

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861554

研究課題名(和文) インクレチンによる小腸粘膜や膵臓の恒常性維持に関する研究

研究課題名(英文) Homeostasis in glycolipid metabolism-related organs maintained by incretin

研究代表者

安河内 友世(川久保友世)(Yasukochi, Tomoyo)

福岡大学・薬学部・講師

研究者番号：70507813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、インクレチンであるGLP-1応答を活用した生活習慣病予防の提唱を目指し、妊娠期の栄養状態が母児のGLP-1R応答感受性や胎児の生活習慣病発症素因形成に与える影響について明らかにした。特に、GLP-1R応答の惹起には、安全性が確認されている生体由来の骨基質蛋白質である非(低)カルボキシル化オステオカルシン(GluOC)を用いることで実験を行った。

研究の結果から、GluOCがGLP-1応答を介して妊娠母体の糖脂質代謝を正常化し、世代を越えた糖脂質代謝異常を回避させる可能性が示唆され、GluOCによる次世代への健康障害伝播を阻止する予防医学の基盤確立に貢献できる研究成果であった。

研究成果の概要(英文)：Maternal diet during pregnancy has been found to influence the health of offspring. However, strategies for modulation of maternal energy metabolism without an adverse effect on the fetus have remained limited.

Under the background, this research aimed to investigate the effect of maternal oral administration of uncarboxylated osteocalcin (GluOC), which accelerates GLP-1R signaling and improves metabolic status, on the metabolic status of offspring. As a result, maternal HFS (high-fat, high-sucrose diet) feeding during gestation had deteriorate effects on glucose and lipid parameters, body weight, and adipose tissue inflammation in offspring fed normal diet, and these effects were attenuated by maternal oral GluOC administration. Thus, maternal oral administration of GluOC protects HFS-fed offspring from metabolic disorders induced by maternal obesity.

研究分野：生化学、歯科薬理学

キーワード：DOHaD インクレチン オステオカルシン

1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病胎児起源という概念が注目されており、これは、可塑性の高い胎児期に非生理的な状況に面すると、誤ったプログラミングをもたらし、その影響が恒久的なものとなるという概念で、母体の栄養状態の在り様が児の生活習慣病発症リスクに関わるという事である。

一方で、インクレチンである GLP-1 応答が妊婦の生理的耐糖能維持に重要な役割を担っていることが報告されており、研究開始当初の申請者の予備実験では、DPP-IV (Dipeptidyl Peptidase-4、GLP-1 の分解酵素) の酵素活性が周産期の一時期母体血清中で急激に低下することや、器官形態形成時期に胎児の全身的 GLP-1R (GLP-1 receptor) 発現量が低下することが分かっていた。これらの知見を踏まえると GLP-1R シグナルが周産期母児の糖代謝制御や胎児の糖代謝関連器官の形成に重要な役割を果たしていることが推察されたため、本研究では、母児の GLP-1 応答感受性と母体の妊娠期における栄養状態 (食餌成分や摂取カロリー) の関連、胎児の成育後の糖代謝異常症発症リスクに及ぼす影響について解析を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究課題は、将来的には生活習慣病胎児起源説を裏付け、インクレチンシグナルを用いた糖尿病の予防法の確立を目指すべく実験を開始した。現在の生活習慣病における予防医学の主眼は専ら生活習慣の改善であるが、本課題によって、現在考えられている生活習慣病発症のメタボリックドミノよりさらに上流に、胎児期の生活習慣病素因形成があることが実証されれば、次世代への健康障害の伝播を阻止する予防医学基盤の確立が期待できる。加えて、女性ホルモンであるエストロゲンが GLP-1R 作用を相乗的に増大させることも知られていることから、高エストロゲン状態の妊娠個体では、特に GLP-1R 応答機構の存在意義は大きい。よって、本課題の結果は、出産後 2 型糖尿病発症に移行しやすい妊娠性糖尿病の予防対策という側面からも魅力的な知見を提示することが予想された。

3. 研究の方法

母体の過度の高血糖状態は、児の成育後の生活習慣病発症のリスクを高めることが示唆されていることから、この実験では、妊娠中に糖脂質負荷を行った母体や児の追跡実験を行い、膵臓の発生段階からの機能解析や、成獣に至った後の経時的血清学的検査、膵ラ氏島の組織学的解析を行った。

具体的には、野生型マウスおよび GLP-1R 欠損マウスを糖脂質負荷の栄養環境下で飼育し、GLP-1R 作動薬 (申請者の研究室で見出された、生体由来の GLP-1 作動薬である非 (低) カルボキシル化オステオカルシン :

GluOC) の経口投与を行い、検証した。

4. 研究成果

妊娠中に高脂肪高シヨ糖食 (HFD; 脂肪含量 30%[v/v]、シヨ糖含量 20%[v/v]) を摂取した母親の産仔は、通常食 (ND) を摂取していた母親から生まれた産仔より体重が有意に重く、また、膵発生や細胞増殖に寄与する Pdx-1 (pancreatic-duodenal homeobox factor-1) の膵臓での発現が増強していた。これらの傾向は、仔が成獣となった後も引き続き観察され、離乳後にこれらの仔の栄養状態 (HFD/ND) を区別して追跡した場合にも、母親の妊娠期の栄養状態が大きく反映されていた。

上記の妊娠母体過栄養による (仔に対する) 影響は、妊娠母体が GluOC を摂取することで回避され、さらに、GLP-1 受容体欠損マウスを用いた同様の実験では観察されなかったことから、GluOC が GLP-1 応答を介して妊娠母体の糖脂質代謝を正常化し、世代を越えた糖脂質代謝異常をも回避させる可能性が示された。

また、これらの作用には性差が存在することが明らかとなった。

この結果は、国内外の学会や国際雑誌 (*Kawakubo-Yasukochi T et al., Obesity* 24:895-907, 2016) にて報告し、高い評価を受けた。

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 9 件)

Yasutake Y, Mizokami A, Kawakubo-Yasukochi T, Chishaki S, Takahashi I, Takeuchi H, Hirata M. Long-term oral administration of osteocalcin induces insulin resistance in male mice fed a high-fat, high-sucrose diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 310:E662-675, 2016. (査読あり)

DOI: 10.1152/ajpendo.00334.2015

Kawakubo-Yasukochi T, Kondo A, Mizokami A, Hayashi Y, Chishaki S, Nakamura S, Takeuchi H, Hirata M. Maternal oral administration of osteocalcin protects offspring from metabolic impairment in adulthood. *Obesity* 24:895-907, 2016. (査読あり)

DOI: 10.1002/oby.21447

Kawakubo-Yasukochi T, Morioka M, Hayashi Y, Nishinakagawa T, Hazekawa M, Kawano S, Nakamura S, Nakashima M. The SQUU-B cell line spread its metastatic properties to nonmetastatic clone SQUU-A from the same patient through exosomes.

J Oral Biosci 58:33-38, 2016. (査読あり)

Tsuka S, Aonuma F, Higashi S, Ohsumi T, Nagano K, Mizokami A, Kawakubo-Yasukochi T, Masaki C, Hosokawa R, Hirata M, Takeuchi H. Promotion of insulin-induced glucose uptake in C2C12 myotubes by osteocalcin. *Biochem Biophys Res Commun* 459:437-442, 2015. (査読あり)
DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.02.123

溝上顕子、川久保(安河内)友世、竹内弘、平田雅人、オステオカルシンとインスリン分泌、日薬理誌(*Folia Pharmacol Jpn*) 145:201-205, 2015. (査読あり)
DOI: 10.1254/fpj.145.201

Kataoka S, Baba A, Suda Y, Takii R, Hashimoto M, Kawakubo T, Asao T, Kadowaki T, Yamamoto K. A novel, potent dual inhibitor of Arg-gingipains and Lys-gingipain as a promising agent for periodontal disease therapy. *The FASEB J* 28:3564-3578, 2014. (査読あり)
DOI: 10.1096/fj.14-252130

Kawakubo T, Yasukochi A, Toyama T, Takahashi S, Okamoto K, Tsukuba T, Nakamura S, Ozaki Y, Nishigaki K, Yamashita H, Yamamoto K. Repression of cathepsin E increases the risk of mammary carcinogenesis and links to poor prognosis in breast cancer patients. *Carcinogenesis* 35:714-726, 2014. (査読あり)
DOI: 10.1093/carcin/bgt373

Goto S, Ozaki Y, Suzumori N, Yasukochi A, Kawakubo T, Furuno T, Nakanishi M, Yamamoto K, Sugiura-Ogasawara M. Role of cathepsin E from decidual macrophages in patients with recurrent miscarriage. *Mol Human Reprod* 20:454-462, 2014. (査読あり)
DOI: 10.1093/molehr/gau008

Mizokami A, Yasutake Y, Higashi S, Kawakubo-Yasukochi T, Chishaki S, Takahashi I, Takeuchi H, Hirata M. Oral administration of osteocalcin improves glucose utilization by stimulating glucagon-like peptide-1 secretion. *Bone* 69:68-79, 2014. (査読あり)
DOI: 10.1016/j.bone.2014.09.006

[学会発表](計 16 件)

Kondo A, Kawakubo-Yasukochi T, Mizokami A, Takeuchi H, Hirata M. Prevention of early atherosclerosis with uncarboxylated osteocalcin. *The 13th Asia Pacific Federation of Pharmacologist*

(APFP) Meeting, Feb 1-3, 2016, Bangkok (Thailand)

Kawakubo-Yasukochi T, Morioka M, Nishinakagawa T, Hazekawa M, Nakamura S, Nakashima M. Oral squamous carcinoma cell line SQUU-B transfers its metastatic potential to the non-metastatic SQUU-A clone from the same patient through exosomes. *BMB2015 Biochemistry and Molecular Biology*, Dec 1-4, 2015, 神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

Hazekawa M, Morioka M, Nishinakagawa T, Yasukochi T, Nakashima M. Research for component in natural products with anti-tumor invasive potential. **第74回日本癌学会学術総会**, 2015年10月8日~10日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

Yasukochi T, Morioka M, Nishinakagawa T, Hazekawa M, Nakamura S, Nakashima M. Transmission of invasive potential between oral squamous carcinoma cells from the same patient by the exosomes. **第74回日本癌学会学術総会**, 2015年10月8日~10日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

Nishinakagawa T, Hazekawa M, Yasukochi T, Nakashima M. Purification and characterization of the cytotoxic factor secreted from cancer cell line. **第74回日本癌学会学術総会**, 2015年10月8日~10日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

林慶和、川久保-安河内友世、溝上顕子、中村誠司、平田雅人「前立腺癌におけるオステオカルシンの位置付け」**第14回西日本骨・関節関連疾患懇話会**, 2015年7月5日、九州大学コラボステーション(福岡県福岡市)

林慶和、川久保-安河内友世、中村誠司「前立腺癌におけるオステオカルシンの存在意義」**第69回日本口腔科学会学術集会**, 2015年5月13日~15日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

川久保-安河内友世、近藤皓彦、溝上顕子、林慶和、竹内弘、平田雅人「オステオカルシン妊娠期投与による母仔糖脂質代謝の正常化」**第88回日本薬理学会年会**, 2015年3月18日~20日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

林慶和、川久保-安河内友世、溝上顕子、竹内弘、平田雅人「前立腺癌におけるオステオカルシンの役割」**第88回日本薬理学会年会**, 2015年3月18日~20日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

溝上顕子、安武雄、東京、**川久保-安河内友世**、竹内弘、平田雅人「継続的なオステオカルシンの経口投与による糖代謝への影響とその体内動態」**第88回日本薬理学会年会**、2015年3月18日～20日、名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）

近藤皓彦、**川久保-安河内友世**、溝上顕子、平田雅人「動脈硬化発症機構におけるオステオカルシンの役割」**第87回日本生化学会大会**、2014年10月15日～18日、国立京都国際会館（京都府京都市）

溝上顕子、安武雄、東京、**川久保-安河内友世**、高橋一郎、竹内弘、平田雅人「オステオカルシン経口投与時の体内動態と糖代謝への作用」**第56回歯科基礎医学学会学術大会・総会**、2014年9月25日～27日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

平田雅人、溝上顕子、**川久保-安河内友世**、竹内弘「超高齢化社会における歯科基礎医学の役割：骨-腸代謝関連シグナルの解明による全身の健康維持への情報発信」**第56回歯科基礎医学学会学術大会・総会**、2014年9月25日～27日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

川久保-安河内友世、近藤皓彦、安武雄、溝上顕子、平田雅人「オステオカルシン妊娠期投与による次世代糖脂質代謝制御の可能性」**第56回歯科基礎医学学会学術大会・総会**、2014年9月25日～27日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

Hirata M, Mizokami A, **Kawakubo-Yasukochi T**, Otani T, Yasutake Y. BMG flow. *The 55th International Symposium on Biological Regulation and Enzyme Activity in Normal and Neoplastic Tissues*, Sep 16-17, 2014, Bologna (Italy)

川久保-安河内友世、近藤皓彦、安武雄、溝上顕子、平田雅人「オステオカルシンによる母仔糖脂質代謝正常化戦略」**第13回西日本骨・関節関連疾患懇話会**、2014年7月5日、九州大学コラボレーション（福岡県福岡市）

〔産業財産権〕

出願状況（計1件）

名称：非または低カルボキシル化オステオカルシンの製造方法およびその利用

発明者：平田雅人、他

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2015-161238

出願年月日：2015年8月18日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安河内 友世 (Yasukochi Tomoyo)

福岡大学・薬学部・講師

研究者番号：70507813