

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06309

研究課題名(和文) スンクスを用いた摂食調節－消化管運動機能軸の比較内分泌学的解析

研究課題名(英文) Comparative endocrinological analysis of the gastrointestinal motility-feeding axis in Suncus

研究代表者

坂田 一郎 (SAKATA, ICHIRO)

埼玉大学・理工学研究科・教授

研究者番号：80610831

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：小型哺乳動物であるスンクスを用いて、消化管ホルモンによる消化管運動と摂食行動への影響とその作用経路を明らかにすることを目的に研究を行った。胃運動を刺激するモチリンアゴニストの慢性投与は摂食量と体重を増加させなかったが、グレリンの慢性投与は明期での摂食量をわずかに増加させた。一方、グレリンアンタゴニストの長期投与はスンクスの体重に影響を与えなかった。行動解析の結果、オープンフィールドテストではグレリン投与によって探索行動が増加したが、高架式十字迷路による抗不安作用が見られず、グレリンの行動に及ぼす影響はスンクスとげっ歯類では異なることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

摂食調節機構の解明には摂食行動調節と消化管運動の両者の詳細な解析が可能な小型哺乳実験動物での検討が必要であると考え、消化管運動研究モデルとして確立された小型哺乳動物の食虫目スンクスを用いて研究を行った結果、モチリンやグレリンによる作用はげっ歯類とは異なることが示唆された。これらの知見は、ヒトへのトランスレーショナル研究での脳腸相関(摂食-消化管機能軸)に関連する種々の生理機能(グルコース代謝、嘔吐反応、腸内細菌層との関連)の理解にはモデル動物の選択が重要であることを示しており、基礎研究としての意義が高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the effects of gastrointestinal hormones on gastrointestinal motility and feeding behavior and their pathways of action in the small mammal, Suncus murinus. Chronic administration of a motilin agonist, which stimulates gastric motility, did not increase food intake and body weight, but chronic administration of ghrelin slightly increased food intake in the light period. On the other hand, long-term administration of ghrelin antagonist did not affect the body weight of suncus. Behavioral analysis showed that ghrelin administration increased exploratory behaviors in the open field test, but the anxiolytic effects in elevated plus maze were not observed, indicating that the effects of ghrelin on behavior were different between suncus and rodents.

研究分野：比較内分泌学

キーワード：スンクス 消化管運動 消化管ホルモン 摂食行動 モチリン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1990年代のレプチン及びグレリンの発見以降、間脳視床下部を中心とした homeostatic な摂食行動調節メカニズムの解明が進んだ。また、近年では中脳腹側被蓋野-側坐核の hedonic な報酬系摂食、そして脳幹制御による摂食調節機構の研究が進展している。特に、遺伝子改変マウスを用いた研究は、時期-細胞特異的ターゲット因子の解析を可能とし、摂食調節の神経ネットワークとその制御機構の解析を急速に進めた。一方、当該分野の研究のほとんどは、げっ歯類であるマウスを用いて行われており、その他の動物種での知見は極端に限定的である。マウスは飼育の容易さ、ゲノム情報の整備及び実験手技の充実から、哺乳類の中で最も広く使用される動物である。しかし、マウスの摂食行動、代謝機構、嘔吐反応そして消化管蠕動運動などは他の哺乳動物から大きく異なっているため、マウスのみで摂食-消化管機能生理軸を統合的に理解することは困難であった。加えて、消化管蠕動運動などの腸管機能と摂食行動との機能連関に関する研究は、マウス含めどの動物種でもほとんど進んでいないのが現状であり、当該分野の理解と発展のためには腸管機能との関連をより詳細に解析することが求められていた。

2. 研究の目的

進化的に哺乳動物の祖先と考えられている小型哺乳動物であるスunksを用いて、末梢由来の生理活性ホルモンの摂食行動への影響とその作用経路を明らかにすること、さらに、消化管運動と摂食行動との機能連関を調べることで哺乳類の摂食行動の生物学的意義とその普遍的メカニズムは何かを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、ヒトを含む多くの哺乳動物と消化管構造と運動様式が同じである食虫目スunksを用いて、末梢ホルモンによる摂食調節に対する作用点や脳内神経回路、そしてホルモン誘導性消化管運動と摂食行動を測定することに加え、GONAD法によって世界初となる遺伝子改変スunksの作製を試みた。

- (1) グレリン及びモチリンの急性及びalzet浸透圧ポンプを用いた慢性末梢投与を行い、摂食と体重に及ぼす影響を検討した。
- (2) スunksにおけるオープンフィールドテスト及び高架式十字迷路の実験系を確立し、グレリンによる行動に関して検討した。
- (3) ホルモン投与後にc-fos免疫組織化学を行い、脳内作用点ホルモンと神経ネットワークの関係を検討した。
- (4) Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery system (GONAD法)を用いて遺伝子改変スunksを作製する。Crispr/Cas9試薬を受精卵(1.5~2細胞期)に直接エレクトロポレーション法で導入し、モチリンKO、グレリンKOスunksの作製を試みた。

4. 研究成果

消化管ホルモンであるモチリンとグレリンの慢性投与による摂食行動の変化について検討を行った。モチリンアゴニスト(エリスロマイシン)の慢性投与は摂食量と体重を増加させなかった。グレリンの慢性投与は、体重を変化させなかったが、明期での摂食量はコントロール群に比べてわずかに増加していた。スunksにグレリンアンタゴニストの[D-Lys3]-GHRP6(DLS)を充填した浸透圧ポンプを皮下に埋め込み14日間の皮下投与を行った。DLSを長期投与すると暗期及び24時間の摂食量は減少したが、DLSの長期投与はスunksの体重に影響を与えなかった。

さらに、ホルモン投与による行動を検討するために、スックスを用いたオープンフィールド試験と高架式十字迷路の実験系の確立を行った。オープンフィールドテストの適当な測定時間を検討した結果、スックスは30分の測定により時間に伴う自発運動量の減少が見られた。また、時間に伴う自発運動量の減少は雌スックスに比べ雄スックスでより顕著であった。スックスにグレリンを皮下投与すると自発運動量及び装置中央部への探索行動が増加し、DLSを皮下投与すると自発運動量及び装置中央部への探索行動が減少する傾向が見られた。グレリンの不安様行動に与える影響を検討するために、スックスにジアゼパムの皮下投与を行い、高架式十字迷路の有用性を調べた結果、オープンアームへの滞在時間や侵入回数の割合の増加が見られ、抗不安作用が確認できた。次にグレリンを皮下投与したスックスを用いて高架式十字迷路を実施したが、オープンアームへの滞在時間や侵入回数の割合に変化は見られなかった。スックス脳内でのグレリン受容体 (GHSR) とモチリン受容体 (GPR38) の局在を検討した結果、GHSR mRNAは視床下部弓状核、腹内側核、室傍核、海馬で発現が見られ、GPR38 mRNAは延髄孤束核、弓状核、室傍核で発現していたが、延髄最後野で高発現していた。また、スックスモチリンを静脈内に投与すると延髄最後野でc-fos発現が増加していた。さらに、グレリン、モチリン及びそれら受容体のノックアウトスックスを作製するために、マウスで報告された輸卵管直接エレクトロポレーション法 (GONAD法) をスックスに適用するための条件検討を行い、蛍光ラベルしたRNPが実際にスックス受精卵に導入できることを確認したが。遺伝子KOスックスの産仔を得ることはできなかった。

本研究により、スックスではモチリンとグレリンの長期投与は24時間の摂食量と体重に影響を与えないことが明らかとなった。また、グレリンの投与によって、オープンフィールドテストで装置中央部への探索行動が増加したが、高架式十字迷路による抗不安作用は見られなかったことから、スックスとげっ歯類ではグレリンによる行動に与える影響が異なることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10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 Al-Saffar Ahmad, Takemi Shota, Saeed Hiwa K., Sakata Ichiro, Sakai Takafumi	4. 巻 40-41
2. 論文標題 Utility of animal gastrointestinal motility and transit models in functional gastrointestinal disorders	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Best Practice & Research Clinical Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 101633 ~ 101633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpg.2019.101633	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 該当する
1. 著者名 Zhang Shuangyi, Okuhara Yuji, Iijima Mio, Takemi Shota, Sakata Ichiro, Kaiya Hiroyuki, Teraoka Hiroki, Kitazawa Takio	4. 巻 285
2. 論文標題 Identification of pheasant ghrelin and motilin and their actions on contractility of the isolated gastrointestinal tract	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 113294 ~ 113294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygcen.2019.113294	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 Aizawa Sayaka, Gu Tingting, Kaminoda Arisa, Fujioka Ryuya, Ojima Fumiya, Sakata Ichiro, Sakai Takafumi, Ogoshi Maho, Takahashi Sumio, Takeuchi Sakae	4. 巻 496
2. 論文標題 Adenosine stimulates neuromedin U mRNA expression in the rat pars tuberalis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Endocrinology	6. 最初と最後の頁 110518 ~ 110518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mce.2019.110518	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 Takakura Natsumi, Takemi Shota, Kumaki Shunsuke, Matsumoto Mio, Sakai Takafumi, Iwatsuki Ken, Sakata Ichiro	4. 巻 44
2. 論文標題 Generation and characterization of Suncus murinus intestinal organoid: a useful tool for studying motilin secretion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Biology International	6. 最初と最後の頁 62 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbin.11201	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 Takemi Shota, Nishio Ryo, Taguchi Hayato, Ojima Shiomi, Matsumoto Mio, Sakai Takafumi, Sakata Ichiro	4. 巻 100
2. 論文標題 Molecular cloning and analysis of Suncus murinus group IIA secretary phospholipase A2 expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental & Comparative Immunology	6. 最初と最後の頁 103427 ~ 103427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dci.2019.103427	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 Noda Mami, Uemura Yuya, Yoshii Yusuke, Horita Taichi, Takemi Shota, Sakata Ichiro, Sakai Takafumi	4. 巻 97
2. 論文標題 Circulating messenger for neuroprotection induced by molecular hydrogen	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Canadian Journal of Physiology and Pharmacology	6. 最初と最後の頁 909 ~ 915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/cjpp-2019-0098	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 Ikenoya C, Takemi S, Kaminoda A, Aizawa S, Ojima S, Gong Z, Chacrabati R, Kondo D, Wada R, Tanaka T, Tsuda S, Sakai T, Sakata I.	4. 巻 15
2. 論文標題 -Oxidation in ghrelin-producing cells is important for ghrelin acyl-modification.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 9176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-27458-2.	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 -

1. 著者名 Kitazawa T, Harada R, Sakata I, Sakai T, Kaiya H.	4. 巻 274
2. 論文標題 A verification study of gastrointestinal motility-stimulating action of guinea-pig motilin using isolated gastrointestinal strips from rabbits and guinea-pigs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gen Comp Endocrinol.	6. 最初と最後の頁 106-112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygcen.2019.01.010.	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 Takemi S, Ojima S, Tanaka T, Sakai T, Sakata I.	4. 巻 24
2. 論文標題 Identification and characterization of an antimicrobial peptide, lysozyme, from Suncus murinus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Tissue Res.	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-019-02991-2.	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 Horita T, Koyama K, Takemi S, Tanaka T, Sakai T, Sakata I.	4. 巻 54
2. 論文標題 GABAergic and glutamatergic neurons in the brain regulate phase II of migrating motor contractions in the Suncus murinus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Smooth Muscle Res	6. 最初と最後の頁 91-99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1540/jsmr.54.91.	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14件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 小林優輝、坂田一郎、小川仁、柴田近、坂井貴文
2. 発表標題 スunksを用いた大腸運動の基盤的研究
3. 学会等名 第61回日本平滑筋学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本実桜、飯島漣、竹見翔大、坂井貴文、坂田一郎
2. 発表標題 アカハライモリのモチリン遺伝子の同定
3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会及びシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯島 澗、松本実桜、坂井貴文、坂田一郎
2. 発表標題 ネッタイツメガエルにおけるニューロメジンU遺伝子の同定と組織分布
3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会及びシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田口隼人、坂井貴文、坂田一郎
2. 発表標題 スンクスにおける消化管運動に対する生姜の作用検討
3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会及びシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋直央、埴重、藤原研、坂井貴文、坂田一郎
2. 発表標題 スンクス下垂体前葉主部細胞におけるホルモン産生細胞の形態学的研究
3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会及びシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹見祥大、坂田一郎、坂井貴文
2. 発表標題 食虫目スンクス (<i>Suncus murinus</i>)を用いた消化管運動研究の展開
3. 学会等名 第61回日本平滑筋学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹見 祥大、尾島汐海、中原千尋、日浦伸宏、坂田 一郎、坂井 貴文
2. 発表標題 Liraglutideによる胃運動/胃排出/適応性弛緩に対する影響の検討
3. 学会等名 第60回 日本平滑筋学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 N. Takakura, D. Kondo, S. Takemi, R.Wada, T. Sakai, I. Sakata
2. 発表標題 Corticotropin-releasing factor receptor signaling in the brain stimulates ghrelin secretion in mice.
3. 学会等名 International Congress of Neuroendocrinology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Takemi, C. Ikenoya, Z. Gong, D. Kondo, T. Tanaka, T. Sakai, I. Sakata
2. 発表標題 Identification of the origin of medium chain fatty acid in ghrelin
3. 学会等名 International Congress of Neuroendocrinology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 I. Sakata, S. Takemi, K. Koyama, A. Dudani, T. Sakai
2. 発表標題 The mechanism of motilin-induced strong gastric contraction in the Suncus murinus: Involvement of the ghrelin-mediated GABAergic pathway
3. 学会等名 International Congress of Neuroendocrinology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村理紗、近藤大介、竹見祥大、坂井貴文、坂田一郎
2. 発表標題 1 アドレナリン受容体を介したグレリンによる血糖維持機構の検討
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会及びシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西尾凌、坂田一郎、坂井貴文
2. 発表標題 出生後スunks消化管におけるモチリン及びGLP-1産生細胞の検討
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会及びシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂田一郎
2. 発表標題 食虫目スunksを用いた消化管運動研究
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂田一郎
2. 発表標題 Hormonal and neuronal regulatory mechanisms of gastrointestinal motility in the <i>Suncus murinus</i>
3. 学会等名 9th FAOPS 2019（第96回日本生理学会）（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

埼玉大学理学部生体制御学科細胞制御学研究室
<http://cell.seitai.saitama-u.ac.jp/>

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
研究分担者	坂井 貴文 (SAKAI TAKAFUMI) (40235114)	埼玉大学・理工学研究科・教授 (12401)	

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
---------	---------