

令和 3 年 6 月 29 日現在

機関番号：32310

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K00933

研究課題名(和文) 摂食調節ペプチドGALPの脳-消化器系のクロストーク

研究課題名(英文) Elucidation of galanin-like peptide-induced interaction between brain and gastrointestinal system.

研究代表者

影山 晴秋 (Kageyama, Haruaki)

桐生大学・医療保健学部・教授

研究者番号：00433839

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラットでは短期の摂食亢進作用をもつガラニン様ペプチド(GALP)の新しい生理作用を明らかにするために消化管ホルモンの分泌の変動を検討した。消化管やメタボリックシンドロームに関連する白色脂肪細胞においてGALP遺伝子の発現を解析した。さらに栄養状態の変化によってGALPを産生している末梢器官におけるGALP遺伝子の発現をしらべた。

GALPをラットの脳室内に投与した。中枢からのGALPの情報は血漿ガストリン、グルカゴン様ペプチド-1、インスリンの分泌に作用しないこと、絶食はGALPの血中レベルを上昇させるが、その一部に白色脂肪細胞が関与していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ガラニン様ペプチド(GALP)は、末梢器官に対して交感神経を活性化し、エネルギー代謝を亢進することが報告されている。消化管ホルモンおよびインスリンは、副交感神経によって分泌されるホルモンであり、インスリンは脂肪を蓄積させるホルモンである。今回、消化管ホルモンやインスリンの分泌増加にGALPは関与していなかったことから、GALPは交感神経を活性化し、エネルギー消費を促進する可能性がある。従って肥満の改善に繋がること期待される。

研究成果の概要(英文)：To discover a new physiological action of galanin-like peptide (GALP), which has a transient overfeeding in rat, changes in gastrointestinal hormones secretion were investigated. Gene expression of GALP was analyzed in the gastrointestinal tract and white adipose tissues. Moreover, we examined effect of changes in nutritional status on the expression of the GALP gene in the peripheral organs.

GALP's information from the central nervous system unchanged the secretion of plasma gastrin, glucagon-like peptide-1, and insulin after an intracerebroventricular injection of GALP. Fasting raised blood levels of GALP. White adipocytes-derived GALP may contribute to an increase in plasma GALP.

研究分野：解剖生理学

キーワード：摂食調節ペプチド インスリン

## 1. 研究開始当初の背景

GALP は視床下部弓状核で産生され、脳内で摂食抑制およびエネルギー代謝亢進作用をもつ神経ペプチドである。脳内における GALP の摂食調節やエネルギー代謝作用は国内外で注目されている。申請者は、これまでに GALP による摂食調節のニューロンネットワークの解析を行い、神経相関や摂食調節機構を同定している。さらに GALP を抗肥満薬として創薬展開するために、侵襲がほとんどない点鼻投与を食事誘導性肥満マウスに行い、摂食抑制と体重減少効果があることを報告している。GALP は循環血流中にも存在し、その血中濃度は栄養状態(摂食や絶食)によって影響を受けることが報告されている。しかも興味深いことに GALP の血中濃度は主に胃で産生される摂食亢進ペプチドのグレリンと同程度である。平成 21 から 23 年度の基盤研究(C)(代表者:影山)では、白色脂肪組織から GALP がホルモンとして分泌され、中枢神経系に作用した後、交感神経系を刺激していることを明らかとした。最近、脳室内投与した GALP による交感神経の興奮は、肝臓の脂質代謝を亢進させ、体重減少に関わることを報告している。つまり末梢 GALP による新規の視床下部-末梢臓器間のクロストークがあることを示唆している。

摂食調節は、脳内のメカニズム、消化管からの情報と消化管への情報が、統御されることによって行われている。そこで、当該研究では脳内に対して消化管の遠心性と求心性の刺激を明らかにすることによって、GALP の消化管に対する新しい消化管に対する作用を明らかにすることができ、さらに将来、抗肥満薬以外の適用を考える上で、重要な知見となりうると考える。また末梢からの中樞への摂食抑制機構を解明することである。

## 2. 研究の目的

GALP の消化管機能に対する作用と、その作用による摂食調節機構を明らかにすることである。

### (1) GALP による消化機能の効果

GALP 脳室内投与を行った後、血中消化管ホルモン濃度や血中インスリン濃度を定量し消化機能について検討を行った。

### (2) 消化管、消化管付属臓器および白色脂肪細胞における mRNA の発現

消化管、肝臓、膵臓および白色脂肪組織(皮下、鼠蹊部、腸管膜、精巣上体周囲)における GALP mRNA 発現を定性的に評価した。

### (3) 栄養状態による GALP の発現量の変化

栄養状態に応じた GALP の変動を末梢器官内の mRNA レベルで検討することと、血漿中 GALP の動態を解析した。

## 3. 研究の方法

### (1) GALP による消化機能の効果

Sprague-Dawley 系(SD)ラットに GALP (1 nmol/ $\mu$ L)または生理食塩水を 3  $\mu$ L を脳室内投与し、4 時間後に採血を行った。血漿インスリン(森永生科学研究所)、血漿ガストリン(BML)、血漿グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)(免疫生物研究所)の濃度は、ELISA 法を用いて定量した。

## (2) 消化管、消化管付属器および白色脂肪細胞における mRNA の発現

SD ラットの消化管（食道、胃、空腸、回腸、結腸）消化管付属臓器（肝臓、膵臓）、褐色脂肪組織、皮下脂肪組織（皮下、鼠径部）および内臓脂肪（腸管膜、精巣上体周囲）から全 RNA を抽出し、Real-Time PCR で GALP mRNA を定性的に評価した。

## (3) 栄養状態による GALP の発現量の変化

SD ラットを自由摂食群、24 時間絶食群および 72 時間絶食群の 3 群に群分けした。それぞれの時間が経過した段階で採血した。24 時間絶食群の白色脂肪組織（皮下、精巣上体周囲）を摘出し、全 RNA を調製後 Real-Time PCR で GALP mRNA の発現を定量した。

## 4. 研究成果

GALP 投与群と生理食塩水投与群の間では、血漿インスリン、ガストリン

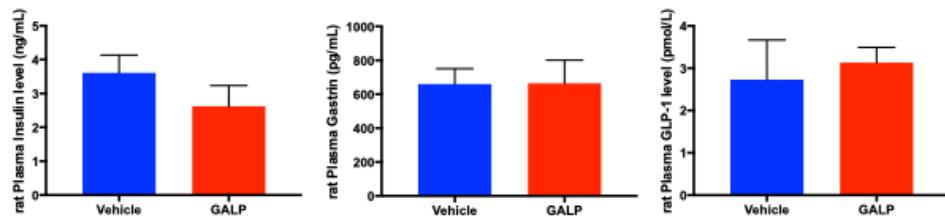


図1 生理食塩水投与群 (Vehicle)、GALP投与群 (GALP) における血中消化管ホルモンおよびインスリン濃度の変動  
Mean±SEで示す。

および GLP-1 の濃度に有意な差は認められなかった (図 1)。

Real-time PCR の結果 (図 2) より、GALP は空腸でわずかに発現していたが、食道、胃、回腸、結腸では、極めて発現量が低かった。肝臓及び膵臓では発現が認められなかった。皮下脂肪組織で発現が認められたが、褐色脂肪組織と内臓脂肪組織 (精巣上体周囲の白色脂肪組織) では発現が極めて低かった。

絶食は、精巣上体周囲の白色脂肪組織で GALP mRNA の増加傾向を示した (図 3)。また 24 時間絶食群では自由摂食群に比し、血漿 GALP 濃度を有意に増加させた。しかし 72 時間では、群間に有意な差はなかった (図 4)。

マウスにおいて、GALP は交感神経を活性化し、肝臓の脂質代謝を亢進することが報告されている。今回の結果は、傍証ではあるが、副交感

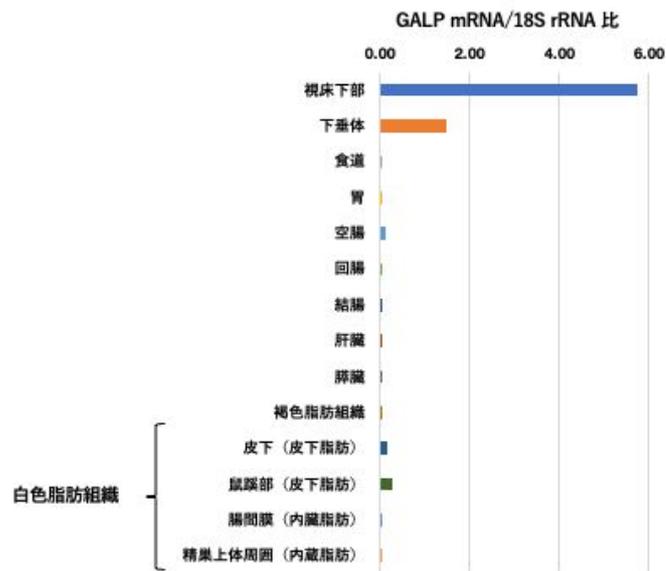


図2 消化管、消化管付属器、脂肪組織における GALP 遺伝子発現パターン

神経系によって分泌促進するインスリンおよびガストリン分泌は変化しなかったことから、GALP は交感神経を介して消化機能を低下させ、さらには消費エネルギーを増加させる可能性を示唆した。すなわち、GALP の摂食抑制は、交感神経系の働きによるものと推測した。また絶食は、交感神経を興奮させ、アドレナリンやグルカゴンの分泌を増加し、エネルギー消費

を高める。  
24 時間の絶食は、対照群と比較して血漿 GALP 濃度は増加したことから、

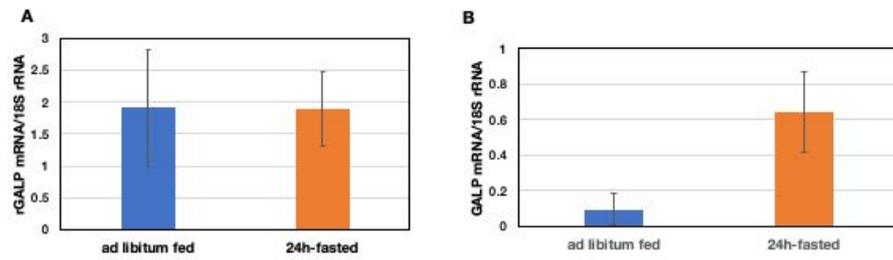


図3 24時間絶食による皮下および内臓脂肪組織におけるGALP遺伝子発現  
A、皮下脂肪組織。B、精巣上体周囲脂肪細胞（内臓脂肪）。自由摂食群（ad libitum fed）と24時間絶食群（24-h fasted）において有意な差を認めなかった。Mean±SEで示す。

末梢器官からの GALP 分泌に交感神経系の活動が関与していると考えられた。消化管においては、GALP の遺伝子発現が見られなかったことから、絶食時の血漿 GALP 濃度の増加に関与は少ない。また今回は有意な差を認められなかったが、内臓脂肪からの GALP 分泌が、血漿 GALP 濃度上昇に弱いながら担っていると考えられた。当該研究より、交感神経の興奮によって末梢器官の GALP mRNA の発現上昇が起き、血中での GALP の濃度上昇が、脳に摂食あるいはエネルギー代謝の情報を伝えている可能性が示された。ラットにおける GALP の摂食に対する効果は、短時間の摂食増加の後、24 時間にわたる摂食抑制が報告されていることから、GALP の摂食抑制に交感神経の活性化が深く関わっていることが示唆された。国内外において摂食ペプチドによる脳と末梢器官との連関を解明することは、摂食調節を理解できることのみならず、抗肥満薬の創薬の基盤研究としても重要である。

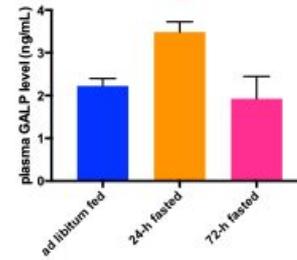


図4 絶食による血中GALP濃度の変動  
Mean±SEで表す。自由摂食群（ad libitum fed）、24時間絶食群（24-h fasted）および72時間絶食群（72-h fasted）を比較した。One-way ANOVA後にDunnnett検定を行った。自由摂食群を対照群とした。  
\*, p<0.05 vs. 自由摂食群。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takenoya F, Hirako S, Wada N, Nonaka N, Hirabayashi T, Kageyama H, Shioda S	4. 巻 24
2. 論文標題 Regulation of Feeding Behavior and Energy Metabolism by Galanin-like Peptide (GALP): A Novel Strategy to Fight Against Obesity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Pharm Des.	6. 最初と最後の頁 3926-3933
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1381612824666181106111623.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto S, Sato T, Tateyama M, Kageyama H, Maejima Y, Nakata M, Hirako S, Matsuo T, Kyaw S, Shiuchi T, Toda C, Sedbazar U, Saito K, Asgar NF, Zhang B, Yokota S, Kobayashi K, Fougelle F, Ferre P, Nakazato M, Masuzaki H, Shioda S, Yada T, Kahn BB, Minokoshi Y	4. 巻 22
2. 論文標題 Activation of AMPK-Regulated CRH Neurons in the PVH is Sufficient and Necessary to Induce Dietary Preference for Carbohydrate over Fa	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 706-721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2017.11.102.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平子哲史、和田亘弘、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二
2. 発表標題 神経ペプチドGALPの点鼻投与による抗肥満作用の検討
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平子 哲史、和田 亘弘、影山 晴秋、竹ノ谷 文子、塩田 清二
2. 発表標題 神経ペプチドGALPによる末梢組織での糖・脂質代謝への影響
3. 学会等名 第72回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平子 哲史、和田 亘弘、影山 晴秋、竹ノ谷 文子、塩田 清二
2. 発表標題 抗肥満ペプチドGALPによる末梢組織でのエネルギー代謝調節機構の解明
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平子 哲史、和田 亘弘、影山 晴秋、竹ノ谷 文子、塩田 清二
2. 発表標題 ガラニン様ペプチド(GALP)が脂肪酸・コレステロール代謝に与える影響
3. 学会等名 第71回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------