役割）を検討するためには、生後脳内のニューロンネットワークが構築された以降にグレリン分泌が低下するようなモデル動物を作成する必要があると考えた。これまでに申請者は、後天的グレリン分泌低下マウスの作成に成功し、そのマウスを用いて成長期におけるグレリンのGH分泌と成長に関する役割を検討し報告してきた (Ariyasu et al. Endocrinology 2010)。本研究では、これまでの研究を進展させ、更に週齢を経たマウスを用いて、摂食・エネルギー代謝におけるグレリンの生理的役割を検討することとした。

2. 研究の目的

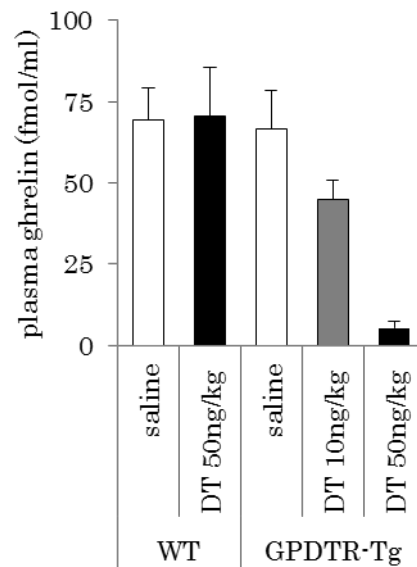
「グレリンプロモーターを用いたジフテリアトキシン受容体強制発現マウス」を用いて、後天的にグレリン分泌を低下させ、その表現形を解析することによりグレリンの生理的役割を解明することを目的とする。本研究では、特に①グレリンの摂食促進ペプチドとしての生理的役割の検討と、②エネルギー代謝とグレリンの関わりについての検討を中心として研究を進めていく。多彩な薬理作用を有するグレリンは、その臨床応用が期待されている、その上で生理的意義の解明は重要な課題であり、本研究の果たす意義は非常に大きいと思われる。

3. 研究の方法

グレリン分泌低下マウス

過酷に報告したグレリン分泌細胞にジフテリアトキシン (DT) 受容体を強制発現する GPDTR-Tg マウスを利用し研究を行った。

【このマウスは、外来性の DT を投与により、グレリン分泌細胞が破壊される。血中グレリン濃度は、50ng/kg x 2 回の DT 投与によって、検出限界以下まで低下する (野生型 (WT) マウス vs. GPDTR-Tg マウス 64.0 ± 6.0 fmol/ml vs. 5.0 fmol/ml)】



① 摂食における循環血中グレリンの役割の検討

成長がある程度落ち着いたマウス (8-12 週令) に対して、50ng/kg の DT を週 2 回投与し、循環血中グレリン濃度が検出限界以下に低下させ、そのマウスの一日平均摂食量、昼夜の摂餌パターンを測定する。摂食調節に關与する視床下部の遺伝子の発現検討や摂食制限や絶食等の負荷時の摂食状況等の解析を行う。

② エネルギー代謝と循環血中グレリンの役割の検討

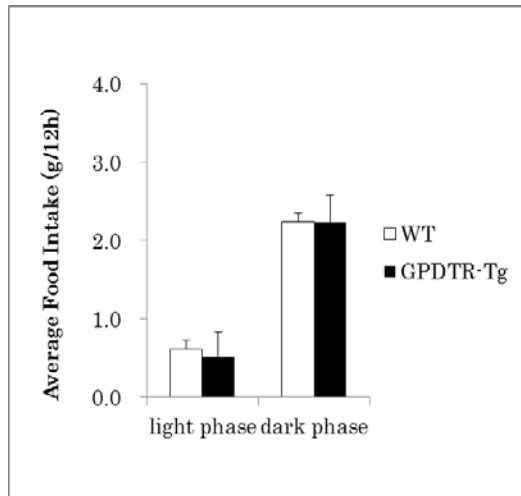
25 週令のマウスに対して 50ng/kg の DT を週 2 回投与し、循環血中グレリン濃度が検出限界以下に低下させ、標準食下と 60% 高脂肪食下で飼育し、体重経過を追う。また、呼吸ガス測定を行い、呼吸商を算出する。

4. 研究成果

① 摂食における循環血中グレリンの役割の検討

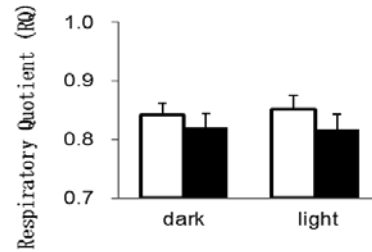
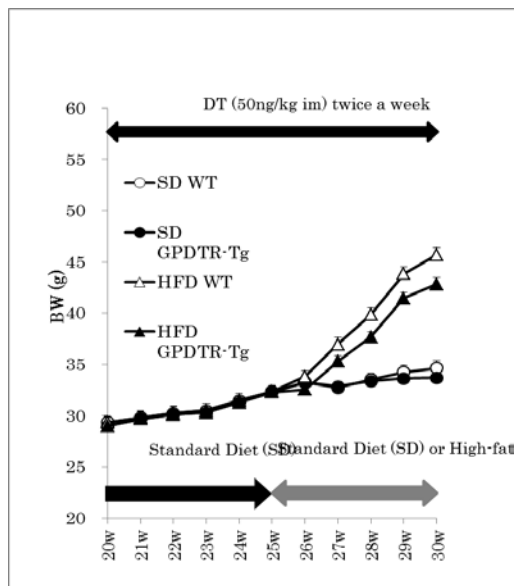
グレリン分泌低下マウスの 1 週間の平均摂食量は 27.1 ± 0.6 g であり、WT マウス 28.2 ± 0.6g と比較して有意差を認めなかった。また昼夜の摂餌パターンの解析では、WT マウスが日中に 1 日摂餌量の 22.7%、夜間に 77.3% を摂取したのに対し、グレリン分泌低下マウスは、日中に 22.0%、夜間に 78.0% を摂取しており、両者の間に有意な差は認めなかった。16 時間絶食後の再摂食量や社会行動ストレスを与えた状況下でも摂食について検討したが、有意な変化を認めなかった。加えて、摂食調節に關与する遺伝子の発現検討を

種々の条件下で行ったが、検討し得た限りにおいて、グレリン分泌低下マウスで目立った変化を指摘し得なかった。



②エネルギー代謝と循環血中グレリンの役割の検討

高脂肪食下では両群の平均摂食カロリーは有意差を認めないにもかかわらず、グレリン分泌低下マウスにおいて脂肪利用が高まっており、体重増加が WT マウスと比較し有意に抑制されていた。



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 4 件)

1. Oxytocin and dopamine stimulate ghrelin secretion by the ghrelin-producing cell line, MGN3-1 in vitro.

Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Yamada G, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. *Endocrinology*, 2011; 152:2619-2625, 査読あり

2. Transgenic overexpression of intraislet ghrelin does not affect insulin secretion or glucose metabolism in vivo

Bando M, Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Yamada G, Hosoda K, Adachi S, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T

Am J Physiol Endocrinol Metab, 2012;302:403-408 査読あり

3. Analysis of plasma ghrelin in patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency and glutaric aciduria type II.

Akamizu T, Sakura N, Shigematsu Y, Tajima G, Ohtake A, Hosoda H, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K.

Eur J Endocrinol, 2012; 166:235-240 査読あり

4. Transgenic mice overexpressing ghrelin or ghrelin analog.

Ariyasu H, Yamada G, Iwakura H, Akamizu T, Kangawa K, Nakao K.

Methods Enzymol, 2012; 514:371-377 査読なし

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 有安宏之、岩倉浩、赤水尚史、山田豪、中尾一和、寒川賢治：後天的グレリン分泌低下マウスを用いたグレリン生理的役割の検討

第 84 回 日本内分泌学会学術集会 2011 年 4 月 21 日 神戸コンベンションセンター

2. 有安宏之、岩倉浩、赤水尚史、山田豪、中尾一和、寒川賢治：後天的グレリン分泌低下マウスを用いたグレリン生理的役割の検討

第 32 回日本肥満学会学術集会 2011 年 9 月 23 日 淡路夢舞台国際会議場

3. Hiroyuki Ariyasu, Hiroshi Iwakura, Go Yamada, Takashi Akamizu, Kenji Kangawa and Kazuwa Nakao

A reduction in circulating ghrelin after maturation improves diet-induced-obese phenotype

The 29th Annual Scientific Meeting of The Obesity Society 2011. 10. 2 The World Center Marriott in Orlando (USA)

4. 有安宏之、岩倉浩、勝浦五郎、後藤伸子、越智ゆかり、山下唯、赤水尚史、寒川賢治、中尾一和：グレリン分泌低下マウスの絶食・再摂食およびストレス状況下における摂食調節についての検討

第 38 回 日本神経内分泌学会 2011 年 11 月 26 日都道府県会館（東京都）

5. 有安宏之：摂食・エネルギー代謝におけるグレリン/GHS-R 系の役割の検討

アディポサイエンス研究会シンポジウム（招待講演）2012 年 8 月 25 日 千里阪急ホテル

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ghrelin/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有安 宏之 (ARIYASU HIROYUKI)

京都大学・医学研究科 助教

研究者番号：50378650

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし