

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23658219

研究課題名（和文） オキシトシン受容体を介する下垂体後葉と脂肪・乳腺細胞との新規内分泌調節機構の解明

研究課題名（英文） Analysis of new endocrine regulatory system between posterior pituitary gland and adipose-mammary gland tissues via oxytocin receptor

研究代表者

盧 尚建 (ROH SANGGUN)

東北大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：90322130

研究成果の概要（和文）：本研究では、脂肪細胞分化と脂質蓄積におけるオキシトシンレセプター発現とその役割と、ウシ乳腺上皮細胞におけるオキシトシン受容体の発現量の変化について調査した。1）脂肪細胞分化刺激による OXTR 遺伝子発現の上昇は、オキシトシンによる調節機構が存在する可能性を示唆している。2）乳腺細胞で認められた OXTR 遺伝子発現変化は、Adiponectin と催乳ホルモンによる調節機構が存在する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this study was to investigate 1) the expression of OXTR in adipose tissues and possible role in regulating lipid metabolism, and 2) the expression of OXTR during the differentiation of mammary epithelial cells. These results suggest 1) that up-regulation of OXTR during fat accumulation and adipocyte development may intensify the catabolic effects by oxytocin in adipose tissue to cause lipolysis, 2) OXTR expression was regulated by adiponectin and lactogenic hormones in bovine mammary epithelial cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学

キーワード：代謝・内分泌制御

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織は、エネルギーの貯蔵庫として、また、アディポサイトカインと呼ばれる生理活性物質を分泌する内分泌器官として、エネルギーバランスや摂食の調節など、生体において非常に重要な役割を演じていることが知られている。脂肪細胞は、左図のように前駆脂肪細胞の増殖・分化によるものである。この増殖・分化過程のように、脂肪細胞の増殖のカギを握るのは脂肪細胞の形質を現わす未分化の細胞の生成と増殖・分化である。現在では、脂肪組織における脂肪細胞の過剰蓄積、肥大化により生じる肥満は、2 型糖尿

病など様々な生活習慣病の危険因子として注目されている。さらに、畜産学的には、脂肪組織は枝肉の嗜好性を決定する上で重要な要素であると考えられている。しかしながら、脂肪蓄積の分子機構は未だ多くの不明な点を残しており、その解明は畜産分野のみならず、様々な分野における研究標的として重要視されている。

しかし、近年新たな新たな研究手法による内分泌ホルモンの新規作用が確認されている。本研究ではオキシトシン受容体について下垂体後葉と脂肪・乳腺細胞との新たな内分泌調節ネットワークを調査するものであ

る。

2. 研究の目的

本研究はオキシトシンとオキシトシン受容体の新たな生理学的な作用を探索するものである。平成23年度は脂肪細胞と乳腺細胞の分化におけるオキシトシン受容体の発現量とオキシトシンの生理作用効果を調査する。平成24年度はオキシトシンとオキシトシン受容体ノックアウトマウスにおける脂質代謝異常を調査する。

3. 研究の方法

(1) ウシの皮下脂肪組織から定法により前駆脂肪細胞を含む脈間質細胞 (SV 細胞) を分離した。培養皿に SV 細胞を播き、コンフルエントさせた後、Insulin、Dexamethasone、IBMX を含む分化培地において脂肪細胞へ分化させた。分化前と分化後 3, 6, 9, 12 日目に細胞から RNA を抽出し、オキシトシン受容体と脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量を測定した。

図1. 脂肪細胞分化刺激によるオキシトシン受容体の遺伝子発現量

(2) マウス 3T3-L1 細胞をコンフルエントさせた後、Insulin、Dexamethasone、IBMX を含む分化培地において脂肪細胞へ分化させた。分化前と分化後 3, 6, 9, 12 日目に細胞から RNA を抽出し、オキシトシン受容体と脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量を測定した。

(3) 7週齢と14週齢のマウスから脂肪組織を採取し、RNA を抽出し、オキシトシン受容体と脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量を測定した。

(4) 7週齢マウスに普通食と高脂肪食を7週間給餌し、脂肪組織を採取し、RNA を抽出し、オキシトシン受容体と脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量を測定した。

(5) 16時間絶食したマウスと絶食後に4時間再給餌したマウスの脂肪組織から、RNA を抽出し、オキシトシン受容体と脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量を測定した。

(6) 10日間分化した脂肪細胞において24時間オキシトシンを投与した後、NA を抽出し、オキシトシン受容体と脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量を測定した。

(7) ウシ乳腺上皮細胞は、妊娠102日目のホルスタイン種雌由来の細胞から限界希釈

法を用いてクローニングした細胞株を使用した。培養皿に細胞を播き、コンフルエントまで培養し、分化刺激を行った。三日間の分化刺激後、分化培地 (D)、Adiponectin (Ad)、D+Ad を24時間添加し、RNA を抽出して OXR の発現量を測定した。また、BMEC に催乳ホルモン (Insulin、Prolactin、Dexamethasone) と GH を添加し、24時間後に RNA を抽出し、OXR 遺伝子の発現量を測定した。

4. 研究成果

(1) ウシ脂肪細胞分化過程におけるオキシトシン受容体の発現量の変化

ウシ脂肪細胞分化過程において、オキシトシン受容体は分化前と比較し、分化後に有意に上昇した (図1)。

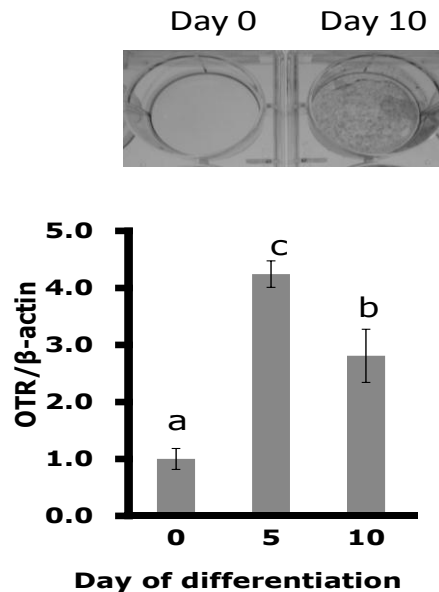


図1. 脂肪細胞分化刺激によるオキシトシン受容体の発現量の変化

(2) マウス脂肪細胞分化過程におけるオキシトシン受容体の発現量の変化

マウス脂肪細胞分化過程において、オキシトシン受容体の遺伝子発現量は、分化後に有意に上昇した。他の脂肪細胞分化関連遺伝子の発現量も上昇した。

(3) 加齢によるオキシトシン受容体の発現量の変化

オキシトシン受容体はマウスの各組織での発現量を比較したところ、脂肪組織において発現があった。7週齢と14週齢の脂肪組織においてオキシトシン受容体遺伝子発現量は、脂肪細胞の肥大化に伴い、有意に増加した。

(4) 高脂肪食負荷マウスにおけるオキシト

シン受容体の発現量の変化

普通食給餌マウスと比較して、高脂肪給餌マウスの各脂肪組織においてオキシトシン受容体の遺伝子発現は上向き調節された。

(5) 絶食と再給餌によるオキシトシン受容体の発現量の変化

オキシトシン受容体の発現量は絶食により変化はなく、絶食後の再給餌により急激に増加した。

(6) 分化脂肪細胞におけるオキシトシンの脂質分解作用

脂肪細胞へのオキシトシンの直接作用を調べるために、3T3-L1 脂肪細胞にオキシトシンを処理した結果、脂質分解が刺激された (図2)。

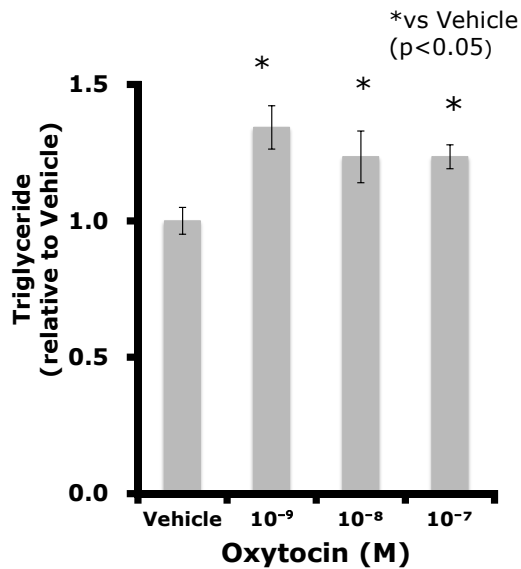


図2. 分化脂肪細胞におけるオキシトシン処理による脂質分解

(7) ウシ乳腺上皮細胞におけるオキシトシン受容体の発現量の変化

ウシ乳腺上皮細胞の分化刺激によって OXT-R の遺伝子発現量は上昇し、Adiponectin 添加によっても OXT-R の遺伝子発現が誘導されることが確認された。OXT-R 発現量は、Dex 添加によっても発現量が有意に上昇し、Prolactin 添加では減少したが、Insulin と GH の添加では有意な変化は認められなかった (図3)。

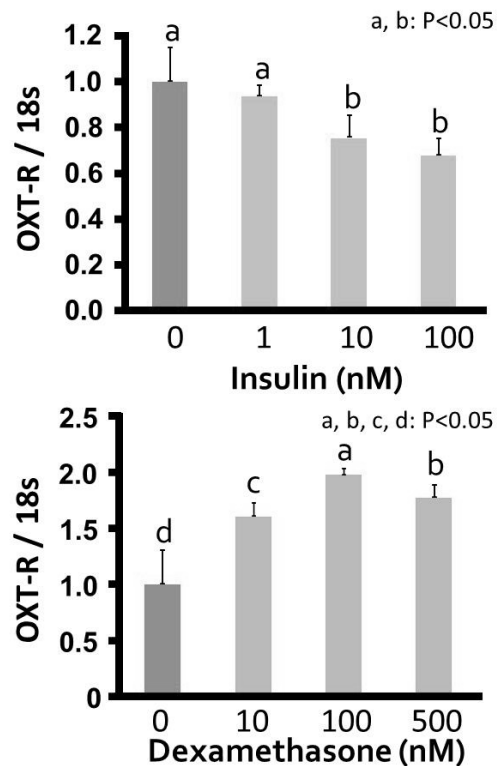


図3. ウシ乳腺上皮細胞における Insulin と Dexamethasone の刺激によるオキシトシン受容体の発現量の変化

以上の結果から、次の二点が推察された。
 ①脂肪細胞分化刺激による OXT-R 遺伝子発現の上昇は、オキシトシンによる調節機構が存在する可能性を示唆している。
 ②乳腺細胞で認められた OXT-R 遺伝子発現変化は、Adiponectin と催乳ホルモンによる調節機構が存在する可能性がある。

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2件)

- Ohtani Y, Takahashi T, Sato K, Ardiyanti A, Song SH, Sato R, Onda K, Wada Y, Obara Y, Suzuki K, Hagino A, Roh SG and Katoh, Changes in circulating adiponectin and metabolic hormones concentrations during periparturient and lactation periods in Holstein dairy cows. Animal Science Journal, 査読有、2012、83(12): 788-795. DOI: 10.1111/j.1740-0929.2012.01029.x
- Suzuki Y, Song SH, Ardiyanti A, Kato T, So KH, Katoh K, Roh SG、The regulation of chemerin and CMKLR1 genes expression by TNF- α , adiponectin and

chemerin analog in bovine
differentiated adipocytes.
Asian-Australian Journal of Animal
Science、査読有、2012、25(9) :1316-1321.
DOI : 10.5713/ajas.2012.12083

[学会発表] (計2件)

1. 李 權正、蘇 敬夏、畑 優紀、立花
かおる、山内 恵利、Astrid Ardiyanti、
加藤 和雄、盧 尚建、脂肪細胞分化・形
成と脂質蓄積におけるオキシトシンレセ
プターの発現とその意義、第35回日本分
子生物学会年会、2012年12月14日、福
岡
2. Roh SG、So KH、Suzuki Y、Chen C、Katoh、
The expression in and role of oxytocin
receptor on adipose tissue lipid
metabolism under different feeding
conditions in mice、USENDO 2012年6
月25日、アメリカヒューストン

6. 研究組織

(1) 研究代表者

盧 尚建 (ROH SANGGUN)
東北大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：90322130

(2) 研究分担者

西森 克彦 (NISHIMORI KATSUHIKO)
東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：10164609

(3) 連携研究者

()

研究者番号：