

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 C
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590237
 研究課題名（和文） 摂食と消化機能の中枢と末梢性の相互調節、および加齢の影響
 研究課題名（英文） Interaction of central and peripheral regulations on food intake and digestion and aging effect
 研究代表者
 金井 節子 (KANAI SETSUKO)
 財) 東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所・助手
 研究者番号：90100122

研究成果の概要：

高齢者にみられる食欲低下の原因の解明を目的にマウスを用いて実験を行った。グレリンの末梢投与による摂食効果を老齢マウス（C57BL:26~28ヶ月）と若齢マウス（6~8ヶ月）比較したが、加齢によりグレリンの摂食亢進効果は低下している傾向が観察された。またグレリンの血中、胃の濃度にも変化が見られた。消化器機能としての胃酸分泌は、生理的範囲内の刺激に対する反応性は加齢により大きな変化は見られないが、予備能力が低下することが観察された。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学

キーワード：加齢、消化管機能、摂食、グレリン

1. 研究開始当初の背景

生命活動は、摂食、消化、吸収によるエネルギー源の確保と、そのエネルギーを代謝することで維持される。食餌摂取時の消化器機能は脳相、胃相、腸相に大別され、その調節機構には自律神経、消化管および神経ペプチド、酵素などが相互に関連している。加齢に伴う生体の予備力の低下状態での食欲低下による栄養障害は、即、身体活動を制限し、高齢者では深刻な問題となるので、この加齢→活動量の減少→筋肉量の減少に伴いエネルギー必要量が減少→摂食量の減少→其の

結果の活動量の減少という悪循環をどこかでたちきることが必要となる。そのためには、加齢による食欲低下の機序を解明し、適切に対処する事が必要である。従って加齢による食欲低下の原因を末梢の消化管機能と中枢の調節機能の両面から解明する必要がある。

消化管ペプチドが中枢でも神経ペプチドとして、食欲、睡眠などの基本的生命現象に関わっている事は知られており、摂食の調節に関わるペプチドが次々に発見された。脳腸ペプチドとして知られているコレシストキニン (CCK) は、動物種を問わず視床下部お

よび迷走神経末端の CCK-1 受容体 (R) を介して摂食を抑制する。老齢ラットの脳室内に CCK を投与すると、若齢ラットよりもより少量の CCK で摂食抑制効果がえられることが観察されたが CCK, CCK-1R 遺伝子発現がともに老齢ラットでは低下していたことから、分子機序は明確にならなかった (Miyasaka, AGG, 1995)。又、最近発見された神経ペプチド、オレキシンの効果を検討したところ、老齢ラットでは、オレキシンの摂食促進効果が消失していた (Takano S., Kanai S. et al A. J. P., 2004)。さらに遠位で摂食に関与しているとされている NPY、グレリンの脳室内投与を検討した結果、老齢ラットでは摂食亢進効果が有意に低下していた (Akimoto-Takano S., Kanai S. et al Neuroendocrin 2005)。従って、加齢そのものにより、脳内の摂食調節機構が摂食抑制の方向へ向いていると考えられた。

当研究室の動物実験では生理的範囲内の刺激では老齢と若齢ラットの反応に差は見られないが (Miyasaka K., Pancreas 1989)、生理的範囲をこえた刺激に対する反応や、悪条件をかせられた後の回復が老齢では低下しており (Miyasaka K., J. Gerontol 1989)、加齢による予備能力が低下している事がわかった。

2. 研究の目的

生命活動は、摂食、消化、吸収によるエネルギーの確保と、そのエネルギーを代謝することで維持される。食餌摂取の調節機構には自律神経、消化管および神経ペプチド、酵素などが相互に関連している。過剰な摂取は生活習慣病の原因となり、その逆に高齢者にみられる食欲不振は身体機能を低下させ、生活の質を低下させることから高齢者では深刻な問題となる。その為、加齢による食欲低下の機序を解明し、適切に対処する事が必要である。

本研究では末梢への摂食調節関連ペプチドの投与による摂食の動向と消化管の機能を老齢動物 (マウス) を用いて検討し、加齢による食欲低下の原因を末梢の消化管機能と中枢の調節機能の両面から解明し、対応策を探索する事を目的とする。今回マウスを用

いる事にしたのは、多方面に渡る検討に安定した数の供給が可能であるからである。

3. 研究の方法

(1) 加齢による摂食調節の検討

本研究では中枢のみでなく末梢投与でも摂食に効果があるといわれている CCK とグレリンを老齢マウス (C57BL/6) の末梢に投与し、その効果を若齢マウスと比較検討する。

若齢マウス (6~8 月齢) と老齢マウス (26~28 月齢) に CCK は一晩絶食ののちに、グレリンは絶食せずに (0.3, 1.0, 3.0 nmol/mouse) 腹腔内投与し、加齢による各々の効果の変化を観察した。グレリンは一晩絶食ののち同様の観察を行った。摂食量は投薬後 20 分、1、2、4 時間で測定した。

(2) グレリン分泌調節の加齢変化

若齢マウス (6~8 月齢) と老齢マウス (26~28 月齢) を用い、16 時間以上の絶食と絶食しない時の血液中及び胃のグレリン濃度を測定し、グレリンの分泌に加齢変化があるかを検討した。

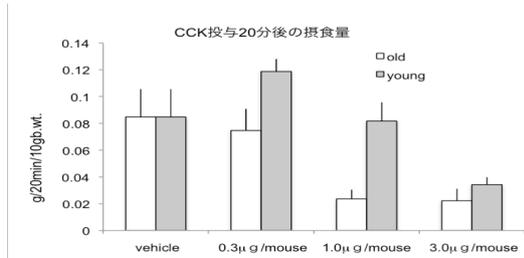
(3) 胃酸分泌の加齢変化

胃酸は、ヒスタミン、ガストリンなどの化学物質、脳からの神経伝達、満腹等の物理的刺激により、胃壁細胞のプロトンポンプから分泌される。化学物質としてヒスタミン、神経伝達物質としてカルバコール、胃内に生食を止めて物理的刺激として、若齢マウス (6~8 月齢) と老齢マウス (26~28 月齢) で各々の刺激に対する反応に違いがあるか観察した。さらにプロトンポンプの蛋白レベルを比較し、消化管における老化の機序の解明を試みる。また CCK とガストリン遺伝子の両方が欠損しているマウスでグレリン分泌が消失している事が報告されている。CCK-1R, CCK-2R (ガストリン受容体) (-/-) (ノックアウト) の胃酸分泌における役割を検討した。ヒスタミン (100, 500, 1000 μ g/kg) あるいはカルバコール (10, 50, 100 μ g/kg) の投与量を段階的に変えて、あるいは二つを組み合わせて胃酸分泌反応を観察した。実験には 6~8 ヶ月齢の CCK-1R (-/-), CCK-2R (-/-), および CCK-1R (-/-), -2R (-/-) の雌マウスを使用した。

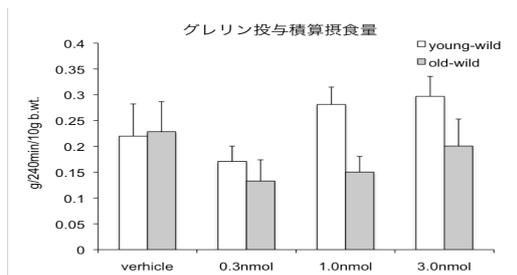
4. 研究成果

(1) 加齢による摂食調節の検討

絶食後 CCK 投与による摂食抑制効果は若齢では $1.0 \mu\text{g}/\text{mouse}$ 投与 20 分後に著明に出現したが、老齢では $1.0 \mu\text{g}/\text{mouse}$ では観察されず摂食抑制効果は $3.0 \mu\text{g}/\text{mouse}$ で出現した。

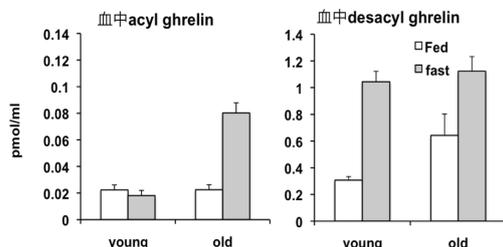


飽食状態での vehicle 投与では若老間の摂食量に差は認められず、グレリン腹腔内投与の効果は、若齢マウスでは 1.0, 3.0 nmol/mouse で認められたが、老齢マウスでは認められなかった。



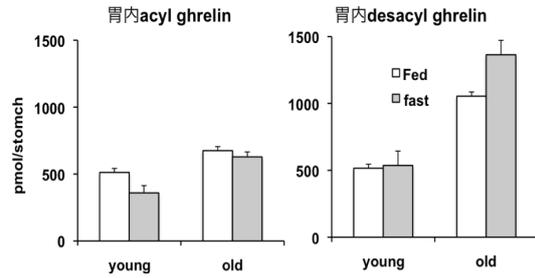
(2) グレリン分泌調節の加齢変化

飽食状態でのアシルグレリン濃度は、血中、胃内ともに若老間に大きな差は認められなかったが、血中デアシルグレリンは老齢マウスが高値を示した。



または絶食状態では若老ともに血中デアシルグレリンが増加したが、アシルグレリンは老齢マウスのみ有意に増加していた。また

胃内濃度はいずれも絶食によって大きな変化は認められなかった。

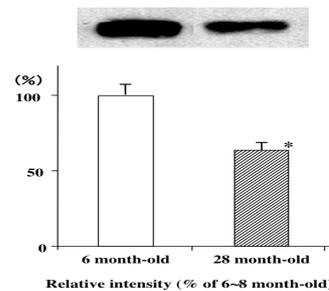


(3) 胃酸分泌の加齢変化

マウスにおいて、基礎胃酸分泌は老齢マウスが有意に高値であったが、ヒスタミン、カルバコールの皮下注射による胃酸分泌亢進は高濃度では老齢マウスが有意に亢進低下を示した。

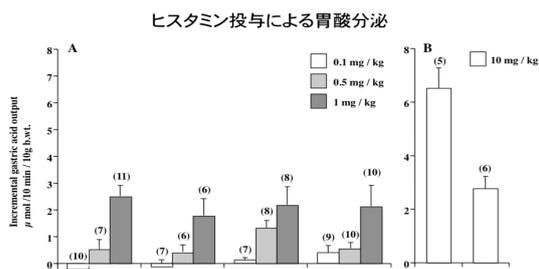
	6-month-old	26~28-month-old
body weight (g)	24.335 ± 0.353	28.774 ± 0.730
Basal gastric acid output ($\mu\text{mol}/10\text{min}/10\text{g b.wt.}$)	0.345 ± 0.022	0.408 ± 0.030
histamine 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($\mu\text{mol}/60\text{min}/10\text{g b.wt.}$)	1.196 ± 0.310	1.602 ± 0.825
1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($\mu\text{mol}/60\text{min}/10\text{g b.wt.}$)	5.538 ± 1.020	2.320 ± 0.631
carbachol 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($\mu\text{mol}/60\text{min}/10\text{g b.wt.}$)	4.773 ± 1.108	2.640 ± 0.686
20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($\mu\text{mol}/60\text{min}/10\text{g b.wt.}$)	6.57 ± 1.03	5.060 ± 1.607

物理的機械的刺激に対する酸分泌反応では加齢変化がなかった。プロトンポンプの蛋白レベルは加齢により低下していた。

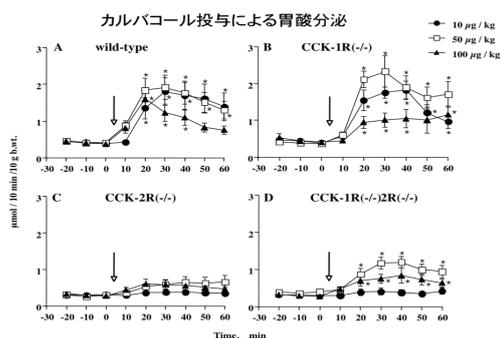


(〔雑誌論文〕①)

また、CCK-1R(-/-), CCK-2R(-/-), および CCK-1R(-/-), -2R(-/-) の雌マウスではヒスタミンの刺激反応は4群に差はなかったが、高濃度刺激に対しては CCK-1R(-/-) 2R(-/-) マウスで有意に低値を示した。



カルバコール刺激は CCK-2R を持たないマウスにおいて酸分泌刺激が障害されていた。



ヒスタミン、カルバコールの組み合わせはどの遺伝子群も単独より胃酸分泌は亢進しており、相互作用は CCK-2R を持たないマウスにおいても維持されており、CCK-2R の存在は胃酸分泌刺激において必須であるが、CCK-1R の役割はそれほど重要ではないと考えられた。

〔雑誌論文〕 ②)

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 Setsuko Kanai, Hiroko Hosoya, Minoru Ohta, Kyoko Miyasaka Decreased hydrogen-potassium-activated ATPase (H⁺-K⁺-ATPase) expression and gastric acid secretory capacity in aged mice ARCHIVES OF GERONTOLOGY AND GERIATRICS 45 2007 243-252

② 金井節子、細矢博子、秋本紗恵子、瀧口総一、船越顕博、宮坂京子 コレシストキニン(CCK)-1 および-2 受容体遺伝子、CCK -1, -2 受容体遺伝子欠損マウスにおける胃酸分泌

The Jaoneae Society of Digestio and Absorption 30-1 2007 39-43

③ Setsuko Kanai, Kyoko Miyasaka Gastric acid secretion in cholecystokinin-1 receptor, -2 receptor, and -1, -2 receptor gene knockout mice J Physiol Sci 59 2009 23-29

④ 宮坂京子、太田稔、 金井節子 アルコールと消化管機能. G. I. Research 16-2 2008 45-50

〔学会発表〕 (計 4 件)

① 金井節子、細矢博子、秋本紗恵子、瀧口総一、船越顕博、宮坂京子 コレシストキニン(CCK)-1 および-2 受容体遺伝子、CCK -1, -2 受容体遺伝子欠損マウスにおける胃酸分泌 消化吸収学会平成 19 年 10 月 18 ~ 21 日神戸

② 太田稔、 金井節子、細矢博子、瀧口総一、船越顕博、宮坂京子 グレリン分泌に対する CCK 受容体の関与 消化吸収学会平成 19 年 10 月 18 ~ 21 日神戸

③ 太田稔、 金井節子、宮坂京子 SHIP2 トランスジェニックマウスの表現型検討第 85 回日本生理学会大会 3.25-27、2008 東京

④ 太田稔、 金井節子、宮坂京子 インスリン情報伝達に関わる蛋白 SHIP2 の遺伝子トランスジェニックマウスの作成と表現型の検索 第 39 回日本消化吸収学会総会 10.1-4 2008 東京 (品川)

〔図書〕 (計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

○取得状況 (計 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金井 節子 (KANAI SETSUKO)

財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団
東京都老人総合研究所・助手