

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：24701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670344

研究課題名(和文) 摂食関連ペプチドは食後経過時間判定のための有用な指標となり得るか？

研究課題名(英文) A preliminary study on post-eating time estimation based on feeding-related peptide

研究代表者

近藤 稔和 (KONDO, TOSHIKAZU)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：70251923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：法医実務において、食後経過時間判定は重要な鑑定事項である。特にグレリンとレプチンに着目し、食後経過時間判定のための有用な指標となり得るか否かについて検討した。マウスを一晩絶食させた後、一定時間(5分または15分)食餌を自由に摂取させた30分、60分、120分後に胃および腹腔内脂肪織におけるグレリンおよびレプチンの遺伝子発現の動態を検討した。グレリン遺伝子発現は食後経過時間とともに減弱し、一方、レプチン遺伝子の発現は食後経過時間とともに増加傾向を認めた。すなわち、グレリンおよびレプチンが食後経過時間判定のための指標となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：It is one of the important matters to estimate post-eating time in forensic practices. Feeding is regulated by peptides such as ghrelin and leptin secreted by adipose cells and gastrointestinal cells. Thus, we examined the gene expression of ghrelin and leptin after eating and discussed the availability of these peptides as the marker for post-eating time estimation. After fasting overnight, mice were allowed access to food for 15 minutes. At 30, 60 and 120 minutes after eating, stomach and adipose tissue samples were taken and subjected to mRNA extraction. The gene expression of ghrelin in the stomach and that of leptin in the adipose tissue was evaluated by real-time RT-PCR. The gene expression of ghrelin was down-regulated in accordance with post-eating time. On the contrary, mRNA of leptin was upregulated time-dependently. Of course further studies are necessary, these observations implied that ghrelin and leptin would be useful markers for post-eating time estimation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：食後経過時間 摂食関連ペプチド グレリン レプチン 中枢神経 脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

(1) 司法解剖では、「食後の経過時間」という鑑定嘱託事項がしばしば見受けられる。すなわち、食後経過時間推定により、その人の死亡直前の行動が把握できたり、死後経過時間推定のための1要素となり、時に事件解決の端緒となることがある。しかし、法医学の教科書では食後経過時間推定については、食物の種類別の消化の程度や胃に残留している大雑把な時間経過しか記載されておらず、実際の食後経過時間の推定は、鑑定人の主観や経験に依存しているのが現状で、客観的な食後経過時間判定に関する法医学的研究は皆無であり、信頼性のある食後経過時間判定法の確立が切望されている。

(2) 摂食行動は血糖を一定に保とうとする生体の機能が食欲中枢に働いて摂食を制御するという、Mayer の「糖定常説」が一般的であった。近年、種々の摂食関連ペプチドが発見されたことにより、摂食の分子メカニズムが解明され、消化管や脂肪細胞から分泌された摂食関連ペプチドが中枢に作用して摂食を制御することから、摂食は中枢神経 脂肪細胞 消化管の相互連関による生体反応であることが明らかとなった(図1)。特に、グレリンは胃粘膜から分泌される摂食亢進ペプチド、レプチンは脂肪細胞から分泌される摂食抑制ペプチドで、これらは肥満や糖尿病に密接に関連している(Nature 402, 656, 1999, J Clin Invest 96, 1647, 1995)。しかし、摂食関連ペプチドに着目した法医学的研究は現在まで国内外を問わず全く認められない。

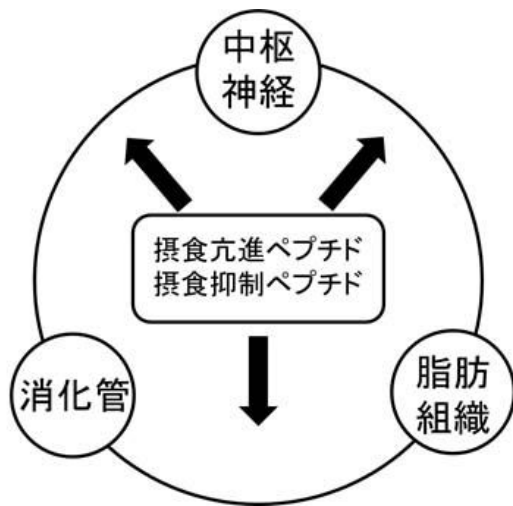


図1

2. 研究の目的

食後経過時間判定は、重要な鑑定事項であるにもかかわらず、これまで研究がほとんどみられない。近年、摂食行動に関連するペプチドが、消化管や脂肪細胞から産生されることが明らかとなり、摂食は中枢神経 消化管 脂肪細胞の相互連関による生体反応であると考えられている。特に、グレリンは主と

して胃内分泌細胞で産生され、ヒトやマウスにおいて摂食亢進や体重増加、消化管機能調節などエネルギー代謝調節に重要な作用を持ち、これまで知られている中で唯一の末梢で産生される摂食促進ペプチドである(Nature 402, 656, 1999)。一方、レプチンは脂肪組織によって作り出され、エネルギーの取り込みと消費の制御に重要な役割を果たす重要な摂食抑制ペプチドである(J Clin Invest 96, 1647, 1995)。グレリンとは反対に、レプチンの分泌は血糖値の上昇(満腹)によって亢進し、空腹状態では抑制される。すなわち、グレリンとレプチンには、図2に示すような相互連関によって摂食を制御している。そこで、摂食関連ペプチドのなかでもグレリンとレプチンに焦点を当て、食後経過時間判定に有用な指標であるか否かについて検討するために本研究を立案した。

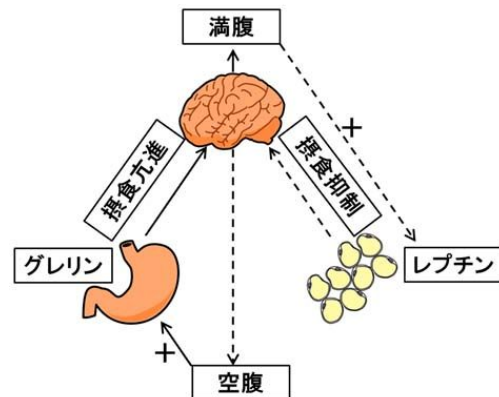


図2

3. 研究の方法

8週齢のBALB/cマウス実験動物として用いる。マウスを一晩絶食させた後、一定時間(5分, 15分, 30分)食餌を自由に摂取させる。グレリン及びレプチンの遺伝子解析ア。グレリンは胃粘膜細胞、レプチンは脂肪細胞によって産生されることから、摂取させた直後、15分, 30分, 60分, 120分と経時的にマウスを安楽死させ、胃及び腹腔内脂肪織を採取する。

イ。採取した各試料から ISOGEN により総 RNA を抽出し、逆転写反応を行う。続いて、グレリン及びレプチンの各 cDNA に特異的なプライマーを合成し、リアルタイム PCR によって、各摂食関連ホルモンの遺伝子発現を定量する。

ウ。グレリン及びレプチンの食後の経過時間に伴う各遺伝子発現の動態を検討する。さらに、遺伝子発現について、グレリン/レプチン比の食後の経時的变化も検討する。また、食餌を与えた時間がこれらグレリン、レプチンの遺伝子発現レベル及びその発現レベルの比にどのような影響を与えているかを検討する。

#### 4. 研究成果

(1) 8週齢のBALB/cマウス実験動物として用いて一晩絶食させた後、一定時間(5分または15分)食餌を自由に摂取させた直後、15分、30分、60分、120分と経時的にマウスを安楽死させ、胃および腹腔内脂肪織におけるグレリンおよびレプチンの食後の経過時間に伴う各遺伝子発現の動態を検討した。摂食ホルモンであるグレリン遺伝子発現については、食前で最も高く発現していたが、食後経過時間とともに減弱した。一方、レプチン遺伝子の発現は、食前で最も低く、食後経過時間とともに増加傾向を認めた。すなわち、グレリンとレプチン遺伝子の発現は逆相関の関係であることが判明した。一方、食餌時間5分では、グレリンおよびレプチンのいずれの遺伝子発現も有意な変化を認めなかった。すなわち、食餌時間もグレリンおよびレプチンの遺伝子発現に影響を与えることが判明した。

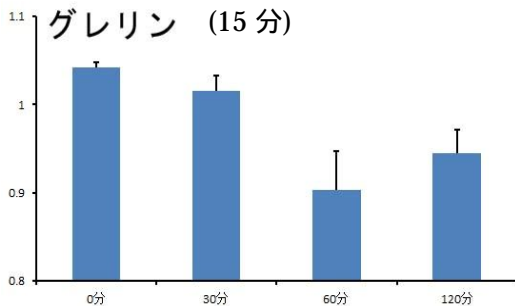


図3

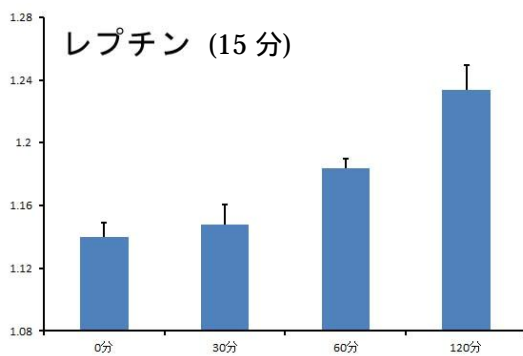


図4

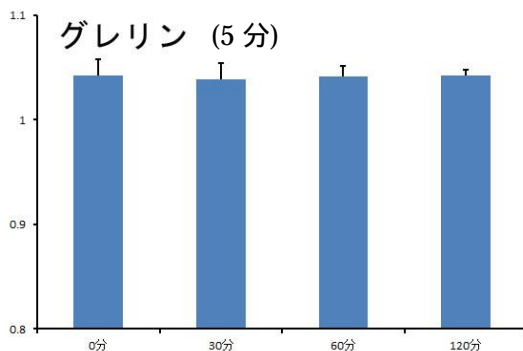


図5

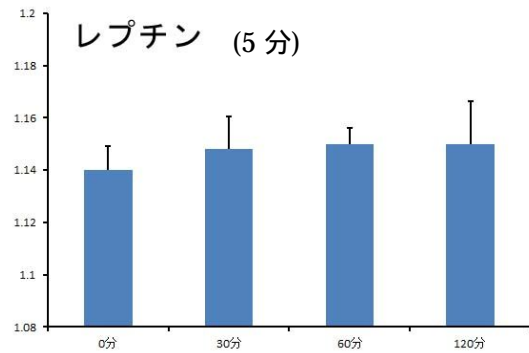


図6

(2) グレリンおよびレプチンの死後経過時間に伴う安定性の検討をした。摂食直後および15分、30分、60分、120分後にマウスを安楽死させた後、室温環境下で3時間、6時間、12時間、1日及び3日放置した後、胃および腹腔内脂肪織を採取して、上述のごとくりアルタイム RT-PCR によってグレリンおよびレプチンの遺伝子発現を検討したところ、死後1日までは、グレリンおよびレプチンの遺伝子発現ともに安楽死直後に採取した試料と同様の傾向を認めたが、死後3日目の試料では、いずれの遺伝子も検出できなかった。

#### 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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

近藤 稔和 (KONDO, Toshikazu)  
和歌山県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号：70251923

### (2) 研究分担者

木村 章彦 (KIMURA, Akihiko)  
和歌山県立医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：60136611

石田 裕子 (ISHIDA, Yuko)  
和歌山県立医科大学・医学部・講師  
研究者番号：10364077

野坂 みずほ (NOSAKA, Mizuho)  
和歌山県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号：00244731

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：