

博士(医学) 永田 絵子

## 論文題目

Altered gene expressions of ghrelin, PYY, and CCK in the gastrointestinal tract of the hyperphagic intrauterine growth restriction rat offspring

(過食傾向の子宮内発育遅延ラットの消化管におけるグレリン、ペプチド YY、コレシストキニンの遺伝子発現の変化)

## 論文の内容の要旨

[はじめに]

低栄養に曝露された胎児では、出生後、栄養を積極的に体内に取り込む適応が生じるため、成人期における生活習慣病のリスクが有意に高くなることが報告されている。このメカニズムを解明するために、子宮内発育遅延 (IUGR) モデルの動物が用いられ、肝臓、腎臓、膵臓、筋肉等で発現する多数の遺伝子を対象として、エピジェネティクス修飾が解析されている。しかし、消化管において、同様な解析の報告はない。そこで、今回われわれは、胎児期の低栄養状態が、出生後において、摂食関連の消化管ホルモンにおよぼす影響について検討した。

[材料ならびに方法]

浜松医科大学動物実験規程を遵守し、今回の実験を行った(承認番号 2008014)。実験動物には、9 週齢のスプラグ-ダウリー (Sprague-Dawley) ラット(日本エスエルシー株式会社、浜松)を用いた。餌には、通常食として Rodent Lab Diet EQ 5L37(1 g 当たり 3.12 kcal、脂質 10.5%、タンパク質 25%、炭水化物 64.5%) (PMI Nutrition International、ブレントウッド、アメリカ)を用いた。IUGR ラットは、妊娠ラットに妊娠 7 日目から出産まで、コントロールの給餌量の 50%の食餌制限を加えることで作成した。コントロールには、通常食を自由摂取した妊娠ラットから出産したラットを用いた。出生後は、IUGR 群、コントロール群ともに、妊娠中、通常食を自由摂取した母ラットに、1 匹当たり、雄 4 匹、雌 4 匹の仔ラットの割合で養育させた。両群ともに、それぞれ 8 群作成し、生後 21 日で離乳し、離乳後は通常食を自由に摂取させた。これらのラットを用いて、出生後の体重・食餌摂取量と、消化管ホルモンのうち、摂食促進ホルモンであるグレリンおよび摂食抑制ホルモンであるペプチド YY とコレシストキニンの変動について検討した。このために、コントロール群、IUGR 群、それぞれの群から、日齢 1 では 3 匹ずつ、7 か月齢では 1 匹ずつ、無作為に選び、血液と消化管(胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸)のサンプル採取を行った。各種ホルモン値は、血漿を用いて、酵素免疫測定法で測定した。遺伝子発現解析は、内在性ハウスキーピング遺伝子として 18s リボソーム RNA

を用いて、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応による相対定量解析を行った。統計学的解析には、スチューデント t 検定を用いた。

#### [結果]

IUGR 群は、コントロール群に比し、日齢 1 の有意な体重の減少 ( $p < 0.01$ )、7 か月齢の有意な体重、体格指数 (Body Mass Index) の増加 (ともに  $p < 0.01$ )、離乳後より 7 か月齢までの有意な食餌摂取量の増加 ( $p < 0.05$ ) を示した。摂食促進ホルモンであるグレリンは、日齢 1、7 か月齢において血漿濃度の有意な増加 (それぞれ  $p < 0.01$ 、 $p < 0.001$ )、遺伝子発現の有意な増加を示した (それぞれ  $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ )。摂食抑制ホルモンであるペプチド YY とコレシストキニンは、日齢 1 では、血漿濃度の有意な増加 (ともに  $p < 0.01$ ) と遺伝子発現の有意な増加 (ともに  $p < 0.05$ ) を示したが、7 か月齢では、血漿濃度の有意な低下 (それぞれ  $p < 0.05$ 、 $p < 0.001$ ) と遺伝子発現の有意な低下を示した (ともに  $p < 0.05$ )。

#### [考察]

今回、われわれが作成した IUGR ラットは、コントロール群に比し、日齢 1 で体重の減少を、7 か月齢で、体重と食餌摂取量の増加を示した。これらは過去の報告と同様であった。そして今回はじめて、摂食促進ホルモンが日齢 1、7 か月齢ではともに増加していること、摂食抑制ホルモンが日齢 1 では増加し、7 か月齢では低下していることが判明した。以上より、胎児期の低栄養に適応するために獲得したエピジェネティクス修飾が、栄養を積極的に取り込むように働き、摂食促進ホルモンの増加と摂食抑制ホルモンの低下という変化を招き、食餌摂取量の増加や体重増加に寄与したと考えられる。なお、日齢 1 におけるペプチド YY とコレシストキニンの増加は、過去の報告において、低栄養状態でこれらのホルモンが増加することに一致すると考えられる。

#### [結論]

IUGR ラットを用いて、出生後の体重増加と消化管ホルモンの変動について検討した。IUGR ラットで、摂食促進ホルモンの増加と摂食抑制ホルモンの低下が認められた。本研究は、IUGR ラットの摂食促進ホルモンの増加と摂食抑制ホルモンの低下が、体重および食餌摂取量の増加に寄与する可能性を示唆する初めてのデータと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

胎児期の低栄養が低出生体重児となり、その後の高脂血症、心臓病、肥満などの生活習慣病のリスク因子となることが知られている。胎児発育遅延 (IUGR) 胎仔の肝臓、腎臓、膵臓、筋肉等で発現する多数の遺伝子を検討すると、エピジェネティクス修飾が変化していることも明らかになってきた。しかし、今まで IUGR で出生した胎仔において、その後の消化管を解析した報告はない。申

請者らは、胎児期の低栄養状態が出生後の仔において、摂食関連の消化管ホルモンにおよぼす影響について検討した。IUGR 胎仔は妊娠スプラグ-ダウリーラットを用い妊娠 7 日目から出産まで、コントロールの給餌量の 50%の食餌制限を加えることで作成した。コントロールには、通常食を自由摂取した妊娠ラットから出産したラットを用いた。出生後の体重・食餌摂取量と、消化管ホルモンのうち、摂食促進ホルモンであるグレリンおよび摂食抑制ホルモンであるペプチド YY とコレシストキニンの変動について検討した。

申請者らは以下の結果を得た。IUGR 群は出生後 7 か月齢の有意な体重、体格指数(Body Mass Index)の増加を示した。グレリンは、日齢 7 か月齢において血漿濃度、遺伝子発現の有意な増加を示した。ペプチド YY とコレシストキニンは 7 か月齢で、血漿濃度及び遺伝子発現の有意な低下を示した。IUGR で出生した胎仔は、成人期に体重・体格の増加、摂食促進ホルモンの増加、摂食抑制ホルモンの低下が認められた。本研究は、IUGR 胎仔がその後の発達期に摂食促進ホルモンの増加と摂食抑制ホルモンの低下を惹起し、成人期の体重・体格の増加に寄与することを明らかにしたものである。

審査委員会は胎児発育不全が生後の消化管ホルモンの産生と関連していることを示した初めての研究であり、IUGR 児の出生後の管理に大きな示唆を与えるものであり本論文を高く評価した。

論文審査担当者 主査 金山 尚裕  
副査 須田 隆文 副査 三浦 直行