インクレチン応答による妊娠期糖脂質代謝の正常化戦略 ~世代を越えたメタボリックシンドローム予防法の確立を目指して~

Regulation of glycolipid metabolism during gestational period by incretin response

- Aiming at establishment a metabolic syndrome prophylaxis beyond the generation -

- 安河内(川久保)友世12)

要約 近年、「胎児期あるいは乳幼児期に、低栄養あるいは過栄養の環境に曝露されると生活習慣病の素因が形成される」という"生活習慣病胎児起源説(DOHaD: Developmental Origins of Health and Disease)"が提唱され、妊娠期母体の栄養状態に関心が集まっている。 筆者らのグループは最近、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)が、糖脂質代謝関連臓器への直接的な糖脂質代謝改善作用のみならず、インクレチンである GLP-1(Glucagon-like peptide-1)を介した間接的な血糖降下作用を持ち、個体の代謝を制御していることを証明した。

そこで本研究では、高脂肪高ショ糖食を負荷した妊娠母体へ GluOC を経口投与し、母児の糖脂質代謝についてマウスを用いた解析を行った。その結果、GluOC によって、母体のみならず、成熟後の児の肥満や糖脂質代謝改善作用が認められた。

Summary "DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) hypothesis" was emerged from epidemiological studies of birth and death records in 1986, and maternal diet during pregnancy has been found to influence the health of offspring. We recently showed that oral administration of uncarboxylated osteocalcin (GluOC) improves metabolic status by promoting GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) secretion in adult mice. We have thus investigated whether maternal GluOC administration during gestation might improve the metabolic status of offspring. Female C57BL/6 mice were fed a normal diet (ND) or high-fat, high-sucrose diet (HFS) as well as received saline or GluOC by oral administration during pregnancy. The resulting offspring were in turn assigned to ND- or HFS-fed groups immediately after weaning, and their body weight and glycolipid metabolic status were subsequently assessed. As a results, maternal HFS feeding during gestation had adverse effects on glucose and lipid parameters, body weight, and adipose tissue inflammation in female offspring fed the same diet, and these effects were attenuated by maternal oral GluOC administration. We propose that maternal oral administration of GluOC protects HFS-fed female offspring from metabolic disorders induced by maternal obesity.

Key Words: DOHaD, osteocalcin, incretin

Tomoyo Kawakubo-Yasukochi1,2)

- 1)福岡大学薬学部統合臨床医学講座免疫·分子治療学分野 2)九州大学大学院歯学研究院口腔細胞工学分野
- 1) Department of Immunological and Molecular Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Science, Fukuoka University, Fukuoka, Japan, 2) Laboratory of Molecular and Cellular Biochemistry, Kyushu University, Fukuoka Japan

1. 背景と目的

「生活習慣病の素因は、受精時、胎芽期、胎児期、 乳児期の環境と遺伝子の相互作用によって形成さ れ、それに出生後の負の生活習慣が負荷されるこ とで生活習慣病が発症する」という生活習慣病胎 児起源説が1986年に提起され1、その説は、現在 までに様々な疫学研究から実証されてきた²⁴⁾。

また、実際に、母親の妊娠期の肥満や高脂肪食 摂取が、仔の将来の深刻な生活習慣病発症リスク を上昇させることが、近年の様々な動物実験の結 果から明らかとなっている5.60。

一方、我々は最近、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)が、 糖脂質代謝関連臓器への直接的な糖脂質代謝改善 作用のみならず、インクレチンである GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) を介した間接的な血糖 降下作用を持ち、個体の代謝を制御していること を証明した^{7,8)}。さらに、この GluOC が胎盤通過性 をもつことが実証されており9、本研究では、妊娠 母体が摂取する GluOC が胎児の将来の生活習慣病 発症リスクに及ぼす影響について、解析を行った 10)

2. 方法

9週齢 C57BL/6 雌マウスを普通食 (ND) 摂取 群と高脂肪高ショ糖食(HFS)摂取群とに分け、 さらにそれぞれの群に対して、saline あるいは GluOC (10 ng GluOC / g of body weight) を毎 機関していたもの Mare those white the choic wife the choic w 日投与した。これらのグループをそれぞれ、NDsaline、ND-GluOC、HFS-saline、HFS-GluOCと称し(n = 8 - 13 / 群)、同週齢の C57BL/6 雄マウスと交配 させた。出産日翌日より離乳までの期間、母親マ ウスの飼料はすべて ND とした。

生後24日で離乳させた仔マウスは、以後さらに ND 摂取群と HFS 摂取群とに分けて群飼育を行い、 雌雄別に解析した。仔の解析では、16群(母親マ ウスの摂取飼料×母親マウスへ GluOC 投与の有 無×仔マウスの摂取飼料×仔マウスの性別)での 比較検討を体重測定、血清学的解析、耐糖能試験 (IPGTT; Intraperitoneal glucose tolerance test), インスリン負荷試験 (ITT; Insulin tolerance test) により行った。さらに、生後95日目に解剖を行い、 肝臓や脂肪の組織学的解析を行った。

3. 結果および考察

3-1. 仔の体重について

離乳前である生後 10 日 (P10) と生後 24 日 (P24) の仔の体重について、母親が HFS を摂取していた 群では仔の体重が有意に増加していた。また、こ の体重増加は、母親の妊娠中の GluOC 摂取によっ て回避された。

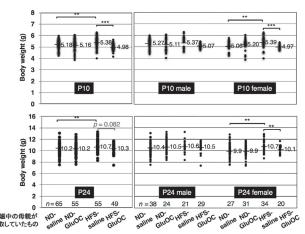


図1. 仔マウスの体重推移(離乳前)

さらに、雌雄別に見ると、この体重の傾向は、 雌の仔どもで特に顕著であった。

離乳後の仔の体重については、仔自身が ND を 摂取した場合、各群に有意な差は得られなかった。

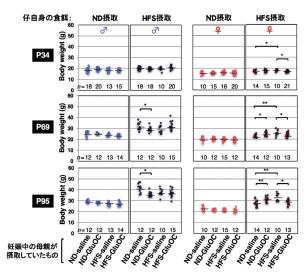


図2. 仔マウスの体重推移(離乳後)

一方、HFS 摂取群では、雄仔では、母親の妊娠中の食餌には影響を受けず、むしろ仔自身の HFS 摂取によって体重増加が認められ、その体重増加は母親マウスが妊娠中に GluOC を摂取することで抑制された。

雌仔では、母親の妊娠中の HFS 摂取で、仔マウスの体重が有意に増加し、その体重増加は母親マウスが妊娠中に GluOC を摂取していることで抑えられた。

これらの結果から、母親の妊娠中の栄養状態に加え、GluOC 摂取の有無も、仔の成熟後の健康状態に影響を及ぼしていることが示唆された。

3-2. 仔の糖脂質代謝について

妊娠期の母親の過栄養状態が、成熟後において も仔の体重増加を引き起こしたため、続いて、仔 の糖脂質代謝に着目した解析を行った。

その結果、仔の糖脂質代謝については、仔自身が ND を摂っていれば特に影響はなく、正常マウスとの有意な変化は認められなかった。一方、仔が HFS を摂取した場合には、肥満やインスリン抵抗性、耐糖能低下が認められ、さらに、この現象は、母親が、妊娠中に GluOC を摂取することで回避可能であることが分かった。

特に、母親の GluOC 摂取による顕著な変化が現れたのは脂肪組織であった。

仔に HFS を負荷している場合、母親の GluOC 摂取による仔の脂肪量の減少が顕著に認められた。 すなわち、母親の妊娠期 GluOC 摂取が、仔の将来 の肥満を回避する可能性が示唆された。

肥満とは、白色脂肪組織が過度に増殖すること、すなわち脂肪細胞の肥大と増殖が繰り返されることとも言い換えることができるため、続いて、仔の95日齢での脂肪の組織学的解析を行ったところ、母親が妊娠中にGluOCを摂取していれば、仔の脂肪細胞の面積が総じて小さい、すなわち母親の妊娠中GluOC摂取は、仔の脂肪細胞を小さいものにすることが証明された。

肥満の脂肪組織では、脂肪細胞の肥大化に伴い、免疫細胞であるマクロファージの浸潤による炎症性変化が認められることが知られている。そこで、マクロファージのマーカーとして F4/80 の発現を免疫染色で調べたところ、特に雄仔では母親が ND-saline 群で、雌仔では母親が HFS-saline 群で、マクロファージの浸潤像が多く認められ、炎症が 惹起されていることが示唆された。また、この現象は、母親マウスに妊娠中に GluOC を経口投与することで回避された。すなわち、母親の妊娠中の GluOC 摂取が、成熟後の仔の脂肪組織内炎症を抑制する効果をもっていた。

4. 結論

妊娠母体過栄養が仔に与える負の影響は、妊娠母体が GluOC を摂取することで回避された。このことから、胎盤を通過した GluOC は、何らかの作用機序を以て、発生段階の糖脂質代謝関連臓器に影響を与えていることが示唆された。

一方で、GLP-1 受容体欠損マウスを用いた同様の実験では、GluOC の世代を超えた糖脂質代謝異常の改善結果があまり認められていないことから、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回避させている可能性も示された。

さらに、GluOCへの感受性には性差が存在する ことが明らかとなった。

5. 謝辞

本研究は、ロート女性健康科学研究助成、および JSPS 科研費(24229009、26861553、26861554)の助成を受けて行われました。また、研究遂行にあたり、ご指導ご鞭撻、ご援助いただきました九州大学大学院歯学研究院 平田雅人教授、溝上顕子講師に厚く御礼申し上げます。

[文献]

- 1) Barker DJ, Osmond C: Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1986; 10: 1077-1081.
- 2) Sayer AA, Syddall HE, Dennison EM *et al*: Birth weight at 1 y of age, and body composition in older men: finding from the Hertfordshire cohort study. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 199-203.
- 3) Fall CH, Stein CE, Kumaran K *et al*: Size at birth, maternal weight, and type 2 diabetes in South India. *Diabet* Med 1998; 15: 220-227.
- 4) Drong AW, Lindgren CM, McCarthy MI. The genetic and epigenetic basis of type 2 diabetes and obesity. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92: 707-715.
- 5) Dabelea D, Crume T: Maternal environment and the transgenerational cycle of obesity and diabetes. *Diabetes* 2011; 60: 1849-1855.
- 6) Yokomizo H, Inoguchi T, Sonoda N et al: Maternal high-fat diet induces insulin resistance and deterioration of pancreatic β -cell function in adult offspring with sex differences in mice. Am J Physiol 2014; 306: E1163-E1175.
- 7) Mizokami A, Yasutake Y, Gao J *et al*: Osteocalcin induces release of glucagon-like peptide-1 and thereby stimulates insulin secretion in mice. *PLoS One* 2013; 8: e57375.
- 8) Mizokami A, Yasutake Y, Higashi S *et al*: Oral administration of osteocalcin improves

- glucose utilization by stimulating glucagon-like peptide-1 secretion. *Bone* 2014; 69: 68-79.
- 9) Oury F, Khrimian L, Denny CA *et al*: Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. *Cell* 2013; 155: 228-241.
- 10) Kawakubo-Yasukochi T, Kondo A, Mizokami A et al: Maternal oral administration of osteocalcin protects offspring from metabolic impairment in adulthood. Obesity 2016; 24: 895-907.