

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月7日現在

機関番号：34512

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590156

研究課題名（和文） 消化器疾患の摂食異常における摂食調節ペプチドの意義

研究課題名（英文） Significance of feeding regulation of peptides in eating abnormality in digestive diseases

## 研究代表者

水野 成人（MIZUNO SHIGETO）

神戸薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：80368349

研究成果の概要（和文）：ヘリコバクター・ピロリは日本人の半数以上に感染し、慢性胃炎や消化性潰瘍、さらには胃がんの原因とされている細菌である。我々は、ヘリコバクター・ピロリ感染と、各種の摂食調節因子、代謝調節因子との関連について臨床的研究を行った。その結果、ヘリコバクター・ピロリ感染は、摂食調節ペプチドであるグレリンや、代謝に関連するホルモンであるアディポネクチンの血中濃度の変動を介して、患者の栄養状態に影響を与えている可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：*Helicobacter pylori* is a bacterium that has infected more than half of the Japanese population and is associated with chronic gastritis, peptic ulcer, and gastric cancer. We conducted a clinical study on the association between *Helicobacter pylori* infection and various feeding and metabolic regulating factors. The result raises the possibility that *Helicobacter pylori* infection affects the host's nutritional status through changes in the plasma levels of ghrelin, which regulates feeding behavior, and adiponectin, which regulates metabolic status.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：消化器疾患、摂食調節ペプチド、ヘリコバクター・ピロリ

## 1. 研究開始当初の背景

摂食調節には、視床下部にある食欲調節中枢が関与することが知られていた。しかし、1994年のレプチンの発見以来、摂食や代謝調節に関わるペプチドの研究が進んだ。レプチンは脂肪組織から分泌されるアディポカインの一種で、脂肪蓄積量の増加につれて分泌が増加し、視床下部の食欲抑制系を介して摂

食を抑えると共にエネルギー消費を増加させる。さらに、1999年に成長ホルモン分泌促進因子受容体（GHS-R）の内因性リガンドとしてグレリンが発見され、強力な食欲促進作用があることが示された。グレリンは胃粘膜および視床下部に存在し、末梢投与で食欲促進やエネルギー消費抑制をきたす唯一の消化管ペプチドであり、迷走神経を介して視床

下部弓状核を刺激し、食欲促進に働くことが分かっている。この他にも、2006年に報告されたネスファチン、グレリンのアシル化に関する酵素 GOAT (Ghrelin

0-Acyltransferase) など、多くの摂食調節に関わるペプチドや酵素が発見され、しかもその多くは消化管に存在している。申請者は、消化器内科医として摂食異常をきたす病態に関わってきたが、臨床的にしばしば遭遇するヘリコバクター・ピロリ感染症や、薬物療法時の有害反応としての食欲低下など、摂食に変調をきたす多くの病態において、これらの摂食調節ペプチドやその活性化酵素などの変動および臨床的意義の解明は十分とは言えない。そこで、代表的な消化器系の病態において、種々の摂食調節ペプチドや修飾する酵素の変動を検討することが、摂食異常の病態解明や治療に向けて重要と考えた。

## 2. 研究の目的

(1) ヘリコバクター・ピロリ (HP) の慢性感染は慢性胃炎をきたし、消化性潰瘍や胃癌の原因となる。HP 除菌成功後に体重増加を認める症例を時に経験し、HP への慢性感染は摂食調節ペプチドに何らかの影響を与えていると考えられる。本研究では HP 感染者において、アシルグレリン、デスアシルグレリン等の血中濃度、GOAT も含めた胃粘膜における発現レベルを測定、除菌療法の成否等の臨床データと合わせて解析し、関連性を解明する。

(2) C 型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法として、PEG インターフェロンとリバビリンの併用療法が行われている。治療期間中には食欲不振や全身倦怠による QOL 低下が多く経験され、治療継続の障害因子となっている。治療の中断は SVR 率の低下に結びつくことから、食欲不振の原因を解明し、予防処置を講じることは臨床的に重要である。本研究では同治療を受ける患者を対象として、治療前・治療中・治療後における臨床情報と摂食調節ペプチド類の変動を経時的に測定する。これらのデータを解析し、摂食障害の原因や予測因子の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 対象患者の臨床情報 (基礎疾患、BMI、食欲、栄養状態の指標となる検査データなど) と臨床検体 (血漿、胃粘膜生検組織) を用いた検討を行う。インフォームドコンセントが得られた患者に対して、空腹時の採血と内視鏡検査時の胃粘膜生検を行い、検体を最適な条件で凍結保存する。除菌前後の検討においては、除菌後の血漿と生検組織も採取する。摂食調節ペプチド (グレリン、デスアシルグレリン等) については、タンパクレベルでの発現を血漿の ELISA 法、mRNA レベルでの

発現を生検組織のリアルタイム RT-PCR で検討する。また、グレリンを活性化 (アシル化) する酵素 GOAT については、生検組織の mRNA 量をリアルタイム RT-PCR で測定する。得られた結果は統計的に解析し、ヘリコバクター感染および除菌治療 (成功・失敗) に関わる摂食調節ペプチド等の変動とその臨床的意義を解明する。

(2) PEG インターフェロンとリバビリンの併用療法が予定されている、C 型慢性肝炎の患者を対象とした臨床研究である。インフォームドコンセントが得られた患者に対して、治療開始前と治療中、治療終了後に対象患者の臨床情報 (ウイルス量とジェノタイプ、肝炎の程度、BMI、食欲スコア、栄養状態の指標となる検査データなど) を収集し、さらに血漿を採取して摂食調節ペプチド (グレリン、デスアシルグレリン等) を ELISA 法にて測定する。これらのデータを解析し、同療法が食欲低下をもたらすメカニズムの解明を目指すと共に、予測因子、予防・治療の可能性についても検討する。

## 4. 研究成果

(1) 社会保険京都病院において、HP 感染の有無別および HP 除菌前後に胃粘膜生検組織、血漿を採取し、神戸薬科大学において検体のアッセイを行った。胃粘膜組織では摂食調節ペプチドであるグレリンおよびその活性化酵素である GOAT の mRNA 発現量を解析した。また、血漿ではグレリン (活性型のアシルグレリン、不活性型のデスアシルグレリン) 濃度を測定した。その結果、HP 陽性者では陰性者に比較してグレリンと GOAT の mRNA 発現が低値であった。血漿においてもアシルグレリン、デスアシルグレリン濃度が陽性者において共に低値を示した。HP 除菌後では胃粘膜中のグレリン mRNA が有意に増加し、GOAT の mRNA は有意差はないものの増加傾向にあった。血漿中のアシルグレリンは増加傾向にあり、デスアシルグレリンは有意に減少した。除菌前後において明らかな BMI の増加は見られなかった。次いで、HP 感染と血中レジスチンおよびビスファチン濃度の関連について検討した。その結果、血中レジスチンおよびビスファチン濃度は HP 感染の有無で有意な差を示さず、HP 除菌前後でも有意な変動を示さなかった。さらに、血中  $\alpha$ -Klotho タンパク濃度と HP 感染の関連についても同様に検討したが、こちらも HP 感染の状態で有意な差を認めなかった。一方、HP 感染とアディポネクチン値の関連を検討したところ、HP 感染の有無でアディポネクチン値には有意な差を認めなかったものの、HP 除菌に成功した患者では、血中総アディポネクチン値および各分画の有意な上昇を認めた。HP 除菌に失敗した患者では、総アディポネクチン値および高分子量アディポネクチン値は

有意に上昇したが、中・低分子量アディポネクチン値は有意に変化しなかった。

(2) 大阪鉄道病院において、C型慢性肝炎に対するIFN治療が摂食に及ぼす影響を検討した。具体的には、IFN治療開始前および開始後2、4、8週の血漿採取を行い、摂食状況や体重の記録と共にアシルおよびデスアシルグレリンの血中濃度を測定したが、中間解析において有意な変動を認めなかった。原因として、外来での採血のため採血時間が一定にできないこと、IFN投与直後の経時的変化が測定できないことなどが挙げられた。期間中にC型慢性肝炎に対する治療ガイドラインの変更などもあり、研究計画の見直しを行うこととした。

#### 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16件)

- ① Ishida T, Nishiumi S, Tanahashi T, Yamasaki A, Yamazaki A, Akashi T, Miki I, Kondo Y, Inoue J, Kawauchi S, Azuma T, Yoshida M, Mizuno S. Linoleoyl ethanolamide reduces lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages and ameliorates 2,4-dinitrofluorobenzene-induced contact dermatitis in mice. *Eur J Pharmacol* 699(1-3): 6-13. 2013 (査読有)
- ② Ando T, Ishikawa T, Takagi T, Imamoto E, Kishimoto E, Okajima A, Uchiyama K, Handa O, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Mizuno S, Asakawa A, Inui A, Yoshikawa T. Impact of Helicobacter pylori Eradication on Circulating Adiponectin in Humans. *Helicobacter* 18(2): 158-64. 2013 (査読有)
- ③ Miki I, Nakamura T, Kuwahara A, Yamamori M, Nishiguchi K, Tamura T, Okuno T, Omatsu H, Mizuno S, Hirai M, Azuma T, Sakaeda T. THRB genetic polymorphisms can predict severe myelotoxicity after definitive chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Med Sci*. 9(9):748-56. 2012 (査読有)
- ④ Ando T, Mizuno S, Ishida T, Kondo Y, Miki I, Yoshida M, Azuma T, Ishikawa T, Takagi T, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Yoshikawa T, Asakawa A, Inui A. Plasma ghrelin isoforms and gastric ghrelin O-acyltransferase expression are influenced by Helicobacter pylori status. *Nutrition*. 28(10):967-72. 2012 (査読有)
- ⑤ Masuda Y, Togo T, Mizuno S, Konishi M, Nanba H. Soluble  $\beta$ -glucan from *Grifola frondosa* induces proliferation and Dectin-1/Syk signaling in resident macrophages via the GM-CSF autocrine pathway. *J Leukoc Biol*. 91(4):547-56. 2012 (査読有)
- ⑥ Mimura M, Masuda A, Nishiumi S, Kawakami K, Fujishima Y, Yoshie T, Mizuno S, Miki I, Ohno H, Hase K, Minamoto T, Azuma T, Yoshida M. AP1B plays an important role in intestinal tumorigenesis with the truncating mutation of an APC gene. *Int J Cancer*. 130(5): 1011-20. 2012 (査読有)
- ⑦ Ishida T, Mizushina Y, Yagi S, Irino Y, Nishiumi S, Miki I, Kondo Y, Mizuno S, Yoshida H, Azuma T, Yoshida M. Inhibitory effects of glycyrrhetic acid on DNA polymerase and inflammatory activities. *Evid Based Complement Alternat Med*. Epub 2011 Jul 14. doi:10.1155/2012/650514 (査読有)
- ⑧ Yamamoto K, Tanaka H, Nishitani Y, Nishiumi S, Miki I, Takenaka M, Nobutani K, Mimura T, Ben Suleiman Y, Mizuno S, Kawai M, Uchiyama I, Yoshida M, Azuma T. Helicobacter suis KB1 derived from pig gastric lymphoid follicles induces the formation of gastric lymphoid follicles in mice through the activation of B cells and CD4 positive cells. *Microbes Infect* 13(7): 697-708. 2011 (査読有)
- ⑨ Chinzei R, Masuda A, Nishiumi S, Nishida M, Onoyama M, Sanuki T, Fujita T, Moritoh S, Itoh T, Kutsumi H, Mizuno S, Azuma T, Yoshida M. Vitamin K3 Attenuates Cerulein-Induced Acute Pancreatitis Through Inhibition of the Autophagic Pathway. *Pancreas* 40(1): 84-94. 2011 (査読有)
- ⑩ Mizuno S, Miki I, Ishida T, Yoshida M, Onoyama M, Azuma T, Habu Y, Inokuchi H, Ozasa K, Miki K, Watanabe Y. Prescreening of a High-Risk Group for Gastric Cancer by Serologically Determined Helicobacter pylori Infection and Atrophic Gastritis. *Dig Dis Sci* 55(11): 3132-7. 2010 (査読有)
- ⑪ Ishida T, Yoshida M, Arita M, Nishitani Y, Nishiumi S, Masuda A, Mizuno S, Takagawa T, Morita Y, Kutsumi H, Inokuchi H, Serhan CN, Blumberg RS, Azuma T. Resolvin E1, an

endogenous lipid mediator derived from eicosapentaenoic acid, prevents dextran sulfate sodium-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 16(1): 87-95. 2010 (査読有)

- ⑫ Kodama N, Mizuno S, Nanba H, Saito N. Potential antitumor activity of a low-molecular-weight protein fraction from *Grifola frondosa* through enhancement of cytokine production. *J Med Food* 13(1): 20-30. 2010 (査読有)
- ⑬ Nishida M, Nishiumi S, Mizushina Y, Fujishima Y, Yamamoto K, Masuda A, Mizuno S, Fujita T, Morita Y, Kutsumi H, Yoshida H, Azuma T, Yoshida M. Monoacetylcurcumin strongly regulates inflammatory responses through inhibition of NF-kappaB activation. *Int J Mol Med* 25(5): 761-7. 2010 (査読有)
- ⑭ Tanaka S, Nishiumi S, Nishida M, Mizushina Y, Kobayashi K, Masuda A, Fujita T, Morita Y, Mizuno S, Kutsumi H, Azuma T, Yoshida M. Vitamin K(3) attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through inhibition of nuclear factor-kappaB activation. *Clin Exp Immunol* 160(2): 283-92. 2010 (査読有)
- ⑮ Kodama N, Mizuno S, Asakawa A, Inui A, Nanba H. Effect of a hot water-soluble extraction from *Grifola frondosa* on the viability of a human monocyte cell line exposed to mitomycin C. *Mycoscience* 51: 134-8. 2010 (査読有)
- ⑯ Nishiumi S, Shinohara M, Ikeda A, Yoshie T, Hatano N, Kakuyama S, Mizuno S, Sanuki T, Kutsumi H, Fukusaki E, Azuma T, Takenawa T, Yoshida M. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for pancreatic cancer. *Metabolomics* 6(4): 518-528. 2010 (査読有)

[学会発表] (計3件)

- ① Ando T, Ishida T, Mitsumoto Y, Imamoto E, Kishimoto E, Kato N, Okajima A, Suzuki T, Uchiyama K, Ishikawa T, Takagi T, Handa O, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Yoshikawa T, Takeuchi M, Mizuno S, Asakawa A, Inui A. EFFECT OF GOAT OF THE STOMACH ON THE ACYLATION OF SERUM GHRELIN ACCORDING TO H. PYLORI STATUS IN HUMANS. The United European Gastroenterology Week (UEGW)

2011. October 24, 2011. Stockholm, Sweden

- ② Ando T, Ishikawa T, Mitsumoto Y, Imamoto E, Kishimoto E, Okajima A, Suzuki T, Mizushima K, Uchiyama K, Handa O, Takagi T, Yagi N, Kokura S, Naito Y, Mizuno S, Asakawa A, Inui A. HELICOBACTER PYLORI ERADICATION INCREASES THE CIRCULATING ADIPONECTIN LEVELS IN HUMANS. The United European Gastroenterology Week (UEGW) 2012. October 22, 2012. Amsterdam, Holland
- ③ 安藤貴志, 水野成人, 乾明夫. 胃内グレリン・GOAT 発現および循環グレリン値に対する H. pylori 感染の影響. 第98回日本消化器病学会総会. 2012年4月19日. 東京

[その他]

ホームページ等

<http://www.kobepharma-u.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

水野 成人 (MIZUNO SHIGETO)

神戸薬科大学・薬学部・教授

研究者番号: 80368349

### (2) 研究分担者

乾 明夫 (INUI AKIO)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・

教授

研究者番号: 80168418

浅川 明弘 (ASAKAWA AKIHIRO)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・

准教授

研究者番号: 10452947

柿原 浩明 (KAKIHARA HIROAKI)

京都大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号: 20351314

### (3) 研究協力者

安藤 貴志 (ANDO TAKASHI)

社会保険京都病院・消化器内科

光本 保英 (MITSUMOTO YASUhide)

社会保険京都病院・消化器内科