

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591061
 研究課題名 (和文) 新規ペプチド オベスタチンおよびグレリンの肥満に対する病態生理学的意義の解析
 研究課題名 (英文) Pathophysiological roles for the obesity of novel peptides obestatin and ghrelin
 研究代表者
 上野 浩晶 (UENO HIROAKI)
 宮崎大学・医学部・助教
 研究者番号：00381062

研究成果の概要：

成長ホルモン分泌促進作用や摂食促進作用を持つグレリンと同一遺伝子にコードされているオベスタチン、およびグレリンのヒトにおける摂食に対する作用を明らかにすることを試みた。グレリンとオベスタチンは長期のエネルギーバランスやインスリン抵抗性に関しては相反する作用を持つことが示唆されたが、オベスタチンには急性の摂食抑制作用はないと考えられた。オクタン酸含有食物の摂取は内因性のグレリン増加を促し、やせを伴う慢性呼吸器疾患の栄養療法として有用と考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：オベスタチン、グレリン、摂食調節、肥満

1. 研究開始当初の背景

肥満、特に内臓脂肪蓄積型肥満は糖尿病、高血圧、脂質代謝異常の誘因となり、脳血管障害や虚血性心疾患といった動脈硬化性疾患の重要な危険因子である。肥満で生活習慣病を複数有する患者が 5%程度の減量に成功すると、糖・脂質代謝や血圧コントロールが同時に改善することは临床上よく経験されるが、現実的には食事・運動・行動療法だけ

で減量するのは困難な症例が多く、肥満のメカニズムを解明し、それに基づいた肥満に対する新規治療法を開発することは臨床的にも極めて重要である。

グレリンは主に胃から分泌されるペプチドで、成長ホルモン分泌促進、食欲亢進、脂肪蓄積、抗心不全作用などの多彩な生理作用が報告されている。グレリンは中枢投与でも末梢投与でも摂食を亢進させ、血中のグレリ

ン濃度は空腹となる各食前で高値となり食後には速やかに低下するため、グレリンは空腹感を惹起するシグナルの一つと想定されている。また、血中グレリン濃度は body mass index (BMI) と逆相関し、肥満者ではグレリンの基礎値が低値となる。これは正常体重を維持するためのネガティブフィードバックの結果と考えられるが、肥満者では正常体重者と比べると食後のグレリン分泌抑制が低反応であるという報告もある。摂食障害患者では著明な高グレリン血症を認めるにもかかわらず摂食量が少なく著明な痩せを呈することから、グレリンの作用不全があると考えられる。肥満者においてもエネルギー摂取制限が困難である理由の一つとして、グレリンの作用や分泌調節に異常がある可能性が考えられ、本研究の遂行により肥満のメカニズム解明につながることを期待される。

オベスタチンは2005年11月に第一報が報告されたペプチドで、グレリンと同じくプレプログレリン遺伝子上にコードされている (Zhang JV: Science 310, 2005)。第一報ではオベスタチンを齧歯類に投与すると、グレリンとは逆の摂食抑制作用を示すと報告された。しかしその後は同様の作用を認めなかったという報告もあり、オベスタチンの生理作用については不明な点が多く、ヒトにおけるオベスタチンの生理作用に関する報告はほとんどない。グレリンと同一遺伝子から産生されるオベスタチンの摂食に対する作用が相反するものであれば興味深い、ヒトにおけるオベスタチンの摂食やエネルギー代謝における生理作用を明らかにするため、当研究室ではヒト オベスタチンのラジオイムノアッセイ (RIA) 系を最近確立した。この RIA 系を使用してオベスタチンの生理作用を解明し、グレリンとの関係も明らかにしていきたい。

2. 研究の目的

(1) ヒト オベスタチンの摂食に対する作用の解明を目的として、オベスタチンの摂食に対する作用の有無、および作用があるのなら亢進作用か抑制作用か、さらに作用の強度を解析する。

(2) グレリンとオベスタチンの作用連関の解析を目的として、急性のエネルギー摂取状態におけるグレリンとオベスタチンの血中動態や分泌調節に対する相関を解析する。同時に糖代謝やインスリン感受性との相関を解析する。摂食に対する両ペプチドの相互作用も解析する。

(3) 肥満の病態におけるオベスタチンとグレリンの作用の解析を目的として、肥満や肥満

の誘因である過食の病態や発症機序に対するオベスタチンとグレリンの役割を解析する。

3. 研究の方法

(1) 健常なボランティアを BMI<18.5 の痩せ群、18.5≤BMI<25 の正常体重群、BMI≥25 の肥満群に分類する。10時間以上絶食後の早朝空腹時に体格、体組成の測定および採血を行い、血中グレリン、デスアシルグレリン、オベスタチン、グルコース、インスリンの濃度を測定した。グレリンとデスアシルグレリンは ELISA キット、オベスタチンは当研究室で開発した RIA、グルコースはグルコースオキシダーゼ法、インスリンは ELISA キットにて測定した。

(2) 正常体重の健常者にラコール (1 kcal/ml、炭水化物 62.5%、蛋白質 17.5%、脂質 20%) を早朝空腹時に 450kcal 摂取させ、30分おきに 120分後まで経時的に採血を行い、血中グレリン、デスアシルグレリン、オベスタチン、グルコース、インスリンを測定した。

(3) グレリンをヒトに臨床応用する際に、現時点での投与方法は静脈内投与のみであり、簡便とは言えないため、内因性のグレリンを増加させる方法を検討した。ラコールは 400ml あたり 1.4g のオクタン酸 (=グレリンの脂肪酸修飾に必須) を含有しているが、これをやせを伴う慢性呼吸器疾患患者に単回内服させ、経時的に血中グレリン、デスアシルグレリンの濃度を測定した。また、2週間連続内服する前後での体格、食欲、血中グレリン、デスアシルグレリンの基礎値、栄養状態を反映する血液指標、血清 IGF-I 濃度を検討した。

4. 研究成果

(1) 健常人ボランティア 101名 (男性 38名、29.4±0.8歳、BMI: 24.4±0.7) を対象とした。BMI と血中グレリン濃度、および血中デスアシルグレリン濃度は有意な負の相関 (グレリン ; $r=-0.42$, $P<0.0001$ 、デスアシルグレリン ; $r=-0.55$, $P<0.0001$) を認めた。一方、BMI と血中オベスタチン濃度は有意な正の相関 ($r=0.38$, $P<0.0001$) を認めた。また、血中オベスタチン濃度と血中グレリンおよびデスアシルグレリン濃度は有意な負の相関 (グレリン ; $r=-0.30$, $P<0.003$ 、デスアシルグレリン ; $r=-0.40$, $P<0.0001$) を認めた。空腹時血糖値とグレリン、デスアシルグレリン、オベスタチン濃度には有意な相関を認めなかったが、空腹時インスリン値とグレリン、デスアシルグレリンは有意な負の相関 (グレ

リン; $r=-0.21$, $P=0.04$ 、デスアシルグレリン; $r=-0.35$, $P=0.0005$)を、オベスタチンとは有意な正の相関 ($r=0.37$, $P=0.0002$)を認めた。HOMA-R とグレリンとは有意な相関を認めなかったが、デスアシルグレリンとは有意な負の相関 ($r=-0.30$, $P=0.003$)を、オベスタチンとは有意な正の相関 ($r=0.31$, $P=0.002$)を認めた。以上の結果から、グレリンとオベスタチンは、長期のエネルギーバランスやインスリン抵抗性に関しては相反する作用を持つことが示唆された。

(2) 健常人ボランティア 16 名 (男性 6 名、 25.6 ± 0.9 歳、BMI: 21.4 ± 0.4) を対象とした。血糖値は、基礎値の 89.4 ± 1.5 mg/dl からラコール 450kcal 負荷後 30 分で 129.6 ± 5.0 mg/dl と頂値を示し、以後は漸減し、120 分後には 95.7 ± 3.8 mg/dl まで低下した。インスリン値は、基礎値の 7.2 ± 0.7 μ U/l からラコール 450kcal 負荷後 30 分で 106.3 ± 15.2 μ U/l と頂値を示し、以後は漸減し、120 分後には 49.1 ± 9.5 μ U/l まで低下した。血漿グレリン濃度は、基礎値の 15.6 ± 2.5 fmol/ml からラコール 450kcal 負荷後 30 分から有意に低下し、60 分後に 7.3 ± 0.7 fmol/ml と最低値を示し、以後は漸増し、120 分後には 10.9 ± 1.4 fmol/ml まで回復した。血漿デスアシルグレリン濃度は、基礎値の 115.7 ± 13.7 fmol/ml からラコール 450kcal 負荷後 30 分から有意に低下し、90 分後に 58.9 ± 5.9 fmol/ml と最低値を示し、120 分後には 63.1 ± 7.6 fmol/ml まで回復した。一方、血漿オベスタチン濃度は、基礎値の 2.8 ± 0.5 fmol/ml からラコール 450kcal 負荷後 120 分後まで有意な変化は認めなかった。また、当研究室でラットを用いた検討では、オベスタチンを末梢投与または脳室内投与しても摂食量に変化を認めなかった。以上の結果から、オベスタチンには急性の摂食抑制作用はないと考えられた。

(3) BMI < 21 で慢性呼吸器疾患の患者 11 名 (男性 7 名、 71.1 ± 2.0 歳、BMI: 16.9 ± 0.3 、気管支拡張症 5 名、慢性閉塞性肺疾患 4 名、陳旧性肺結核 2 名) を対象とした。ラコール 400ml を 9-12 時に内服した日としない日で各食前と食後 2 時間、23 時に採血を行い、血漿グレリン濃度とデスアシルグレリン濃度を測定した。ラコール内服日では非内服日に比べて夕食前、夕食後 2 時間、23 時、翌朝前の血漿グレリン濃度が有意に高値であったが、デスアシルグレリン濃度には差を認めなかった。2 週間連続してラコール 400ml/日 を継続した後では、血漿グレリン濃度基礎値が開始前に比べて有意に高値 ($8.0 \rightarrow 13.1$ fmol/ml) となり、visual analogue scale で評価した食欲も有意に増加し、BMI は $16.9 \rightarrow 17.3$ と有意に増加した。また、血清アルブ

ミンは $3.7 \pm 0.4 \rightarrow 3.9 \pm 0.4$ g/dl、プレアルブミンは $16.0 \pm 5.9 \rightarrow 18.4 \pm 3.2$ mg/dl、トランスフェリンは $206 \pm 36 \rightarrow 254 \pm 58$ mg/dl、IGF-I は $75 \pm 16 \rightarrow 94 \pm 19$ ng/ml にいずれも有意に増加した。以上より、オクタン酸を多く含有するラコールの摂取は内因性のグレリン増加を促し、やせを伴う慢性呼吸器疾患に対する栄養療法として有用であると考えられた。

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 1 件)

- ① Mondal MS, Toshinai K, Ueno H, Koshinaka K, Nakazato M: Characterization of obestatin in rat and human stomach and plasma, and its lack of acute effect on feeding behavior in rodents. Journal of Endocrinology, 198, 339-346 (2008), 査読有

[学会発表] (計 2 件)

- ① 上野浩晶、椎屋智美、水田雅也、山口秀樹、中里雅光: ヒトオベスタチンのエネルギー・糖代謝と摂食における作用の検討. 第 28 回日本肥満学会総会 2007.10.20 (東京)
- ② Ueno H, Shiiya T, Kodama T, Matsumoto N, Ashitani J, Nakazato M: Oral administration of omega-3 polyunsaturated acids improves cachectic status in patients with chronic respiratory disease through the elevation of plasma ghrelin levels. 17th International Symposium on Regulatory Peptides, January 25-28, 2009, Santa Barbara, California, 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]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野 浩晶 (UENO HIROAKI)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：00381062

(2) 研究分担者

伊達 紫 (DATE YUKARI)

宮崎大学・フロンティア科学実験総合センター・教授

研究者番号：70381100

(3) 連携研究者