

機関番号：16101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700749

研究課題名 (和文) 栄養状態が生殖系に与える影響とそのメカニズムの解明

研究課題名 (英文) Effects of nutritional status on reproduction

研究代表者

堤 理恵 (TSUTSUMI RIE)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：80510172

研究成果の概要 (和文)：

本研究では、栄養シグナルである代謝系と、ゴナドトロピン (LH、FSH) 生殖ホルモンとの関わりとそのメカニズムを、細胞のエネルギー状態のセンサーである mTOR、kisspeptin に焦点をあてて解析を行い、これらが key regulator として機能していることを明らかにした。マウスに高脂肪食を摂取させるとレプチン濃度が上昇し脳内の mTOR の活性は低下し、ゴナドトロピン分泌は低下した。規則的に絶食させたマウスでは、同じくゴナドトロピン分泌は低下し生殖能力が低下した。さらにこのマウスに対しロイシンを付加したところ、ゴナドトロピン濃度は有意に改善された。

研究成果の概要 (英文)：

In this study, I demonstrated that the role of mTOR, which is well-known as a energy sensor of cells, and kisspeptin, is activated in downstream of mTOR, as a key modulator in the metabolic signaling and reproductive signaling. High-fat diet induced an increase of leptin level and decrease of mTOR activity and gonadotropin secretion, whereas fasting also decreased gonadotropin level and reproductive ability despite of leptin level was decreased.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2010 年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2011 年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,100,000 | 930,000 | 4,030,000 |

研究分野：食生活学

科研費の分科・細目：総合領域・生活科学・食生活学

キーワード：ゴナドトロピン、mTOR、kisspeptin、レプチン

1. 研究開始当初の背景

食生活が生殖系に与える影響は大きく、肥満男性の生殖機能低下や肥満女性の流産リスクの上昇、低栄養患者の性周期異常などはよく知られている。しかし、その具体的な因子やメカニズムについては明らかでない。

2. 研究の目的

栄養シグナルである代謝系とゴナドトロピン生殖ホルモンとの関わりについて、細胞のエネルギー状態のセンサーである mTOR、その下流にある kisspeptin に焦点を当てて検討する。

3. 研究の方法

実験 1：培養細胞にて栄養刺激による mTOR

及び kisspeptin の変化を観察した。

実験 2: コントロールマウスと mTOR ノックアウトマウスを用いてゴナドトロピン分泌や生殖器サイズへの影響を検討した。

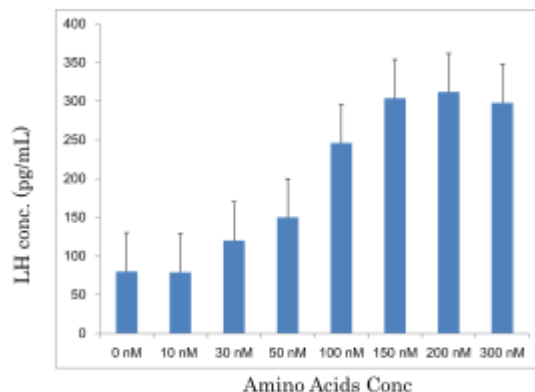
実験 3: マウスに高脂肪食と高エネルギー食を与え、レプチン濃度、体脂肪量など体組成とゴナドトロピン分泌、生殖器サイズを比較検討した。

実験 4: コントロールマウス、mTOR、ノックアウトマウス、db/db 糖尿病マウスに高タンパク質食を加え、レプチン濃度とゴナドトロピン分泌など生殖機能に与える影響を検討した。

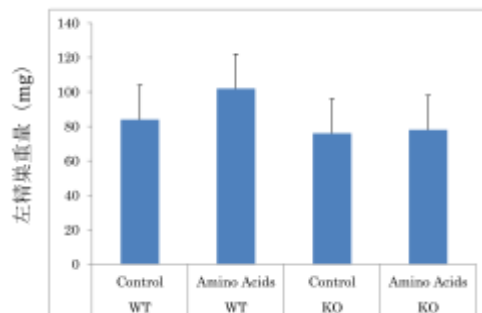
実験 5: マウスに栄養制限を行い、低栄養下のゴナドトロピン分泌、生殖機能を解析した。

4. 研究成果

実験 1: 視床下部細胞 GT1-7 細胞を L-ロイシンで刺激し、これをウェスタンブロットで確認すると mTOR 及び Kisspeptin の活性化が認められた。また mTOR をターゲットとした siRNA を用いることでこの活性化は抑制された。さらに LH 及び FSH を測定するために下垂体前葉細胞 LβT2 細胞を異なるアミノ酸濃度の培養液を用いて培養した。ロイシン濃度 30μM より LH 及び FSH の増加が認められ、200μM まで濃度依存的に増加した。



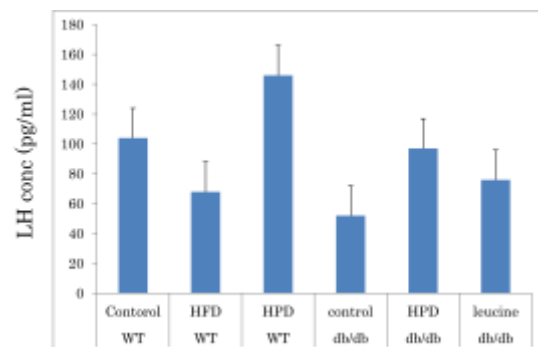
実験 2: ノーマルマウスに L-ロイシンを投与し、尾静脈より採血を行い血清 LH 及び FSH を測定した。L-ロイシン濃度を 200mg/kg としたときに LH 及び FSH の濃度は有意に増加した。また mTOR ノックアウトマウスにロイシンを投与すると、その増加は抑制された。さらに、ロイシンを投与したマウスの精巣は増大傾向にあることが確認された。



実験 3: 高脂肪食を 1 カ月与えたマウスとコントロール食を与えたマウスを比較すると、脳の mTOR-kisspeptin シグナルが抑制されていた。また、高脂肪食群で LH、FSH が有意に低値を示した。

実験 4: 実験 3 の実験を高タンパク質食を与えた群を加えて行くと、コントロール食に比べて高タンパク質食群で LH、FSH は増加した。さらに db/db 糖尿病モデルマウスでは LH、FSH が低下することが知られているが、高タンパク質食あるいはロイシン付加食を与えることで、LH 及び FSH レベルが改善した。

実験 5: コントロールマウス及び糖尿病マウスを 1 週間 24 時間周期で摂食・絶食をコントロールし、絶食時の LH 及び FSH を評価した。高脂肪食と異なりレプチン濃度は低下したが、一方で LH 及び FSH は高脂肪食よりも有意に低下した。



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 7 件)

1. **Tsutsumi R**, Tsutsumi YM, Horikawa YT, Takehisa Y, Hosaka T, Nakaya Y. Decline in anthropometric evaluation predicts a poor prognosis in geriatric patients. *Asia Pac J Clin Nutr* 21, 44-51, 2012 査読有 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22374559>
2. Tsutsumi YM, **Tsutsumi R**, Mawatari K, Nakaya Y, Kinoshita M, Tanaka K, Oshita S. Compound K, a metabolite of

- ginsenosides, induces cardiac protection mediated nitric oxide via Akt/PI3K pathway. *Life Sci* 88, 725-729; 2011 査読有
DOI 10.1016/j.ljs.2011.02.011
3. Suresh PS, Rajan T, **Tsutsumi R**. New Targets for old hormones: inhibins clinical role revised. *Endocrine Journal* 58, 223-35; 2011 査読有
DOI 10.1507.endocrj.k11E-098
 4. Mistry D, **Tsutsumi R**, Fernandez M, Sharma S, Cardenas SA, Lawson MA, Webster NJ. GnRH pulse sensitivity of follicle-stimulating hormone-beta gene is mediated by differential expression of positive regulatory activator protein 1 factors and corepressors SKIL and TGIF 1. *Mol Endocrinol* 25, 1387-403; 2011 査読有
DOI 10.1210/me.2011-0032
 5. Hirose K, Tsutsumi YM, **Tsutsumi R**, Shono M, Katayama E, Kinoshita M, Tanaka K, Oshita S. Role of the O-linked be-ta-N-acetylglucosamine in the cardioprotection induced by isoflurane. 115(5), 955-962, 2011 査読有
DOI 10.1097/ALN.0b-13e-31822fcede
 6. Hosaka T, Nii Y, Tomotake H, Ito T, Tamanaha A, Yamasaka Y, Sasaga S, Edazawa K, **Tsutsumi R**, Shuto E, Okahisa N, Iwata S, Sakai T. Extracts of common buckwheat bran prevent sucrose digestion. *J Nutr Sci Vitaminol* in press 2011 査読有
DOI 10.3177/jnsv.57.441
7. **Rie Tsutsumi**, Devendra Mistry and Nicholas J.G. Webster. Signaling responses to pulsatile gonadotropin-releasing hormone in LbetaT2 cells. *Journal of Biological Chemistry* 285, 20262-20272; 2010 査読有 DOI 10.1074/jbc.M110.132662
- [和文論文発表] (計 3 件)
1. **堤理恵**、西口千佳、長江哲夫、前川ひろみ、中井敦子、谷本幸子、三村誠二、長江浩朗、栢下淳子、中屋豊 整形外科術後における栄養摂取状況の観察研究 日本静脈経腸栄養学会機関誌 Vol27 No3 929-934 2012
 2. **堤理恵**、武川茉莉子、山口想太郎、堤保夫、中屋豊 早期集中治療におけるペプタメン AF の有効性の検討 臨床栄養 in press 2012
 3. **堤理恵** 管理栄養士からみた術前経口炭水化物負荷の効果 臨床栄養 2012
- [学会発表] (計 4 件)
1. **堤理恵** 重症患者におけるエネルギー及びタンパク質平衡 第 27 回日本静脈経腸栄養学会 2012. 2. 24 神戸国際展示場 (神戸市)
 2. **堤理恵** 周術期における術前炭水化物補液の効果の検討 第 26 回日本静脈経腸栄養学会 2012. 2. 18 名古屋国際会議場 (名古屋市)
 3. **Rie Tsutsumi**, Role of amino acids on cardiomyocyte *Experimental Biology* 2010, 2011.4.25. Anaheim Convention Center (Anaheim. CA. USA)
 4. **Rie Tsutsumi**, Effect of amino acids on reproductive function *Experimental Biology* 2011, 2011.4.9. Washington D.C. Convention Center (Washington D.C. USA)
- [図書] (計 0 件)
- [産業財産権]

○出願状況（計2件）

名称：スタチチンを有効成分とするメタボリック症候群改善剤
発明者：堤 理恵
権利者：同上
種類：特許
番号：2012-005
出願年月日：2012年2月27日
国内外の別：国内

名称：スタチチンを有効成分とするエネルギー代謝改善剤
発明者：堤 理恵
権利者：同上
種類：特許
番号：2012-004
出願年月日：2012年2月27日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堤 理恵 (TSUTSUMI RIE)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教
研究者番号：80510172