

## 研究ノート

## グレリンの脳室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(100、200及び500 pmol/rat)を脳室内投与し、投与から1、2、4及び24時間後の摂食量を測定した。200及び500 pmolのグレリン投与は2時間後までの累積総摂食量を、生理的食塩水投与時と比べて有意に増加させた。その内訳を見ると、糖質食及びタンパク質食の累積摂食量が有意に増加していたが、脂質食の摂食量に変化は見られなかった。本研究はグレリンの脳室内投与が糖質及びタンパク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、グレリンによる栄養素選択的な摂食調節が行われるメカニズムにおいて迷走神経が関与している可能性を示唆している。

## キーワード

グレリン、摂食調節、視床下部弓状核、迷走神経

グレリンは、成長ホルモン分泌促進因子受容体(GHS-R)のリガンドとして発見された内分泌物質であり<sup>1)</sup>、その構造は28個のアミノ酸からなるペプチドである。このうち、3番目のセリンがn-オクタン酸で修飾されているのが特徴的であり、ほかにこのような構造を持つペプチドは見つかっておらず、またグレリンの生理活性にはこのオクタノイル化が必要となる。前述の通り、グレリンの主な生理活性は成長ホルモンの放出促進であるが、最近ではその「摂食促進作用」が注目されている。

グレリンの主な産生細胞は胃の壁細胞であり、空腹状態ではグレリンの発現が促進され、血中のグレリン濃度が増加する<sup>2)</sup>。空腹によって増加した血中のグレリン濃度は、摂食により速やかに減少する。また、グレリンを中枢あるいは末梢に投与することでその後の摂食量は増加し<sup>3,4)</sup>、グレリン抗体を投与することで摂食が抑制されることから<sup>5)</sup>、グレリンは生体内で摂食促進作用を持つことが示唆されている。

中枢において、グレリンは視床下部弓状核に密に分布している。弓状核を含む視床下部領域は中枢でも摂食調節を担う部分であり、さらにグレリンニューロンは、摂食促進に関わるニューロペプチドY(NPY)/アグーチ関連ペプチド(AgRP)ニューロンに刺激を伝達することから、グレリンが摂食促進作用を持つことは想像に難くない。

この様に、グレリンの摂食促進作用について様々な研究が行われてきたが、これらの実験で用いられている食事は、栄養素の組成があらかじめ固定されている物が多く、個々の栄養素に対する選択的な摂食調節に関して詳しく検討されていない。筆者らは、グレリンによる栄養素選択的な摂食調節について検討するため、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種類の実験食をラットに与え、それらと自由に選択摂食させる手法(self-selection法)を用いてきた。この手法により、グレリンを腹腔内投与すると、その後の糖質の

摂食量が選択的に増加するという結果を示し、グレリンが栄養素選択的な摂食調節に関与することを示唆した<sup>6)</sup>。そこで本研究では、self-selection 法の下でラットにグレリンを脳室内投与した後の摂食行動を観察し、グレリンによる栄養素選択的な摂食調節のメカニズムの解明を試みた。

## 1. 実験方法

14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。

購入から1週間実験食に順応させた後、脳室内投与のためのガイドカニューレを留置する手術を行った。ラットにペントバルビタールナトリウムを用いて麻酔し、脳定位固定装置に固定した。側脳室 (Bregma から後方に 0.8mm、外側に 1.4mm、腹側に 3.4mm) に端が達するようにステンレスパイプ (内径 0.48mm、外径 0.70mm、長さ 15mm) を挿入し、デンタルセメントで固定した。

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、

ラットの脳室内に、ガイドカニューレを介して生理的食塩水 5µL に溶解した100、200及び500 pmol のグレリン (東洋紡) を投与した。対象として生理的食塩水 5µL を投与した。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。それぞれの濃度の投与間隔は48時間以上とし、ラットは2群に分けそれぞれ濃度昇順あるいは濃度降順で投与した。

摂食量は、それぞれの実験食の摂食重量 (g) からエネルギー量 (kcal) として算出し、平均±標準誤差 (SE) で表した。累積摂食量および摂食速度の平均値の比較は統計ソフト SPSS を用いて、分散分析及びダネット法による多重比較を行った。危険率 5% 以下を有意と判定した。

## 2. 結果

総摂食量において、摂食時間と脳室内投与したグレリン濃度の間に相互作用は認められなかった (図1A)。糖質、タンパク質及び脂質の摂食量においても摂食時間と投与したグレリン濃度の間に相互作用は認められなかった (図1B-C)。

グレリンの脳室内投与から1時間後の総摂食量において、100 pmol の投与では生理的食塩水投与時と比べて変化は見られなかったが、200及び500 pmol の投与では有意に増加した (表

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		955	
- コーンスターチ	623		
シュクロース	312		
硬化パーム油			770
菜種油			70
大豆油			30
ミネラル混合 (AIN-93M)	35	35	70
ビタミン混合 (AIN-93)	10	10	20
セルロース	20	20	40

2 A)。このとき、糖質食及びタンパク質食の累積摂食量において 100 pmol のグレリン投与では生理的食塩水投与時と比べて変化は認められなかったが、200及び 500 pmol の投与では増加傾向を示した（表 2 B-C、200 pmol のグレリン投与後の糖質食では有意差あり）。脂質食の累積摂食量はどの投与量でも変化は認められなかった（表 2 D）。

グレリン投与から 2 時間後の累積総摂食量において、100 pmol の投与では生理的食塩水投与時と比べて増加傾向を示し、200及び 500 pmol の投与では有意に増加した（表 2 A）。糖質食及びタンパク質食の累積摂食量においても同様に、100 pmol のグレリン投与では増加傾向を、200及び 500 pmol の投与では有意な増加を示した（表 2 B-C）。脂質食の累積摂食量にはグレリンの脳室内投与による影響は認められなかった（表 2 D）。

グレリンの脳室内投与による累積総摂食量、糖質食及びタンパク質食の累積摂食量の増加は投与から 4 時間後まで認められた（表 2 A-C）。投与から 24 時間後では、累積総摂食量及び栄養

素別の累積摂食量も生理的食塩水投与後の累積摂食量と比べて有意な差は認められなかった（表 2 A-D）。

また、投与から 1、2、4 及び 24 時間後のそれぞれ測定時間において 1 時間あたりの摂食量を摂食速度として算出した。投与 1 時間後から 2 時間後までの摂食速度に有意差は認められなかったが、総摂食量及び糖質食及びタンパク質食の摂食量において増加傾向が見られた（表 2 A-C）。しかしながら、2 時間後から 4 時間後まで、及び 4 時間後から 24 時間後までの摂食速度は生理的食塩水投与時とほぼ同程度であった。脂質食の摂食速度はどの時間帯においてもグレリン投与による影響は認められなかった（表 2 D）。

### 3. 考 察

本研究では、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 種類の実験食を自由に選択摂食できる self-selection 法を用いて、グレリンの脳室内投与が栄養素選択的な摂食調節に及ぼす影響について検討を行っ

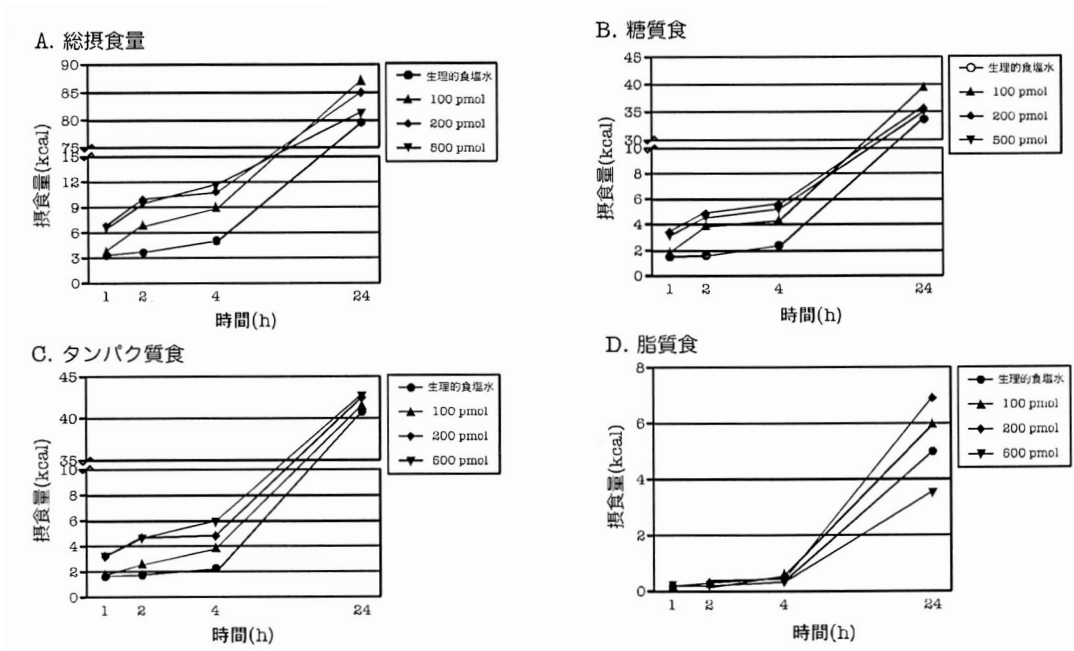


図 1 グレリンの脳室内投与後の経時的摂食量

た。

脳室内に 200 pmol あるいは 500 pmol のグレリンを投与すると、投与から 1 時間の累積総摂取食量が生理的食塩水投与時と比較して有意に増加した。この結果は、これまでの報告と一致する<sup>5)</sup>。このとき各実験食の累積摂取食量において、脂質食の累積摂取食量には変化が認められ

なかったが、糖質及びタンパク質の累積摂取食量は有意に増加あるいは増加傾向が認められた。また、2 時間後までの累積総摂取食量及び栄養素別の累積摂取食量も同様の結果を示した。これらの結果から、グレリンの脳室内投与は糖質及びタンパク質の摂取を選択的に促進することが示唆された。累積総摂取食量及び糖質食及びタンパク

表 2 グレリンの脳室内投与後の累積摂取食量及び摂食速度

#### A. 総摂取食量

	0 - 1 h 累積摂取食量 (kcal)	1 - 2 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 2 h 累積摂取食量 (kcal)	2 - 4 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 4 h 累積摂取食量 (kcal)	4 - 24 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 24 h 累積摂取食量 (kcal)
生理的食塩水	3.4±0.9	0.3±0.1	3.7±0.9	0.7±0.3	5.1±1.1	3.7±0.2	79.6±2.7
100 pmol	3.8±0.8	3.1±1.1	6.9±1.5	1.1±0.4	9.0±1.5	3.9±0.2	87.1±3.6
200 pmol	6.8±0.7**	3.0±0.9	9.9±1.3**	0.5±0.4	10.8±1.3**	3.7±0.2	84.9±5.0
500 pmol	6.5±0.8**	2.9±0.9	9.4±1.2**	1.0±0.4	11.4±1.5**	3.5±0.2	81.2±3.9

(平均値±標準誤差、\*\* : p < 0.01 vs 生理的食塩水)

#### B. 糖質食

	0 - 1 h 累積摂取食量 (kcal)	1 - 2 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 2 h 累積摂取食量 (kcal)	2 - 4 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 4 h 累積摂取食量 (kcal)	4 - 24 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 24 h 累積摂取食量 (kcal)
生理的食塩水	1.5±0.6	0.1±0.1	1.6±0.7	0.4±0.2	2.4±0.9	1.6±0.2	33.8±3.7
100 pmol	1.8±0.7	2.0±0.8	3.9±1.4	0.3±0.2	4.4±1.4	1.8±0.2	39.6±4.4
200 pmol	3.4±0.8*	1.4±0.5	4.9±1.0*	0.4±0.3	5.6±1.2	1.5±0.2	35.7±5.3
500 pmol	3.1±0.5	1.5±0.7	4.6±0.9	0.3±0.3	5.2±1.1	1.5±0.2	34.9±4.8

(平均値±標準誤差、\* : p < 0.05 vs 生理的食塩水)

#### C. タンパク質食

	0 - 1 h 累積摂取食量 (kcal)	1 - 2 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 2 h 累積摂取食量 (kcal)	2 - 4 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 4 h 累積摂取食量 (kcal)	4 - 24 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 24 h 累積摂取食量 (kcal)
生理的食塩水	1.7±0.7	0.1±0.1	1.8±0.7	0.3±0.2	2.3±0.8	1.9±0.2	40.8±4.4
100 pmol	1.8±0.5	0.8±0.4	2.6±0.6	0.6±0.3	3.9±0.8	1.9±0.2	41.5±3.7
200 pmol	3.2±0.6	1.5±0.5	4.7±0.8*	0.1±0.1	4.8±0.8*	1.9±0.2	42.4±4.4
500 pmol	3.2±0.8	1.4±0.7	4.6±1.1*	0.6±0.2	5.9±1.2**	1.8±0.2	42.7±4.3

(平均値±標準誤差、\* : p < 0.05、\*\*p < 0.01 vs 生理的食塩水)

#### D. 脂質食

	0 - 1 h 累積摂取食量 (kcal)	1 - 2 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 2 h 累積摂取食量 (kcal)	2 - 4 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 4 h 累積摂取食量 (kcal)	4 - 24 h 摂食速度 (kcal/h)	0 - 24 h 累積摂取食量 (kcal)
生理的食塩水	0.2±0.1	0.1±0.1	0.3±0.1	0.1±0.0	0.5±0.2	0.2±0.1	5.0±1.4
100 pmol	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1	0.1±0.1	0.6±0.2	0.3±0.1	6.0±3.0
200 pmol	0.2±0.1	0.1±0.1	0.3±0.2	0.0±0.0	0.4±0.2	0.3±0.1	6.9±2.5
500 pmol	0.2±0.1	0.0±0.0	0.2±0.1	0.1±0.0	0.3±0.1	0.2±0.1	3.5±1.2

(平均値±標準誤差)

質の累積摂食量は投与から4時間後まで増加しているが、摂食速度は投与から2時間後以降は増加しなかった。投与から24時間後までの累積摂食量は、総摂食量及び各実験食においてもグレリンによる影響は認められなかった。これらの結果から、グレリンによる摂食量の増加は投与から2時間後までという短時間であることが示唆された。グレリンの分泌は摂食刺激によって抑制され、さらにグレリンの半減期が15~30分と短いため、空腹時に増加した体内のグレリン濃度は摂食後に速やかに減少する。本実験における投与によって付加された体内のグレリンも、投与の影響で促進された摂食のフィードバックによって速やかに減少したため、短時間で摂食促進作用が消失したと思われる。

筆者らはこれまで、本実験と同様の self-selection 法を用いて、グレリンの腹腔内投与が栄養素選択的な摂食調節にどのような影響を及ぼすか検討した<sup>6)</sup>。その結果、グレリンの腹腔内投与は短時間の総摂食量を増加させ、その内訳では脂質食の摂食量が増加傾向を示し、糖質食の摂食量の有意な増加が認められた。本実験において、グレリンの脳室内投与は糖質食及びタンパク質食を増加させた結果と併せると、グレリンによって選択的に摂食調節される栄養素は、そのシグナルの伝達経路が関与している可能性が考えられる。生体内でのグレリンの主要な産生器官は胃であり、空腹によってその発現が促進され血中濃度が増加する。血中のグレリンは脳血液関門を通過し、中央隆起から視床下部弓状核に到達する。弓状核の NPY / AgRP ニューロンに発現しているグレリン受容体に結合し、摂食促進のシグナルとなる。一方、末梢の迷走神経にもグレリン受容体が存在し、血中のグレリン濃度の変動をモニターしている。この信号が弧束核を介して視床下部に伝えられ、摂食促進を行うと考えられている。つまり、腹腔内にグレリンを投与した場合は迷走神経及び弧束核を介したシグナル伝達が行われるが、脳室内に投与した場合はこの経路は介さずに、直

接視床下部領域のみが刺激されることになる。視床下部領域のみが刺激された場合は糖質とタンパク質に対する摂食が促進されるが、迷走神経を介した場合、タンパク質に対する摂食促進が抑制され脂質に対する摂食促進が現れるのかもしれない。著者はこれまで、インスリンの門脈内投与が糖質の摂食を選択的に促進することを明らかにし、そのメカニズムとして迷走神経が関与することを示唆した<sup>7)</sup>。インスリンは中枢において、満腹を示す信号として作用することが知られているが、末梢における摂食調節作用については未だ不明な点が多かった。この報告では、少量のインスリンを門脈内に投与するとその後の糖質の摂食量が選択的に増加し、下大静脈内投与では変化が認められなかった。筆者らはその作用機序として、迷走神経の肝臓枝がインスリンによる糖代謝の変化を感知し、中枢へ信号が伝達され、糖質食に対する摂食行動が変化したと推察している。本研究でも同様に、迷走神経を介した末梢におけるグレリン濃度の変動のシグナル伝達が、栄養素選択的な摂食調節に関与しているのかもしれない。

このように、摂食調節を受ける栄養素の選択が、調節の起因となる内分泌物質刺激の神経伝達経路に起因するという仮説が成立する。一方、グレリンは摂食調節以外にも様々な生理作用を有しているため、それらも考慮する必要がある。グレリンの脳室内投与は成長ホルモンの分泌を促進させるが、副腎皮質ホルモン、コルチゾールおよびコルチコステロンの分泌も促進させるという報告もある<sup>8)</sup>。これらは摂食調節に影響を与える内分泌物質であるため、栄養素の選択にも影響を及ぼす可能性が考えられる。迷走神経を介したシグナル伝達が栄養素選択的な摂食調節に関与するかどうかを確認するために、グレリン受容体アンタゴニストとの同時投与あるいは迷走神経切除術を用いた検討をする必要がある。

本研究では、グレリンの脳室内投与が糖質及びタンパク質の摂食を選択的に促進させること

を初めて明らかにした。さらに、その刺激が伝達される経路によって選択的に調節される栄養素は異なることが示唆された。

注

- 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 ) Tschp, M, Wawarta, R, Riepl, RL, et al. ( 2001 )  
' Post prandial decrease of circulating human ghrelin levels.' *Journal of Endocrinological Investigation*. 24, PP. RC19 - RC21.
- 3 ) Wren, AM, Small, CJ, Abbott, CR, et al. ( 2001 )  
' Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats.' *Diabetes*. 50, PP. 2540-2547.
- 4 ) Toshinai, K, Date, Y, Murakami, N, et al. ( 2003 )  
' Ghrelin-induced food intake is

mediated via the orexin pathway.' *Endocrinology*. 144, PP. 1506-1512.

- 5 ) 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. 947-52.
- 6 ) 小玉智章,原小由合,矢野捷介 ( 2008 )  
『長崎国際大学論叢』第8巻 235-240頁.
- 7 ) 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*, 11( 2 ), PP. 83-92.
- 8 ) Nagaya, N, Miyatake, K, Uematsu, M, et al. ( 2001 )  
' Hemodynamic, renal, and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure.' *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 86. PP. 5854-5859.