

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461385

研究課題名(和文) 摂食調節における遊離脂肪酸の役割に関する基礎的検討

研究課題名(英文) Physiological roles of free fatty acids in the regulation of food intake

研究代表者

有安 宏之 (Ariyasu, Hiroyuki)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：50378650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、摂食促進作用を有するホルモンであるグレリンに対する中鎖脂肪酸の関与を検討した。浸透圧ポンプを利用してグレリンを皮下に持続投与し、その血中濃度が非投与時の約10倍になるように調整したマウスでは、著大な摂食量の増加と体重増加を認めた。しかしながら、このマウスに中鎖脂肪酸を高濃度含有する餌を与えると、グレリンによる摂食促進作用はキャンセルされた。一方、グレリンによるGH分泌促進作用は中鎖脂肪酸含有食摂餌下においても、変わりなく発揮された。これらの検討から、グレリンの摂食促進作用に関して、中鎖脂肪酸はグレリン抵抗性を惹起することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Medium-chain triglycerides (MCTs) are triglycerides whose fatty acids have an aliphatic tail of 6-12 carbon atoms. Some studies have shown that MCTs can help in the process of excess calorie burning, because MCTs passively diffuse from the GI tract to the portal system and are used quickly. MCTs are also seen as promoting reduced food intake, but the mechanism by which MCTs reduces food intake is still unclear. The aim of the study is to clarify whether medium fatty acids interfere with the biological activities of ghrelin. We used a mini-osmotic continuous infusion pump and kept plasma ghrelin levels 10-fold higher than control mouse. Cumulative food intake of standard-diet-fed mice were significantly increased, but those of MCT-diet-fed mice were not increased. These results suggest that May MCT diet may inhibit orexigenic effect of ghrelin.

研究分野：内分泌学

キーワード：グレリン

1. 研究開始当初の背景

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ペプチドホルモンである (Nakazato et al. Nature 2001、Date et al. Biochem Biophys Res Commun 2001)。我々は、その生理的意義や薬理的意義の解明のために、後天的グレリン分泌低下マウス (Ariyasu, Iwakura et al. Endocrinology 2010)、グレリン誘導体過剰発現マウス (Yamada, Ariyasu et al. Endocrinology. 2010) やグレリン産生腫瘍発症マウス (Iwakura, Ariyasu et al. Endocrinology 2009) 等のグレリンの遺伝子改変動物の作成してきた。更に、そのグレリン産生腫瘍からグレリン分泌細胞株を樹立し (Iwakura, Li, Ariyasu et al. Endocrinology 2010) それをヌードマウスに移植することによって血中グレリン濃度が野生型マウスの約 2 倍に上昇したマウスを作成したところ、そのマウスの摂食量が有意に増加した。これらの研究を通じて、我々は、グレリンがエネルギー調節や摂食に重要な役割を果たしているホルモンであることを明らかにしてきた。

ところで、脂質はエネルギー源としての役割に加えて、加えて生理活性を有する脂溶性シグナル伝達分子として多彩な生命現象に能動的に関与することが判ってきた。遊離脂肪酸受容体や脂肪酸輸送担体は視床下部にも発現しており、遊離脂肪酸がそれらを通じて、摂食関連ペプチドの分泌調節や作用発現に関与している可能性が示唆されている。例えば、長鎖脂肪酸摂餌下では、レプチンの摂食抑制作用が発揮されないことが報告されている (Tanaka et al. Diabetes. 2005)。これまで我々は、グレリンによるエネルギー・摂食調節機構の解明のための研究活動を行ってきた。本研究では、グレリンの摂食促進作用に与える、遊離脂肪酸の影響をはじめとして、その他の摂食関連ペプチドと脂肪酸の関わりを検討することとした。

2. 研究の目的

脂肪酸は、生体内においてエネルギーとしての役割のみならず、脂溶性シグナル伝達分子としての働きも有している。様々な鎖長の遊離脂肪酸を認識する受容体も相次いで発見されており、それらの一部は視床下部にも発現していることが明らかになっている。遊離脂肪酸は、それらの受容体や脂肪酸の輸送担体を通じて、視床下部において摂食関連ペプチドの分泌調節や作用などに能動的に関与している可能性が示唆されているが、その詳細は不明である。そこで本研究では、摂食調節における脂肪酸の意義を、視床下部の摂食関連ペプチドの作用調節の面から検討する。

3. 研究の方法

摂食調節における脂肪酸の意義を検討す

るために、脂肪酸の鎖長の違いが、グレリンをはじめとした、摂食関連ペプチドの分泌や作用発現に影響を検討する。

そこで、様々な鎖長の脂肪酸を含有する餌を作成し、グレリン過剰発現マウス、グレリン欠損マウス、レプチン過剰発現マウス、ob/ob マウス、db/db マウスなどの遺伝子改変動物与え以下の検討を行う

摂食行動解析

エネルギー消費についての解析

ホメオスタティックな摂食調節系 (視床下部) の解析

報酬的摂食行動の解析

脂肪酸の鎖長の違いや飽和・不飽和度の違いが与える、摂食調節因子投与時の摂食行動への影響の解析

4. 研究成果

入したコンストラクトを用いて作成した des-acyl ghrelin を過剰産生 Tg マウスと、SAP-promotor の下流に GOAT を挿入したコンストラクトを用いて作成した GOAT 過剰発現 Tg マウスを交配し、肝臓で active な ghrelin を過剰産生するマウス (Ghrelin-Tg マウス) を作製した。この Ghrelin-Tg マウスに中鎖脂肪酸を多量に配合した餌を与えたところ、血中 Ghrelin 濃度が約 1000fmol/ml に上昇した。これは野生型マウスに同様の餌を与えた場合の約 10 倍の血中 Ghrelin 濃度であった。この血中 Ghrelin 濃度が野生型 (WT) マウスの約 10 倍に上昇したマウスの食行動は、野生型マウスと比較して、有意な変化を認めなかった。

WT マウスに浸透圧ポンプを用いて Ghrelin を 0.35 µg/h で皮下に持続投与したところ、前述の ghrelin-Tg マウスの血中 Ghrelin 濃度に匹敵する濃度に到達した。このマウスの、平均摂餌量 (標準餌) は、Ghrelin 非投与マウスと比較して有意に増加していた。しかしながら、中鎖脂肪酸を多量に配合した餌を与えた状況下で、WT マウスに浸透圧ポンプを用いて Ghrelin を 0.35 µg/h で皮下に持続投与したところ、Ghrelin による摂餌量増加作用は消失した。同様の実験を、長鎖脂肪酸配合餌の下で実施したところ、Ghrelin による摂餌量増加作用は標準餌摂取下と同様に認められた。更に、Ghrelin による GH 分泌促進作用を検討したところ、中鎖脂肪酸含有食摂餌下においても、Ghrelin の GH 分泌促進作用は、変わりなく発揮された。これらの結果から中鎖脂肪酸は、摂食に関して Ghrelin 感受性を低下させることが示唆された。続いて、Ghrelin を持続投与しつつ、標準餌もしくは中鎖脂肪酸配合餌の下で飼育したマウスの視床下部を採取し、NPY, AgRP, Orexin, MCH, CRH, POMC, CART 等の遺伝子発現を検討したところ、両群間で有意な変化は認めず、Ghrelin 感受性の低下のメカニズムは不明のままであった。

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 12 件)

- [1] Bando M, Iwakura H, Koyama H, Hosoda H, Shigematsu Y, Ariyasu H, Akamizu T, Kangawa K, Nakao K. High incorporation of long-chain fatty acids contributes to the efficient production of acylated ghrelin in ghrelin-producing cells. *FEBS Lett.* 590:992-1001.2016 (査読有)
- [2] Minamino H, Inaba H, Ariyasu H, Furuta H, Nishi M, Yoshimasu T, Nishikawa A, Nakanishi M, Tsuchihashi S, Kojima F, Murata S, Inoue G, Akamizu T. A novel immunopathological association of IgG4-RD and vasculitis with Hashimoto's thyroiditis. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2016:160004. Epub 2016 Feb 19. (査読有)
- [3] Koyama H, Iwakura H, Dote K, Bando M, Hosoda H, Ariyasu H, Kusakabe T, Son C, Hosoda K, Akamizu T, Kangawa K, Nakao K. Comprehensive Profiling of GPCR Expression in Ghrelin-producing Cells. *Endocrinology.* 157:692-704. 2016 (査読有)
- [4] Takeshima K, Inaba H, Ariyasu H, Furukawa Y, Doi A, Nishi M, Hirokawa M, Yoshida A, Imai R, Akamizu T. Clinicopathological features of Riedel's thyroiditis associated with IgG4-related disease in Japan. *Endocr J.* 62:725-31. 2015 (査読有)
- [5] Takeshima K, Ariyasu H, Inaba H, Inagaki Y, Yamaoka H, Furukawa Y, Doi A, Furuta H, Nishi M, Akamizu T. Distribution of serum immunoglobulin G4 levels in Hashimoto's thyroiditis and clinical features of Hashimoto's thyroiditis with elevated serum immunoglobulin G4 levels. *Endocr J.* 62:711-7. 2015 (査読有)
- [6] Ariyasu H, Yamada G, Iwakura H, Matsumura S, Inoue K, Kangawa K, Nakao K, Akamizu T. Reduction in circulating ghrelin concentration after maturation does not affect food intake. *Endocr J.* 61:1041-52. 2014 (査読有)
- [7] Ariyasu H, Iwakura H, Yukawa N, Murayama T, Yokode M, Tada H, Yoshimura K, Teramukai S, Ito T, Shimizu A, Yonezawa A, Kangawa K, Mimori T, Akamizu T. Clinical effects of ghrelin on gastrointestinal involvement in patients with systemic sclerosis. *Endocr J.* 61:735-42. 2014 (査読有)
- [8] Shimada T, Furuta H, Doi A, Ariyasu H, Kawashima H, Wakasaki H, Nishi M, Sasaki H, Akamizu T. Des-acyl ghrelin protects microvascular endothelial cells from oxidative stress-induced apoptosis through sirtuin 1 signaling pathway. *Metabolism.* 63:469-74. 2014 (査読有)
- [9] Takeshima K, Inaba H, Furukawa Y, Nishi M, Yamaoka H, Miyamoto W, Ota T, Doi A, Kawashima H, Ariyasu H, Wakasaki H, Furuta H, Nakao T, Sasaki H, Akamizu T. Elevated serum immunoglobulin G4 levels in patients with Graves' disease and their clinical implications. *Thyroid.* 24:736-43. 2014 (査読有)
- [10] Honda K, Sone M, Tamura N, Sonoyama T, Taura D, Kojima K, Fukuda Y, Tanaka S, Yasuno S, Fujii T, Kinoshita H, Ariyasu H, Kanamoto N, Miura M, Yasoda A, Arai H, Ueshima K, Nakao K. Adrenal reserve function after unilateral adrenalectomy in patients with primary aldosteronism. *J Hypertens.* 31:2010-7. 2013 (査読有)
- [11] Bando M, Iwakura H, Ariyasu H, Koyama H, Hosoda K, Adachi S, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. Overexpression of intraislet ghrelin enhances β -cell proliferation after streptozotocin-induced β -cell injury in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 305:E140-8. 2013 (査読有)
- [12] Yamada-Goto N, Katsuura G, Ebihara K, Inuzuka M, Ochi Y, Yamashita Y, Kusakabe T, Yasoda A, Satoh-Asahara N, Ariyasu H, Hosoda K, Nakao K. Intracerebroventricular Administration of C-Type Natriuretic Peptide Suppresses Food Intake via Activation of the Melanocortin System in Mice. *Diabetes.* 62: 1500-4. 2013 (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

- [1] 有安宏之
グレリンの生理的及び病態生理学的意義の検討とそれに基づいたトランスレショナルリサーチ
第 88 回 日本内分泌学会学術集会 (ホテルニューオータニ 東京 2015 年 4 月 25 日)
- [2] Ariyasu H, Takeshima K, Furukawa Y, Furuta H, Nishi M, Hirokawa M, Yoshida A, Imai R, Akamizu T. An analysis of 10 Japanese patients with Riedel's thyroiditis associated with IgG4-related disease. 15th International Thyroid Congress and 85th Annual Meeting of the ATA October 18-23, 2015 Lake Buena Vista, USA
- [3] Takeshima K, Ariyasu H, Inaba H, Inagaki Y, Yamaoka H, Furukawa Y, Doi A, Furuta H, Nishi M, Akamizu T. Clinical Features of Hashimoto's Thyroiditis with Elevated Serum Immunoglobulin G4 Levels in Japan 15th International Thyroid Congress and 85th Annual Meeting of the ATA October 18-23, 2015 Lake Buena Vista, USA
- [4] Furuta H, Matsuno S, Miyawaki M, Doi A, Uraki S, Ariyasu H, Kawashima H, Nishi M, Nanjo K, Akamizu T. Clinical Characteristics of Japanese Children with MODY 2 Detected by a Urine Glucose Screening at School. 7th AASD Scientific Meeting of the Hong Kong Society of Endocrinology, Metabolism and Reproduction. November 21-22, 2015 Hong Kong
- [5] Ishibashi T, Doi A, Nishi M, Furukawa Y, Ota T, Matsutani N, Inaba H, Kawashima H, Ariyasu H, Wakasaki H, Nakao T, Furuta H, Sasaki H, Akamizu T. Nicotin's Effects on Insulin Secreting MIN 6 Cell Line. ICE/ENDO 2014, June 21-24, 2014, Chicago, USA

〔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〕

特記事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有安 宏之 (ARIYASU HIROYUKI)
和歌山県立医科大学・医学部 講師
研究者番号: 50378650

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし