

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 25 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350912

研究課題名(和文) 抗肥満ペプチドと運動療法における糖・脂質代謝のメタボローム解析

研究課題名(英文) Metabolic analysis of lipid metabolism in the anorexigenic peptide and exercise

研究代表者

竹ノ谷 文子 (Takenoya, Fumiko)

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：30234412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ガラニン様ペプチドは抗肥満作用をもつペプチドである。このペプチドと運動を用い、肥満症解消の為に新規の運動療法を試みた。GALP点鼻投与で肥満モデルマウスでの有意な摂食量および体重減少、さらに肝臓における脂肪酸分解亢進を確認した。GALP投与と運動の併用は、単独で行うよりも、より高いエネルギー代謝亢進が得られた。抗肥満ペプチドと運動の併用は肥満解消の為に新たな新規運動療法になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Galanin-like peptide has an anti-obesity effect. We try obese cancellation using this peptide and exercise. Treatment of GALP with ob/ob and DIO mice decreased food intake. Infusion of anorexigenic peptide and exercise are hoped that it becomes new exercise therapy of obesity people.

研究分野：運動生理学

キーワード：ペプチド 糖・脂質代謝 運動療法 メタボローム解析 抗肥満作用 マウス

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

重度の肥満症やメタボリックシンドロームの患者は、従来の食事療法や運動療法では十分な効果が見られず、リバウンドや長期抗肥満治療の継続困難などで、途中断念する者も少なくない。このようなことから、効率的でかつ効果的な肥満治療や運動療法の開発が急務である。

近年に報告された、ガラニン様ペプチド (GALP) やニューペプチド W (NPW) は GPCR の内因性のリガンドとしてブタの視床下部より同定された生理活性ペプチドである。これまで、GALP および NPW の投与実験により、これらのペプチドは、エネルギー代謝亢進や摂食および体重抑制作用をもつことを明らかにされている。このような背景から、特に GALP は肥満克服の為の臨床応用が期待されるペプチドとして注目されている。

一方、我々はこれらのペプチドをヒトに有効活用するために、まず、マウスを用いて、非侵襲的な点鼻投与法を開発し、その有効性を検討したところ、脳室内や腹腔投与よりも抗肥満効果が高いことを検証してきた。さらにマウスを用いた実験により、抗肥満作用を中枢および抹消レベルから解析してきた。しかしながら、これらのペプチドの抗肥満作用が明らかになったものの、作用機序の詳細については不明な点が多い。

2. 研究の目的

我々は、これらの抗肥満ペプチドと運動の併用により、さらに効果の高い肥満解消を狙うための新規の運動療法を開発することを目的としている。そこで、抗肥満ペプチドの点鼻投与と運動の併用による肥満解消の有効性を中枢および末梢レベルで明らかにすることが必要である。しかしながら、現時点において、その実体解明はまだ不十分であり、特に遺伝子およびタンパクレベルでの解析が必要となる。そこで我々は、抗肥満投与と運動による抗肥満作用を検証し、その作用機序を明らかにするため、メタボローム解析等を用いて検証することにした。

3. 研究の方法

(1) 抗肥満を發揮させるペプチド点鼻投与の確立条件検討を行う (コントロール、および肥満モデルマウスに GALP を単回投与、または連続投与し、その効果を評価する)。

(2) GALP 投与による呼吸代謝の影響を調べる (脳室内にカニューレを留置したマウスを回転車付き呼吸代謝ケージに馴化させ、自発運動群 (回転車あり) と非運動群 (回転車なし) を作成し、生食または GALP (2nmol) を脳室内投与しする。酸素消費量、発熱量及び呼吸商を 24 時間経時的に記録し、投与 24 時間後に体重、摂食量及び飲水量を測定する。

(2) GALP 投与と運動の併用による抗肥満効果を解析す。(コントロール、GALP 投与、及び GALP 投与 + 回転かご運動群お 3 群に分けて、抗肥満効果を生化学的に検証する。

(3) GALP 投与による肥満関連遺伝子の変化を検証する。GALP を投与し、メタボローム解析を行う。

(4) GALP 点鼻と運動による新規運動療法の可能性を提案する。

4. 研究成果

(1) 抗肥満を發揮させるペプチド点鼻投与の確立条件検討

野生型マウスおよび肥満モデルマウスに GALP 点鼻投与を単回投与したところ、肥満モデルマウスの特に生活習慣病モデルマウス (DIO) マウスに対して、有意な体重および摂食量の減少がみられた。さらに、連続投与 (14 日間) においても体重および摂食量の減少がより顕著であった。これらの結果から GALP の点鼻投与は野生型マウスよりも肥満モデルマウスにおいて、抗肥満作用を、發揮することが明らかになった。

(2) GALP 投与による呼吸代謝の影響

非運動群では、GALP 投与により、投与直後に脂質代謝が、暗期中に糖代謝が亢進した。自発運動群では、GALP 投与により、運動量に対応せず酸素消費量及び発熱量が上昇し、体重が減少した。自発運動群では、GALP 群は vehicle 群に比し、肝臓、骨格筋の代謝関連酵素の PEPCK 及び SREBP-1 などの mRNA 発現量が減少した。自発運動をしているマウスに GALP を投与することにより、より基礎代謝が亢進したとた。その原因として、GALP 投与による糖新生の抑制及び脂肪酸合成の抑制の関与が示唆された。

(3) GALP 投与による肥満関連遺伝子の変化を検証

GALP 投与では基礎代謝の亢進が得られることが明らかになり、その原因として、また、GALP は交感神経系を介して肝臓と白色脂肪組織での脂質代謝を亢進することが確認した。また、マウスの GALP 投与により、呼吸商の低下を確認し、脂質代謝亢進が示唆された。さらにメタボローム解析および遺伝子発現を解析したところ、肝臓の脂肪酸合成系の遺伝子発現が減少し、脂肪酸化系の遺伝子発現が亢進したことを確認した。

(4) 以上の実験結果から、抗肥満ペプチドである GALP 点鼻投与と軽度の運動の併用は、両者を併用することで、より効果が發揮されることから、重度肥満者の体重および摂食量の減少が期待できる新規運動療法の一つの提案できる。

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) Hirako S., Wada N, Kageyama H., Takenoya F., Kim H, Iizuka Y, Matsumoto A, Okabe M, Shioda S. Effect of intranasal administration of galanin-like peptide (GALP) on body weight and hepatic lipids accumulation in mice with diet-induced obesity. *Curr Pharm Des.* (2017) (in press)
- 2) Hirako S., Wada N, Kageyama H., Takenoya F., Izumida Y, Kim H, Iizuka Y, Matsumoto A, Okabe M, Kimura A, Suzuki M, Yamanaka S, Shioda S. Autonomic nervous system-mediated effects of galanin-like peptide on lipid metabolism in liver and adipose tissue. *Sci Rep.* 19;6:21481. (2016)
- 3) Kageyama H., Shiba K, Hirako S., Wada N, Yamanaka S, Nogi Y, Takenoya F., Nonaka N, Hirano T, Inoue S, Shioda S. Anti-obesity effect of intranasal administration of galanin-like peptide (GALP) in obese mice. *Sci Rep.* 21; 6:28200. (2016)
- 4) Ardianto C, Yonemochi N, Yamamoto S, Yang L, Takenoya F., Shioda S., Nagase H, Ikeda H, Kamei J. Opioid systems in the lateral hypothalamus regulate feeding behavior through orexin and GABA neurons. *Neuroscience.* 21;320:183-93. (2016)
- 5) Hirako S., Wakayama Y, Kim H, Iizuka Y, Matsumoto A, Wada N, Kimura A, Okabe M, Sakagami J, Suzuki M, Takenoya F., Shioda S. The relationship between aquaglyceroporin expression and development of fatty liver in diet-induced obesity and ob/ob mice. 10(6):710-718. *Obes Res Clin Pract.* (2016)
- 6) Wada N, Yamanaka S, Shibato J, Rakwal R, Hirako S., Iizuka Y, Kim H, Matsumoto A, Kimura A, Takenoya F., Yasunaga G, Shioda S.: Behavioral and omics analyses study on potential involvement of dipeptide balenine through supplementation in diet of senescence-accelerated mouse prone 8. 9;10:38-50. *Genom Data.* (2016)
- 7) Hirako S., Wada N, Kageyama H., Takenoya F., Inoue S, Shioda S. Autonomic nervous system-mediated effects of GALP on energy metabolism. 148(1):23-7. *Nihon Yakurigaku Zasshi.* (2016)
- 8) Shioda S., Takenoya F., Wada N, Hirabayashi T, Seki T, Nakamachi T.

Pleiotropic and retinoprotective functions of PACAP. 91(4):313-24. *Anat Sci Int.* (2016)

- 9) Takenoya F., Wang L, Kageyama H., Hirako S., Wada N, Hashimoto H, Ueta Y, Sakagami J, Nonaka N, Shioda S. Neuropeptide W-Induced Hypophagia is Mediated Through Corticotropin-Releasing Hormone-Containing Neurons. *J Mol Neurosci.* 56, 789-798 (2015)
- 10) Hirako S., Wakayama Y, Kim H, Iizuka Y, Matsumoto A, Wada N, Kimura A, Okabe M, Sakagami J, Suzuki M, Takenoya F., Shioda S. The relationship between aquaglyceroporin expression and development of fatty liver in diet-induced obesity and ob/ob mice. *Obes Res Clin Pract.* S1871-403X (15) 00200-8. (2015)
- 11) Hirako S., Takenoya F., Kageyama H., Wada N, Okabe M, Shioda S. Galanin-like peptide prevent by control of food intake and energy metabolism. *Pharm Anal Acta.* 5, 1-5 (2014)
- 12) Wada N, Hirako S., Takenoya F., Kageyama H., Okabe M, Shioda S. Leptin and its receptors. *J Chem Neuroanat.* 61-62,191-199 (2014)

〔学会発表〕(計 26 件)

- 1) 山本憲志、和田匡史、竹ノ谷文子、橋本眞明. カーフ・レイズ後の人工炭酸泉部分浴による下腿部筋硬度の変化. 人工炭酸泉研究会, 2016年12月12日, 東京
- 2) Yamamoto N, Hashimoto M, Wada T, Takenoya F. ARTIFICIAL CO₂-WATER BATHING IMPROVED MUSCLE FLEXIBILITY AND HARDNESS IN MALE COLLEGE STUDENTS. The 21st Annual Congress of the ECSS, 2016年6月6-9日, Vienna, Austria
- 3) Wada T, Yamamoto N, Wada M, Shintaku Y, Iwahara F, Takenoya F. A POSSIBILITY TO PROMOTE THE PHYSICAL RECOVERY BY SLEEP AFTER CO₂-WATER BATHING IN ATHLETES The 21st Annual Congress of the ECSS, 2016年6月6-9日, Vienna, Austria
- 4) Hirako S., Kageyama H., Takenoya F., Wada N, Okabe M, Shioda S. Intranasal administration of GALP suppressed the lipid accumulation in the liver. 13th International Congress on Obesity, 2016年5月1-4日, Canada
- 5) Hirako S., Kageyama H., Takenoya F., Wada N, Okabe M, Shioda S. Intranasal administration of GALP suppressed the lipid accumulation in the liver. 13th

- International Congress on Obesity. 2016年5月13-15日 Canada.
- 6) 平子哲史、和田巨弘、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二. ガラニン様ペプチド (GALP)による末梢組織でのエネルギー代謝調節作用およびそのメカニズムの解明. 第70回日本栄養・食糧学会大会、2016年5月13-15日、神戸
 - 7) Shioda S, Takeo F, Hori M, Shibato J, Nakamachi T, Rakwal R. Neuroprotective effect of PACAP on spinal cord injury through CRMP2 protein. 12th international symposium on VIP/PACAP and related peptides. 2015年9月21-26日、カッパドキア、トルコ
 - 8) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、太田英司、和田巨弘、塩田清二. ガラニン様ペプチドの末梢組織におけるエネルギー代謝制御機構の解明. 2015年5月15-16日、東京、未来科学館
 - 9) Hirako S, Kageyama H, Takaenoya F, Wada N, Okabe M, Shioda S. Effect of intranasal GALP on obesity and hepatic lipid metabolism in obese mice. 12th Asian Congress of Nutritio, 2015年5月14-18日、Yohama, Japan
 - 10) Takaenoya F, Hirako S, Wada N, Kageyama H, Shioda S. Neuropeptide W-induced hypophagia is mediated through corticotropin-releasing hormone-containing Neurons. 第20回日本解剖学会総会・全国学術集会(招待講演)2015年3月21-23日、神戸、国際会議場
 - 11) Hirako S, Takaenoya F, Wada N, Kageyama H, Shioda S. Effect of GALP on lipid metabolism in liver. 第20回日本解剖学会総会・全国学術集会(招待講演)2015年3月21-23日、神戸、国際会議場
 - 12) Shioda S, Hirako S, Wada N, Takeo F. Autonomic nervous system-mediated effects of GALP on energy metabolism in liver. 第88回日本薬理学会(招待講演), 2015年3月18-20日、愛知、名古屋国際会議場
 - 13) Ikeda H, Yonemochi N, Yang L, Yamamoto S, Ikegami M, Takeo F, Shioda S, Nagase S, Kamei J. Opioid receptors in the lateral hypothalamus play a critical role in the regulation of feeding behavior. The 38th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2015年1月28-31日 koube, Japan
 - 14) Takeo F, Kageyama H, Hirako S, Wada N, Watanabe J, Ryushi T, Shioda S. Galanin-like peptide (galp) facilitates thermogenesis via synthesis of prostaglandin e2 by astrocytes. Galanin-like peptide (galp) facilitates thermogenesis via synthesis of prostaglandin e2 by astrocytes. 44th Annual meeting Society for Neuroscience, 2014年11月15-19日, Washington, DC
 - 15) Hirako S, Kageyama H, Takaenoya F, Wada N, Kimura A, Okabe M, Shioda S. Galanin-like peptide (GALP) have the anti-obesity effect and control of energy metabolism via the sympathetic nervous system, 44th Annual meeting Society for Neuroscience, 2014年11月15-19日, Washington, DC
 - 16) Hirako S, Kim HJ, Iizuka Y, Matsumoto A, Wada N, Takeo F, Okabe M, Suzuki M, Tokoro H, Shioda S. Hepatic lipid accumulation is ameliorated by a whale oil feeding in obese KK mice. 3rd International Conference on Nutraceutical and Cosmetic Sciences. 2014年11月11-12日, Tokyo, Japan
 - 17) Hirako S, Kageyama H, Takaenoya F, Wada N, Kimura A, Okabe M, Shioda S. Effect of GALP on lipid metabolism and body weight regulation. Obesity week 2014, 2014年11月2-7日, Boston, MA
 - 18) 平子哲史、竹ノ谷文子、影山晴秋、和田巨弘、木村愛、岡部まい、塩田清二. 摂食調節ペプチド GALP 点鼻投与による脂質代謝改善メカニズムの解明, 第35回日本肥満学会、2014年10月24-25日、宮崎、シーガイアコンベンションセンター
 - 19) Takaenoya F, Kageyama H, Hirako S, Wada N, Shioda S. Effect of Galanin-like peptide (GALP) and spontaneous exercise on energy metabolism in mouse. 20th International Symposium on Regulatory Peptides, 2014年9月7-10日, Kyoto, Japan
 - 20) Hirako S, Kageyama H, Takaenoya F, Wada N, Kimura A, Okabe M, Shioda S. Energy metabolism regulation by intracerebroventricular and intranasal administration of GALP, 20th International Symposium on Regulatory Peptides, 2014年9月7-10日, Kyoto, Japan
 - 21) Wada N, Kageyama H, Ohsaka T, Hirako S, Watanabe J, Sakagami J, Takaenoya F, Shioda S. Galanin-like peptide (GALP) stimulates thermogenesis through glial cell in brain. 20th International Symposium on Regulatory Peptides, 2014年9月7-10日, Kyoto, Japan
 - 22) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、太田英司、和田巨弘、塩田清二. ガラニン様ペプチド(GALP)による肥満症・脂質異常症の予防効果及びその機、第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会、2014年7月10-7日、東京、京王プラザホテル
 - 23) Takeo F, Kageyama H, Hirako S, Ota E, Wada N, Yamamoto N, Ryushi T, Shioda S. Interactive effect galanin-like peptide (GALP) and spontaneous exercise on energy metabolism. 19th Annual Congress of the ECSS, 2014年6月2-5日, Amsterdam, Netherland
 - 24) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、太田英司、和田巨弘、塩田清二. ガラニン様

- ペプチド(GALP)によるメタボリックシンドロームの予防・治療法の研究、第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日-6月1日、北海道酪農学園大学
- 25) 和田巨弘、**竹ノ谷文子**、影山晴秋、平子哲史、太田英司、金高有里、塩田清二、神経ペプチドWの摂食抑制作用はマウス自発運動により消失する、第68回日本栄養・食糧学会大会、2014年5月31日-6月1日、北海道酪農学園大学
- 26) Hirako S, Kageyama H, **Takenoya F**, Ota E, Wada N, Shioda S. Galanin-like peptide (GALP) have anti-obesity effect via the activation of hepatic lipid metabolism. The 2014 obesity summit. 2014年4月1日-3日, London, UK

〔図書〕(計 6 件)

- 1) **竹ノ谷文子**、神保大樹、塩田清二 (分担)「アンチエイジング医学の基礎と臨床」**メジカカルビュー社** P321-322 (2015)
- 2) **竹ノ谷文子**、塩田清二(生命科学の未来を考える *Biophilia* 芳香療法(アロマセラピーとヘルスケア) Vol.5. P39-45 **アドスリー社** (2016)
- 3) **竹ノ谷文子**、塩田清二 (分担執筆)地球とつながる暮らしのデザイン「森林浴セラピーの新しい可能性」P 39-44 **木楽社** (2016)
- 4) **竹ノ谷文子**(編集)、塩田清二(編集)、山本憲志、平子哲史 他. スポーツアナトミー〜人体解剖生理学〜,**丸善出版社** (2014)
- 5) **Takenoya F**, Kageyama H, Hirako S, Wada N, Shioda S. Journal of Chemical Neuroanatomy **ELSEVIER** Neuropeptide W(NPW) P191-199 (2014)
- 6) **Takenoya F**, Kageyama H, Hirako S, Ota E, Wada N, Shioda S, Neuropeptide GPCRs in neuroendocrinology. **Frontiers**. 825 (2014)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

竹ノ谷 文子 (Takenoya Fumiko)
星薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号: 30234412

(2)研究分担者

亀井 淳三 (Kamei Junzo)

星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 40161236

塩田 清二(Shioda Seiji)
星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 80102375

平子 哲史 (Hirako Satoshi)
人間総合科学大学・人間科学部・助教
研究者番号: 80102375

(3)連携研究者

影山 晴秋 (Kageyama Haruaki)
桐生大学・医療保健学部・准教授
研究者番号: 00433839