

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07809

研究課題名（和文）腸管のオレオイルエタノールアミドによる食欲抑制機構と生活習慣病予防に関する研究

研究課題名（英文）Study of intestinal oleoylethanolamide on regulation of satiety and prevention of lifestyle-related disease

研究代表者

五十嵐 美樹 (Igarashi, Miki)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・特任准教授

研究者番号：70340172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、腸管でオレイン酸から生合成される食後満足感誘導物質といわれるオレオイルエタノールアミド（OEA）に注目し、その生成経路や作用機序を解明するとともに、どのようなメカニズムでOEAの生合成が調節できるかを明らかにすることを目的として研究を行い、生活習慣病の予防に役立つ情報を得ようとした。結果として、(1)腸管OEAの主な生合成経路を特定し、さらに(2)食事のオレイン酸の量が腸管のOEA量を変動し摂食量に影響を与えることや、(3)肥満によってバランスが崩れる胆汁酸やインスリンが腸管のOEAシグナルに関与していることを見出した。これらの結果は新しい予防方法の開発の一助となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、食事脂質やエネルギー摂取のインバランスによって食後満足感誘導物質であるOEAの生合成が減少するということを見出した。食後満足感が得られなければ、更なる摂食が起こるため過食となる。本研究から得られた結果と合わせて考えると、質の良い食事脂質や程よいエネルギー摂取を心がけることで、OEAの生合成を促して食後満足感を誘導することで過剰なエネルギー摂取が予防できる可能性がある。肥満をはじめとする生活習慣病予防の一助となる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the biosynthetic pathway and regulation mechanism of intestinal oleoylethanolamide (OEA), a satiety factor. As the results, we found (1) the major pathway of intestinal OEA synthesis using in vitro system. In addition, we revealed that (2) the importance of dietary oleic acid, and (3) the involvement of bile acids, such as deoxycholic acid, and insulin signal on intestinal OEA synthesis using mice.

研究分野：栄養学

キーワード：オレオイルエタノールアミド 腸管 肥満 食欲

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腸管が食事脂質を感知することで生合成されるシグナリング物質であるオレオイルエタノールアミド(OEA)は短期的な食欲調節、食後の満足感を誘導することで摂食調節を行うことが知られている重要な脂質メディエーターである。肥満では腸管の正常な生理機能が損なわれているとの報告があり、これまでの研究で肥満や高インスリン血症の場合に食事に伴った腸管のOEAの生合成が観察されないことを明らかにした。しかしながら、OEAの腸管での主な生合成経路とその生合成の調節がどのように行われているのかは明らかではなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、不明であった腸管のOEAシグナルの生合成経路とその調節システムを明らかにすることを目標として次の試験を行った。

- (1) いくつかのOEAの生合成経路が明らかになっているが、腸管のOEAを主に生合成する経路を特定する。
- (2) 食事由来のオレイン酸が腸管のOEAの前駆体であること、一方で肥満の腸管でOEA量の低下が起きることがすでに知られていることから、本研究ではOEAの生合成を調節する因子として、①食事オレイン酸量、②胆汁酸、③インスリンに着目して、OEAの生合成調節と摂食行動への影響を調べる。

### 3. 研究の方法

- (1) OEAの生合成経路はいくつか報告があるが、本研究ではN-アシルホスファチジルエタノールアミン水解ホスホリパーゼD型酵素(NAPE-PLD)に着目して、ヒト結腸癌由来Caco-2細胞株(小腸吸収上皮様細胞に分化することが知られている細胞株)を用いてNAPE-PLDの欠損株を作成した。また、細胞膜に発現している脂肪酸トランスポーターであるFAT/CD36が前駆体であるオレイン酸の取り込みに関与しているとの報告があるため、その阻害剤(Sulfo-N-succinimidyl Oleate, SSO)を使用してFATの関与を細胞レベルで調べた。
- (2) 腸管で生合成されるOEAで摂食行動がどのように変化するか調べるため、正常マウスと肥満マウスの腸管に装着したカテーテルから栄養素を注入してOEAの生合成を調べるとともに、その後の摂食行動を調べた。
- (3) 食事由来のオレイン酸がOEAの前駆体であることが知られているため、オレイン酸含量の異なる餌をマウスに摂取させて腸管のOEAの生合成と摂食行動を観察した。
- (4) Caco-2細胞株を用いてインスリンレセプター(INSR)欠損株を作成してOEA量の定量を行うとともに生化学的な検証を行った。また、ストレプトゾトシン投与による糖尿病モデルマウスの腸管のOEAの定量とRNAシーケンス解析を行った。
- (5) デオキシコール酸を含む餌をマウスに与えることで胆汁酸バランスを変化させたマウスの腸管のOEAの定量と摂食行動を観察した。

### 4. 研究成果

- (1) **NAPE-PLDが主要酵素である可能性**  
NAPE-PLDを欠損したCaco-2株では、欠損していないCaco-2株と比べてOEA量が低値を示した。また欠損していないCaco-2ではSSOで処理することで細胞内のOEA量が欠損株と同程度までOEAの量が低下した。この結果は、腸管の吸収上皮細胞に発現するFATを介して吸収されたオレイン酸がNAPE-PLDによってOEAへと転換されることを示唆する。
- (2) **OEAシグナルと腸管の栄養素感知能力と摂食行動**  
高脂肪食あるいは通常食を短期間摂取させて腸管のOEAシグナルを抑制したマウスの十二指腸に栄養素を直接投与した後の1時間の摂餌量を観察した。通常食を与えた対照群では、脂質または糖質の投与に反応して摂餌量の低下が観察された。一方で、高脂肪食を与えたマウスでは、脂質投与に対する摂餌量低下は通常食の場合と変わらず観察されたが、糖質投与後の摂餌量の低下は観察されなくなった。この結果は、高脂肪食摂取により腸管の糖質に対する感知能力が低下したことを示唆する。
- (3) **食事オレイン酸の重要性**  
食事由来のオレイン酸が腸管のOEAの前駆体であることが知られている。そこで、低オレイン酸食をマウスに2週間摂取させたところ、オレイン酸含有食に比べて腸管のOEAの低下が観察された。低オレイン酸食群において自由摂食時の摂餌量の増加が観察された。この低オレイン酸食による摂餌量増加は、試験開始一日目でも観察された。剖検の結果、白色脂肪組織の増加が確認できた。さらに、血漿中のリポタンパク質の解析を行ったところ、低オレイン酸食負荷では血漿中のカイロマイクロサイズのリポタンパク質が増加することがわかった。低オレイン酸食負荷による脂質の吸収の低下と糞便への排泄増加が懸念されたが、2群間の有意な差は観察されなかった。そこで、15週間の長期負荷を行ったが、目立った体重増加は観察されなかった。以上の結果は、食事オレイン酸がOEAを介して摂食を調節すること、さらにはリポタンパク質の生合成を介して脂質の吸収を調節している可能

性のあることを示唆する。

(4) **インスリンシグナルの関連性**

ヒト結腸癌由来培養細胞株 Caco-2 を用いて INSR の欠損株を作成して、腸管におけるインスリンの OEA シグナルや栄養素の吸収への影響を調べた。作成した INSR 欠損株の mRNA シークエンスの解析結果から、糖質のトランスポーターやアポたんぱく質の遺伝子の発現が増加していることが分かった。さらに、糖質の基底膜側への移行が増加することを確認できた。また、OEA の生合成に関与する遺伝子の発現や細胞内への脂質の蓄積量の変動した。INSR-KO Caco-2 の RNA シークエンスを行い、そのデータの Pathway 解析の結果特異的な変化を見出した。さらに、ストレプトゾトシン処理マウスと高脂肪食負荷マウスの腸管の RNA シークエンスを行い、3つのデータセットで共通して変動する遺伝子を特定することができた。また、いずれのマウスの腸管でも OEA 量の変動していた。以上の結果は、インスリンシグナルが腸管の OEA の生合成に関与している可能性を示す。

(5) **胆汁酸インバランスの影響**：二次胆汁酸である DCA は、In vitro の試験ではあるが、OEA の生合成に関わる NAPE-PLD の阻害をすることが知られている。そこで、0.05% DCA 食を一週間負荷して腸管の OEA を測定したところ、腸管の OEA の低下が観察された。しかしながら、摂餌量と体重への影響は観察されなかった。また、DCA 負荷で盲腸重量の有意な低下が確認できた。肥満で増加することが知られる DCA がマウスの腸管で OEA の生合成を低下させることを本研究にて動物試験で確認することに初めて成功した。今後体重への影響が観察できるよう長期負荷を行うことと、盲腸重量低下の原因を調べる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miki Igarashi, Kazuhide Watanabe, Tsuyoshi Tsuduki, Ikuo Kimura, Naoto Kubota	4. 巻 33
2. 論文標題 NAPE-PLD controls OEA synthesis and fat absorption by regulating lipoprotein synthesis in an in vitro model of intestinal epithelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 3167 ~ 3179
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201801408R	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Keisuke Yoshikawa, Daniele Piomelli
2. 発表標題 Impaired production of an intestinal satiety factor OEA by imbalanced consumption of fat and carbohydrate
3. 学会等名 International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Keisuke Yoshikawa, Tsuyoshi Tsuduki
2. 発表標題 Disruption of intestinal OEA synthesis by imbalanced consumption of fat and carbohydrate affects feeding behavior
3. 学会等名 keystone symposia (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Keisuke Yoshikawa, Tsuyoshi Tsuduki, Daniele Piomelli
2. 発表標題 Impaired production of an intestinal satiety factor OEA by imbalanced consumption of fat and carbohydrate
3. 学会等名 ISSFAL2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kensuke Iwasa, Keisuke Yoshikawa, Tsuyoshi Tsuduki, Ikuo Kimura
2. 発表標題 Dietary oleic acid modulates feeding behavior by controlling OEA response.
3. 学会等名 Neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Igarashi, Kazuhide Watanabe, Tsuyoshi Tsuduki, Ikuo Kimura
2. 発表標題 N-acyl-phosphatidylethanolamine-specific phospholipase D regulates oleoylethanolamide and lipoprotein synthesis in an in vitro model of intestinal epithelial cells
3. 学会等名 60th -International Conference on the Bioscience of Lipids (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Igarashi
2. 発表標題 Importance of intestinal OEA signaling on lipid absorption and feeding behavior
3. 学会等名 International Conference on Food factors 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Igarashi
2. 発表標題 Effects of dietary oleic acid on jejunal OEA response and feeding behavior
3. 学会等名 Fatty Acids in Cell Signaling 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----