

研究ノート

グレリンの腹腔内投与が栄養素選択的な摂食調節に及ぼす影響

小玉 智章, 原 小由合, 矢野 捷介

(長崎国際大学 健康管理学部 健康栄養学科)

要 旨

グレリンは28個のアミノ酸から構成されるペプチドであり、その中枢あるいは末梢投与は、その後の摂食量を増加させることが報告されている。本研究ではグレリンの栄養素の嗜好性への影響を検討するため、3種類のマクロ栄養素(糖質、タンパク質及び脂質)を同時に与えたラットにグレリン(0.5, 1.0及び5.0 nmol/rat)を腹腔内投与し、投与から1、2、4及び24時間後の摂食量を測定した。総摂食量はグレリンの投与量依存的に、生理的食塩水投与時と比べて増加した。その内訳を見ると、糖質食の摂食量が有意に増加していたが、タンパク質及び脂質食の摂食量に変化は見られなかった。血清グルコース、総タンパク質、中性脂肪、遊離脂肪酸、及びγ-リポタンパク質濃度はグレリン投与による影響は認められなかった。本研究はグレリンが代謝に影響することなく、糖質の摂食量を選択的に増加させたことを明らかにした。この結果は、グレリンが直接的に糖質に選択的な摂食調節に関与していることを示唆している。

キーワード

グレリン、摂食、糖質、タンパク質、脂質

グレリンは、1999年に Kojima らによって発見された、28個のアミノ酸からなるペプチドである¹⁾。グレリンはN末端から3番目のセリンがn-オクタノイル化された特徴的な構造を有し、この脂肪酸の修飾がその生理活性発現に重要である。グレリンの生理活性は、成長ホルモンの分泌促進¹⁾はもとより、摂食促進²⁾³⁾、体脂肪の増加に伴う体重増加⁴⁾、インスリンの分泌調節⁵⁾など多岐にわたる。

グレリンの血中濃度は空腹時にもっとも高く、摂食により速やかに低下する⁶⁾。また、中枢あるいは末梢にグレリンを投与すると、摂食が促進される²⁾³⁾。さらに、中枢に抗グレリン抗体を投与すると、絶食後でも摂食が抑制される⁷⁾。これらのことから、グレリンは摂食促進因子であることは明らかである。

これまでグレリンによる摂食調節を検討した研究の多くは、実験食として栄養素の組成が固定された混合食が用いられている。これらの研

究では、摂取エネルギー量の調節の観点からは検討できるが、各栄養素に対する摂食調節の観点からは検討できない。栄養素の組成を変えた数種類の食事を選択摂食させる研究も行われている⁸⁾が、未だ検討が不十分である。筆者らはこれまでの研究で、マクロ栄養素(糖質、タンパク質及び脂質)のそれぞれに特化した3種類の食事を同時に与え、それを自由選択摂食させる方法を用いて栄養素選択的な摂食調節を検討してきた⁹⁾¹⁰⁾。そこで本研究では同様の方法を用い、グレリンが栄養素選択的な摂食調節に関与するかどうかについて検討した。また、グレリンを投与した後に血液を採取し、代謝に影響を与えることで間接的に摂食調節を行うのか、影響を与えずに直接調節を行うのかについても検討した。

1. 実験方法

実験1：グレリンの腹腔内投与が摂食行動に及ぼす影響

10匹の Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラット (350~400 g BW, 田川実験動物) を用いた。ラットは個別のステンレスケージで、12時間明暗サイクル (7:00点灯) 室温一定 (23±2) 下で管理した。3種類の実験食 (糖質食、タンパク質食及び脂質食) を同時に与え、ラットに自由選択摂食させた。実験食の組成は表1に示す。実験を開始する1週間前から実験食に慣れさせた。

明期開始から2時間後に実験食を取り出し、1時間絶食させた。明期開始から3時間後に、ラットの腹腔内に0、0.5、1.0及び5.0 nmol のグレリン (東洋紡) を、生理的食塩水 300 µL に溶解して投与した。投与直後に実験食をケージに戻し、1、2、4及び24時間後に摂食量を測定した。それぞれの投与は48時間空け、5匹ずつ濃度昇順あるいは濃度降順で投与した。

実験2：グレリンの腹腔内投与が血中成分に及ぼす影響

20匹の SD 系雄性ラットを用いた。ラットは実験1と同様に管理した。

明期開始から2時間後に実験食をケージから

取り出し、3時間後にラットの腹腔内に0及び0.5 nmol のグレリンを生理的食塩水 300 µL に溶解して投与した。投与から1時間後に頸椎脱臼にて屠殺し、速やかに開腹して下大静脈から採血した。遠心分離で得られた血清を用いて、グルコース、総タンパク質、アルブミン、中性脂肪、総コレステロール及び α -リポタンパク質の濃度を測定した。

統計処理

摂食量は、摂食重量からエネルギー量として算出し、平均±標準誤差 (SE) で表した。平均値の比較は0 nmol のグレリン投与を対照としてダネット法を用いた検定を行い、危険率0.5%以下を有意と判定した。血清グルコース、総タンパク質、アルブミン、中性脂肪、総コレステロール及び α -リポタンパク質の濃度は、0 nmol のグレリン投与後の測定値を対照として *t* 検定で比較した。危険率0.5%以下を有意と判定した。

2. 結果

実験1：グレリンの腹腔内投与が摂食行動に及ぼす影響

グレリンの腹腔内投与から1時間後の総摂食量は、対照と比較して投与量依存的に増加傾向

表1 実験食の組成

	糖質食	タンパク質食	脂質食
	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)
ミルクカゼイン ¹⁾	-	935	-
- コーンスターチ ¹⁾	623	-	-
シュークロース ¹⁾	312	-	-
硬化パームオイル ²⁾	-	-	770
サラダオイル (菜種7:大豆3) ³⁾	-	-	100
ミネラル混合 (AIN-93M) ¹⁾	35	35	70
ビタミン混合 (AIN-93) ¹⁾	10	10	20
セルロース ¹⁾	20	20	40

¹⁾日本農産 ²⁾不二製油 ³⁾和光純薬

を示した(図1、A)。実験食別にその内訳を見ると、タンパク質食の摂食量はグレリン投与による変化は見られなかったが、糖質食及び脂質食の摂食量は増加傾向を示し、5.0 nmol のグレリン投与では糖質食の摂食量が対照と比較して有意に増加した。投与から2時間後以降は、糖質食の摂食量のみが増加し、タンパク質食及び脂質食の摂食量に変化は見られなかった(図1、B、C及びD)。投与した1時間後から2時間後までの1時間の総摂食量及び2時間後から4時間後までの1時間当たりの総摂食量は、投与量に拘らず最初の1時間の摂食量と比べて少量であった(図1、E及びF)。

24時間後の摂食量は、どの食事の摂食量においても、グレリン投与による変化は見られなかった。

実験2：グレリンの腹腔内投与が血中成分に及ぼす影響

0.5 nmol のグレリンを投与してから1時間後の血清グルコース、総タンパク質、アルブミン、中性脂肪、総コレステロール及び α -リポタンパク質の濃度は、対照と比べて有意差を認めなかった。すべての値はラットの生理的範囲内であった(表2)。

3. 考察

本研究では、グレリンの腹腔内投与が栄養素選択的な摂食調節に関与するかどうかについて検討した。

実験1の結果から、5.0 nmol のグレリンの投与は投与から1時間の総摂食量を、有意差は認められなかったが、大幅に増加させた。この結果は、これまで報告されてきたグレリンの摂食促進作用と一致する。栄養素別にみても、タンパク質食の摂食量は対照とほぼ同量であったが、脂質食の摂食量が増加傾向を示し、糖質食の摂食量は有意に増加した。0.5及び1.0 nmol のグレリン投与では、5.0 nmol の投与と比べてその程度は小さいものの、糖質食及び脂

質食の摂食量が増加傾向を示した。これらの結果から、グレリンの投与は糖質及び脂質の摂食を促進させることで総摂食量を増加させ、タンパク質の摂食調節には関わっていないと示唆される。

その後、2時間後及び4時間後の累積摂食量では、脂質食の摂食量は対照に近づいているが、糖質食の摂食量は対照と比べて大幅に増加したままであった。しかしながら、投与して1時間後から2時間後までの1時間の摂食量及び2時間後から4時間後までの1時間当たりの摂食量は、どの投与量のどの摂食量においても最初の1時間と比べて大幅に減少していた。グレリンは、空腹時には血中濃度が増加するが、摂食によりその濃度は速やかに減少する⁶⁾。つまり、最初の1時間の摂食で空腹が満たされたため、2時間後以降の摂食量はごくわずかであったと考えられる。グレリン投与による摂食量の増加も最初の1時間のみであり、その後はそれ以前の摂食による影響が大きいのであろう。

投与から24時間後の摂食量は、どの食事においても対照と比較して変化は見られなかった。投与から4時間後までは糖質の累積摂食量が対照と比べて有意に増加していたが、その後の摂食で調節されたため、その変化が見られなくなったと思われる。動物は本能的に、自らの体の必要量に見合った摂食をするように調節できると考えられている。この機構により、グレリン投与による過剰の摂食をその後の摂食で調節したと考えられる。

グレリンの投与が血中成分に影響を与えるかどうかを確認するため、糖質の摂食量が増加した最小の濃度である0.5 nmol のグレリンを投与した後に採血をし、血中成分を測定した。0.5 nmol のグレリン投与から1時間後の血清グルコース、総タンパク質、アルブミン、中性脂肪、総コレステロール及び α -リポタンパク質の濃度は生理的範囲内であり、対照と比べて有意な差は見られなかった。これらの濃度は体内の代謝の亢進あるいは抑制によって変化する

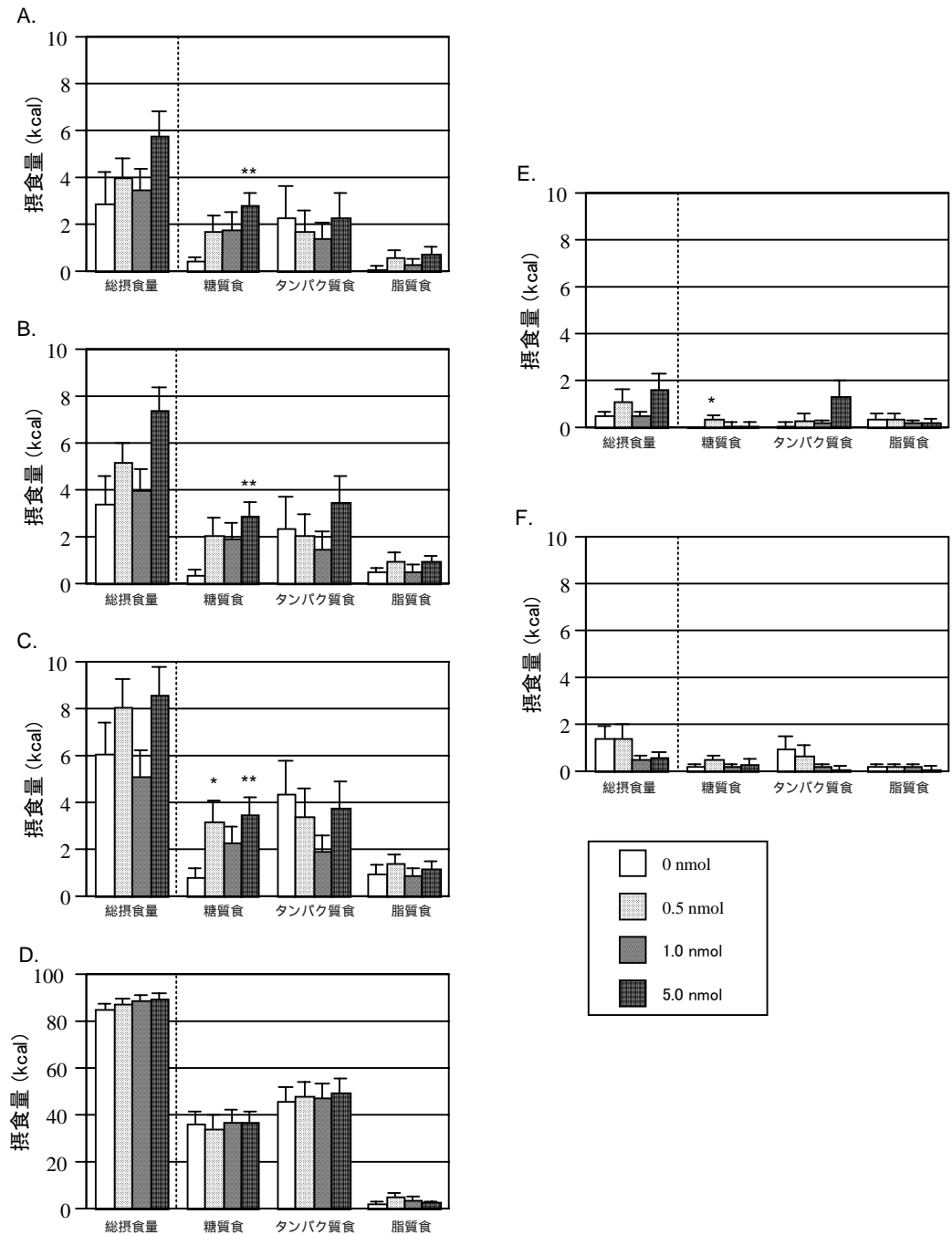


図1 グレリン投与後の摂食量

投与から、A：1時間後の累積摂食量、B：2時間後の累積摂食量、C：4時間後の累積摂食量、D：24時間後の累積摂食量、E：1時間後から2時間後までの1時間の摂食量及び F：2時間後から4時間後までの1時間当たりの摂食量。平均値±標準誤差、n=10。*：p<0.05及び**：p<0.01。

表2 グレリン投与から1時間後の血中成分

	0 nmol	0.5 nmol
グルコース (mg/dL)	149.4 ± 10.3	153.4 ± 7.7
総タンパク質 (g/dL)	6.1 ± 0.1	6 ± 0.2
アルブミン (g/dL)	2.52 ± 0.0	2.5 ± 0.1
中性脂肪 (mg/dL)	114.8 ± 17.9	131.8 ± 35.6
総コレステロール (mg/dL)	59.8 ± 3.5	52.8 ± 3.1
- リポタンパク質 (mg/dL)	230.8 ± 26.8	243.8 ± 43.7
遊離脂肪酸 (μEq/L)	190.2 ± 40.5	188.4 ± 27.5

平均値 ± 標準誤差、n = 5。

が、グレリン投与後の変化が見られなかったことから、投与による代謝への影響は無かったと考えられる。つまり、グレリン投与による摂食量の増加は、体内の代謝の変化を介してではなく、グレリンが直接的に摂食調節因子となっていることが示唆される。

グレリンによる摂食調節のメカニズムは、中枢と末梢の2つの経路が考えられている¹¹⁾。中枢においては、摂食調節に非常に関係深い視床下部弓状核で、グレリン産生細胞が多く認められる。視床下部弓状核においてはニューロペプチドYおよびアグーチ関連ペプチドニューロンにグレリン受容体が存在し、これら神経ペプチドを介してグレリンによる摂食調節は行われていると考えられている。一方、グレリン産生細胞は、末梢では胃、小腸に多く存在する。空腹などの刺激によって消化管から血中に放出されたグレリンは、一部は脳血液関門を通過し、視床下部弓状核のグレリン受容体に捕らえられ摂食促進作用を呈するが、一部は末梢の迷走神経に存在するグレリン受容体を介して中枢へシグナルを伝達し、摂食促進作用を呈する。本実験で腹腔内に投与されたグレリンは、主に迷走神経を介したシグナル伝達によって摂食を促進させたと思われる。つまり、迷走神経を介した摂食調節は糖質及び脂質に選択的に関わっているのかもしれない。

本研究では、グレリンの腹腔内投与が、糖質

及び脂質の摂食量を選択的に増加させることを初めて明らかにした。また、投与されたグレリンは摂食調節機構に直接的に作用し、その影響時間も1時間以内に限定されることも示唆された。

参考文献

- 1) Kojima, M, Hosoda, H, Date, Y, et al. (1999) ' Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach.' *Nature*. 402, PP. 656-660.
- 2) Wren, AM, Small, CJ, Abbott, CR, et al. (2001) ' Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats.' *Diabetes*. 50, PP. 2540-2547.
- 3) Asakawa, A, Inui, A, Kaga, T, et al. (2003) ' Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice.' *Gut*. 52, PP. 947-952.
- 4) Tschöp, M, Smiley, DL and Heiman, ML. (2002) ' Ghrelin induces adiposity in rodents' *Nature*. 407, PP. 908-913.
- 5) Dezaki, K, Hosoda, H, Kakei, M, et al. (2004) ' Endogenous ghrelin in pancreatic islets restricts insulin release by attenuating Ca²⁺ signaling in beta-cells: implication in the glycemic control in rodents.' *Diabetes*. 53(12), 3142-3251.
- 6) Tschöp, M, Wawarta, R, Riepl, RL, et al. (2001) ' Ppost-prandial decrease of circulating human ghrelin levels.' *Journal of Endocrinological Investigation*. 24, PP. RC19-RC21.

- 7) Nakazato, M, Murakami, N, Date, Y, et al. (2001) ' A role of for ghrelin in the central regulation of feeding.' *Nature*. 409, PP. 194-198.
- 8) Shimbara, C, Mondal, SM, Kawagoe, T, et al. (2004) ' Central administration of ghrelin preferentially enhances fat ingestion.' *Neuroscience Letters*. 369, PP.75-79.
- 9) Kodama, T. (2005) ' The preloading low-dose of D-glucose selectively increased carbohydrate intake in self-selecting rats.' *Journal of Kyoto prefectural University of Medicine*. 114(9), PP. 581-589.
- 10) Kodama, T. (2006) ' The infusion of a small amount of insulin into the hepatic portal vein selectively increases carbohydrate intake.' *Journal of Kyoto prefectural University of Medicine*. 116(2), PP. 83-92.
- 11) Hosoda, H, Kojima, M and Kangawa, K. (2006) ' Biological, physiological and pharmacological aspects of ghrelin.' *Journal of Pharmacological Sciences*. 100, PP. 398-410.