

Growth hormone secretagogue 受容体(GHS-R)発現抑制 トランスジェニックラットの解析

分担研究者 芝崎 保(日本医科大学第二生理 教授)

グレリンの作用機構を明らかにするため、growth hormone secretagogue 受容体(GHS-R)に対するアンチセンスを発現するトランスジェニック(Tg)ラットを用いて実験を行った。Tg ラットでは、対照ラットと比較して視床下部弓状核の GHS-R 様免疫活性が減少していた。Tg ラットでは、GHS-R 陽性の GHRH 細胞が減少していたが、GHS-R 陽性の NPY 細胞の数には変化がなかった。GHS 投与後の GH 反応は Tg ラットで有意に減弱していた。以前報告した結果と併せて、弓状核の GHS-R は GH 分泌調節、摂食行動などにおいて重要な役割を果たすことが示唆された。

A. 研究目的

growth hormone secretagogue (GHS)は一連のペプチドあるいは非ペプチド性の合成物質で、強力な成長ホルモン (GH) 分泌作用を有する⁽¹⁾。GHS は GHS 受容体 (GHS-R)を介して作用するが⁽²⁾、近年、GHS-R の内因性リガンドとして胃の抽出物よりグレリンが単離された⁽³⁾。グレリンは28個のアミノ酸からなり、3番目のセリン残基がn-オクタノイル化されたペプチドである。グレリンおよびGHSはGH分泌を促進する以外に、末梢では代謝系や循環器系に作用し、また中枢では摂食調節に関与することが報告されている^(4,5)。しかし、これらの作用機構については未だ明らかではない。我々はグレリンおよびGHSの視床下部における作用を阻害するため、視床下部の弓状核に強く発現している tyrosine hydroxylase (TH) のプロモーターを用いて⁽⁶⁾、GHS-R に対するアンチセンス mRNA を発現するトランスジェニック(Tg)ラットを作製した。ウエスタンブロット法にて GHS-R を定量したところ、Tg ラットでは、弓状核において GHS-R の発現が低下していた。Tg ラットでは対照ラッ

トと比較して生下時より低体重で、その差は12週齢まで続いていた。またTgラットでは、GHSによる摂食促進作用は欠如しており、1日摂食量も対照ラット群に比べ有意に減少していた。そこで、本年度の研究では、Tgラットの視床下部の組織学的検討、およびTgラットを用いてGHS-Rの内因性リガンドであるグレリンの作用機構を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

(1) GHS-R の免疫組織染色

以前報告したGHS-Rの第3細胞内ループに対する抗体⁽⁷⁾を用いて免疫組織染色を行った。8週齢のTgおよび対照ラットをペントバルビタールで麻酔した後、パラホルムアルデヒドで固定した。切片(30 μ m)をGHS-R抗体(1:100 dilution)で48時間インキュベートした後、ABC法を用いて染色を行った。Nickel intensified 3,3'-diaminobenzidine reaction (Sigma)を用いて発色を行った。

(2) TH の免疫組織染色

THのポリクローナル抗体(Chemicon International)

を用いて、上記と同様に免疫組織染色を施行した。抗体の濃度は1:100000で、発色はVIP substrate kit (Vector Laboratories)を用いて行った。

(3) 二重染色

以前我々が作製した抗GHRH抗体⁽⁸⁾および抗NPY抗体⁽⁹⁾を用いてGHS-RとGHRHおよびGHS-RとNPYの免疫二重染色を施行した。まず組織をGHS-R抗体にてインキュベートした後、VIP substrate kitを用いて発色、その後抗GHRH抗体(1:5000)および抗NPY抗体(1:5000)にて24時間インキュベートした後、True Blue kit (Kirkegaard and Perry Laboratories)を用いて発色した。

(4) KP-102によるGH反応

ペントバルビタール麻酔下で、8週齢のTgおよび対照ラットにGHSの1つであるKP-102を、1あるいは10 μ g/kg BW 静脈内に投与した後、GHの反応を観察した。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、日本医科大学動物実験倫理委員会に実験計画書を提出し、許可を得て行われた。

C. 研究結果

Tgラットでは、対照ラットと比較して視床下部弓状核のGHS-R様免疫活性が減少していた(図1)。以前施行したGHS-Rのウエスタンブロットでは、視床下部腹内側核のGHS-R量はTgラットと対照ラットとの間に差を認めなかったが、弓状核のGHS-R量はTgラットで減少していた。今回の免疫組織染色の結果はこのウエスタンブロットの結果と一致している。

TgラットのGHS-Rアンチセンス発現にTHのプロモータを使っているため、TH陽性細胞の数および分布に変化があるかどうか検討した。その結果、対照ラットとTgラットの間、TH陽性細胞の数および分布の差を認めなかった(図2)。

Tgラットにおける、GHRH細胞およびNPY細胞

とGHS-R陽性細胞の関係を検討するため、二重染色を施行した。図3の上段が、GHS-RとGHRH、下段がGHS-RとNPYの二重染色の結果で、A、Cが対照ラット、B、DがTgラットの結果である。矢印は、上段がGHS-RとGHRH、下段がGHS-RとNPYの両者が陽性の細胞を示している。Tgラットでは、GHS-R陽性のGHRH細胞が減少していたが、GHS-R陽性のNPY細胞の数には変化がなかった。KP-102(1 μ g/kg BW)を投与したところ、GH反応は雄雌ともTgラットで有意に減弱していた(図4)。高濃度(10 μ g/kg BW)のKP-102投与では、雌Tgラットでは対照ラットと比較してGH反応は有意に低下していたが、雄Tgラットでは差を認めなかった。

D. 考察

グレリンは視床下部の弓状核の神経細胞に存在するが、胃の内分泌細胞にも多量に存在し、また、血中にも存在することが明らかとなっている。従ってグレリンの作用は、弓状核の神経ペプチドとしての中樞作用と、胃から分泌され血中ホルモンとして働く末梢作用に分けられる。本研究で用いるGHS-R遺伝子のアンチセンスを発現するTgラットでは弓状核のGHS-R発現は低下しており、グレリン/GHSの中樞作用の一部が阻害されていると考えられる。Tgラットでは、興味のあることに、対照ラットと比較して低体重で、体重/体長比も低値であった。脂肪重量を比較したところ、Tgラットでは、体重あたりの脂肪重量が対照ラットと比較して有意に低下していた。これは他の研究施設より発表されたグレリンが脂肪組織を増加させるという事実⁽¹⁰⁾を裏付ける結果である。また、雌のTgラットでは対照雌ラットと比較して成長ホルモン(GH)の基礎分泌は有意に低下しており、拍動性GH分泌の振幅および回数も有意に減少していたが、雄Tgラットでは対照雄ラットと同様の拍動性のGH分泌を認めた。さらに今回報告した、KP-102に対するGHの反応においても、高濃度のKP-102

投与では、雄Tgラットでは対照雄ラットとの間に差を認めなかったが、雌Tgラットでは対照ラットと比較してGH反応は有意に低下していた。このように、GH分泌に関しては、Tgラットと対照ラットの違いに雌雄差が認められる。この違いに対する説明の1つとして、GHRH細胞にあるGHS-Rの関与が考えられる。GHの拍動性分泌はGHRHとソマトスタチンの周期的な分泌により調節されている⁽¹¹⁾。雄ラットにおいて、規則正しい拍動性のGH分泌は主に周期的なソマトスタチン分泌により形成される。一方、雌ラットにおいては、ソマトスタチンの分泌は一定で、不規則な拍動性のGH分泌は、GHRHの影響を受けると考えられている。このTgラットにおいては、GHRH細胞にあるGHS-Rが低下している。従ってGHRHの作用が低下し、雌ラットにおいて拍動性のGH分泌が低下している可能性がある。雌ラットにおいては、内因性のGHS-RリガンドであるグレリンがGH分泌により大切な役割を持っている可能性も考えられる。

グレリンおよびGHSは摂食促進作用があることが知られているが、そのメカニズムは明かでない。GHSの中枢投与によりNPY細胞にc-fosが発現すること⁽¹²⁾、NPYは摂食行動を促進することなどから、グレリンおよびGHSはNPYを介して摂食を促進することが想定されている。Tgラットでは、GHSによる摂食促進作用が全く欠如していた。また、今回報告した二重染色において、我々はNPY細胞にGHS-Rが存在することを確認している。しかしながら、Tgラットでは対照ラットと同様にNPY細胞に存在するGHS-Rは保たれていた。このことは、我々がプロモーターとして用いたTHが視床下部弓状核においてNPY細胞と共存しないという事実⁽¹³⁾と一致する。これらのことから、グレリンないしGHSがまず、GHS-RとTHの両者を発現する細胞に作用し、それらの細胞がNPY細胞に作用して摂食促進作用を生じさせるというメカニズムが推測される。

グレリンの同定により、GHS-R 研究は新たな局面を迎えた。GH の分泌は視床下部の成長ホルモン分泌促進ペプチド(GHRH)およびソマトスタチンにより制御されていると考えられてきたが、グレリンの発見により新たな分泌調節系の存在が明らかとなった。またグレリンは、GH の分泌調節以外にも、摂食行動の促進、循環器系への作用などが報告されている。しかし、いずれもその作用機序や病態生理的意義は不明である。我々はさらに Tg ラットを解析し、これらのメカニズムの一部を明らかにしたい。

E. 結論

Tg ラットでは、対照ラットと比較して視床下部弓状核の GHS-R 様免疫活性が減少していた。Tg ラットでは、GHS-R 陽性の GHRH 細胞が減少していたが、GHS-R 陽性の NPY 細胞の数は対照ラットと比較して変化がなかった。GHS 投与後の GH 反応は Tg ラットで有意に減弱していた。以前報告した結果と併せて、弓状核の GHS-R は GH 分泌調節、摂食行動などにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

参考文献

1. Smith R.G., Van der Ploeg L.H.T., Howard A.D., Feighner S.D., Cheng K., Hickey G., Wyvratt M., Fisher M., Nargund R., Patchett A. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev*, 18:621-645, 1997
2. Howard A.D., Feighner S.D., Cully D.F., Arena J.P., Liberatore P.A., Rosenblum C.I., Hamelin M., Hreniuk D.L., Palyha O.C., Anderson J. et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*,

- 273:974-977, 1996
3. Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangawa K.
Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402:656-660, 1999
 4. Wren A.M., Small C.J., L. W.H., Murphy K.G., Dakin C.L., Taheri S., Kennedy A.R., Roberts G.H., Morgan D.G., Ghatei M.A. et al.
The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology*, 141:4325-4328, 2000.
 5. Okada K., Ishii S., Minami S., Sugihara H., Shibasaki T., Wakabayashi I.
Intracerebroventricular administration of the growth hormone-releasing peptide KP-102 increases food intake in free-feeding rats. *Endocrinology*, 137:5155-5158, 1996.
 6. Banerjee S.A., Roffler-Tarlov S., Szabo M., Frohman L., Chikaraishi D.M.
DNA regulatory sequences of the rat tyrosine hydroxylase gene direct correct catecholaminergic cell-type specificity of a human growth hormone reporter in the CNS of transgenic mice causing a dwarf phenotype. *Mol. Brain Res*, 24:89-106, 1994.
 7. Shuto Y., Shibasaki T., Wada K., Parhar I., Kamegai J., Sugihara H., Oikawa S., Wakabayashi I.
Generation of polyclonal antiserum against the growth hormone secretagogue receptor (GHS-R): evidence that the GHS-R exists in the hypothalamus, pituitary and stomach of rats. *Life Sci*, 68:991-996, 2001.
 8. Yamauchi N., Shibasaki T., Ling N., Demura H.
In vitro release of growth hormone-releasing factor (GRF) from the hypothalamus: somatostatin inhibits GRF release. *Regul. Pept*, 33:71-78, 1991
 9. Shibasaki T., Oda T., Imaki T., Ling N., Demura H.
Injection of anti-neuropeptide Y gamma-globulin into the hypothalamic paraventricular nucleus decreases food intake in rats. *Brain Res*, 601:313-316, 1993
 10. Tschöp M., Smiley D.L., Heiman M.L.
Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407:908-913, 2000
 11. Robinson I.C.A.F.
The growth hormone secretory pattern: a response to neuroendocrine signals. *Acta Paediatr Scand*, [Suppl]. 372:70-78, 1991
 12. Kamegai J., Hasegawa O., Minami S., Sugihara H., Wakabayashi I.
The growth hormone-releasing peptide KP-102 induces c-fos expression in the arcuate nucleus. *Mol Brain Res*, 39:153-159, 1996
 14. Everitt B.J., Hökfelt T., Terenius, L., Tatemoto K., Mutt V., Goldstein M.
Differential co-existence of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat. *Neuroscience*, 11:443-462, 1984
- G. 研究発表
1. 論文発表
 - ① Kim K., Arai K., Sanno N., Osamura R. Y., Teramoto A., Shibasaki T.
Ghrelin and growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHSR) mRNA expression in human pituitary adenomas. *Clin Endocrinol*, 54:759-768, 2001
 - ② Arai K., Kim K., Kaneko K., Iketani M., Otagiri A., Yamauchi N., Shibasaki T.
Nicotine infusion alters leptin and uncoupling protein 1 mRNA expression in adipose tissues of

rats.Am J Physiol Endocrinol Metab
280:E867-E876. 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

小田切あすか

(日本医科大学第二生理・助手)

周東祐仁

(日本医科大学第三内科・助手)

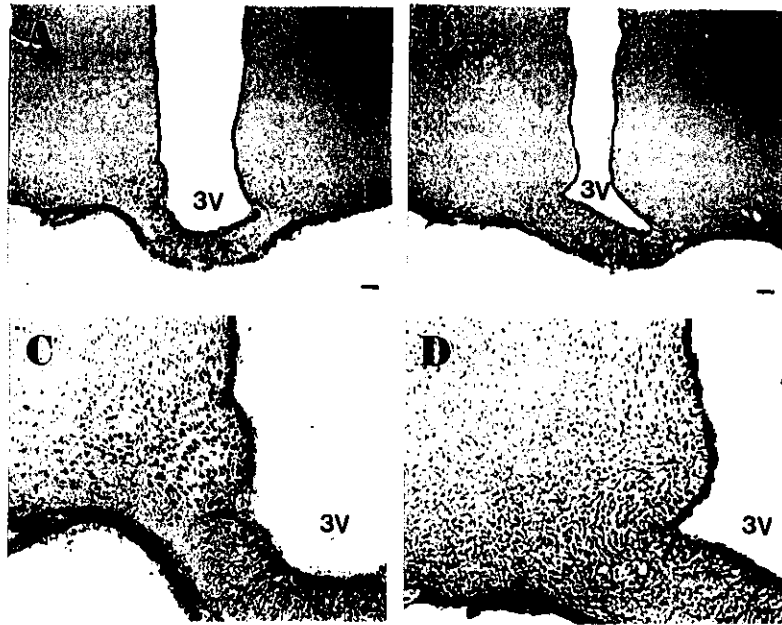


図1 GHS-R免疫組織染色

A : 対照ラット (低倍率)、B : Tgラット (低倍率)、C : 対照ラット (高倍率)、D : Tgラット (高倍率)

Scale bars: 60 μ m (A, B), 24 μ m (C, D)

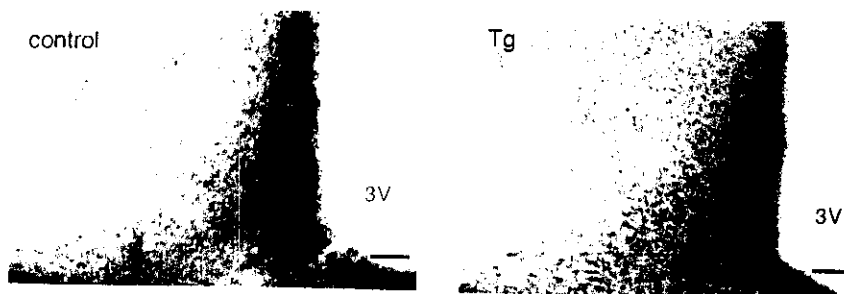


図2 TH免疫組織染色

3V: third ventricle. Scale bars: 40 μ m.

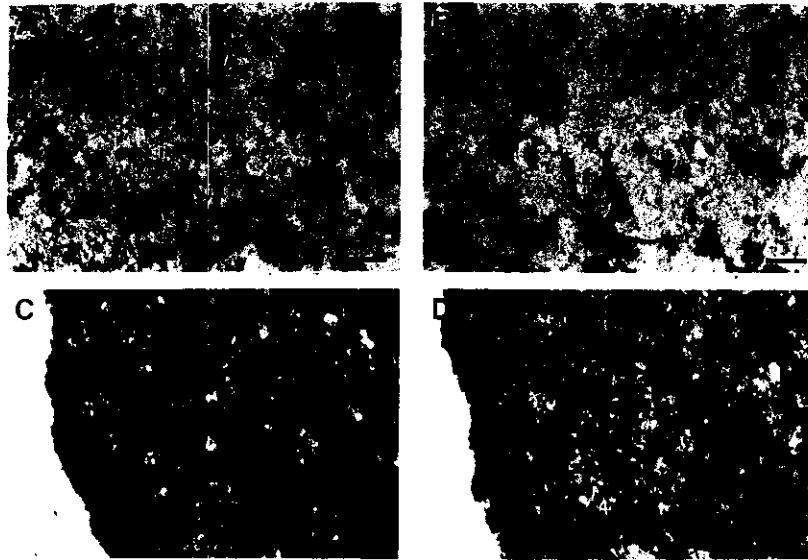


図3 二重免疫組織染色

A,B : GHS-R (紫) と GHRH (灰色) の二重染色。A : 対照ラット、B : Tg ラット

C,D : GHS-R (紫) と NPY (灰色) の二重染色。A : 対照ラット、B : Tg ラット

Scale bars: 10 μ m.

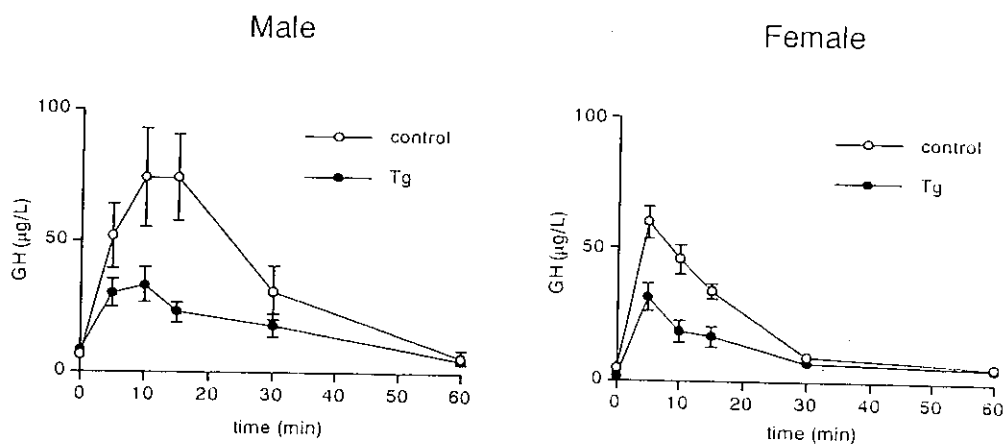


図4 KP-102(1 μ g/kg)に対する GH の反応

卵巣機能におけるグレリンの意義に関する研究

分担研究者 宮本 薫(福井医科大学第二生理学 教授)

卵巣機能は、GH や IGF-I などによっても大きな影響を受けていることは良く知られている。本研究では卵巣機能におけるグレリンの役割を、ラット卵巣顆粒膜細胞を用いた初代培養系で明らかにする。昨年度、基礎研究として、ラット卵巣顆粒膜細胞を用いてサブトラクショナルクロニングを行い卵胞発育に重要な遺伝子群を多数クロニングし、DNA マイクロアレイを作成した。また卵巣顆粒膜細胞にグレリン受容体が発現していることを明らかにしている。本年度は、卵巣顆粒膜細胞におけるグレリンの直接あるいは間接作用を、DNA マイクロアレイを用いて解析した。

A. 研究目的

卵巣の機能は、基本的には脳下垂体からのゴナドトロピン分泌により調節を受けている。しかし、このゴナドトロピンの卵巣に対する作用は、様々な因子により修飾され微妙にコントロールされている。グレリンは脳下垂体からの GH 分泌を促進する生理活性ペプチドホルモンとして同定されたが、末梢においては様々な直接作用を行っている可能性が示されている。一つにはグレリンの受容体が下垂体前葉ばかりでなく、様々な組織に発現していることがあげられる。私どもは卵巣顆粒膜細胞にグレリン受容体の遺伝子発現がみられることを明らかにしている。また、卵巣顆粒膜細胞の分化増殖に、IGF-I が重要な役割を果たすことが知られている。私どもは IGF-I が、ゴナドトロピン特に FSH と共同で卵巣顆粒膜細胞の分化を著しく促進する事を明らかにした。卵巣顆粒膜細胞の分化の指標ともなっている LH 受容体の発現は IGF-I 単独では促進されないものの FSH との同時投与により、受容体発現が著しく促進される。また FSH 受容体に関しても、IGF-I は FSH と共同でその発現

を大きく増大させる。本研究では、卵巣顆粒膜細胞での IGF-I の作用に関連して、グレリンが卵巣顆粒膜細胞からの IGF-I の合成と分泌に影響を与えるのかどうか、またグレリンと IGF-I の共同作用がみられるかどうかをチェックしたい。またグレリンは神経細胞では、NGFI-A の遺伝子発現を惹起すると報告されているが、卵巣においても NGFI-A をはじめとする増殖分化に関連する転写因子群がグレリンによって誘導されるかどうかにも興味ある点である。本研究ではサブトラクショナルクロニングにより卵胞発育に重要な遺伝子群を多数クロニングし、それらを用いて DNA マイクロアレイを作成し、グレリンによって誘導もしくは抑制される卵巣性の遺伝子群を同定する。

B. 研究方法

卵巣顆粒膜細胞に対するグレリンの作用を検討するため、以下の実験を行った。グレリンによって卵巣顆粒膜細胞でどのような遺伝子発現の変化が生じるかを明らかにするため、DNA マイクロアレイの作成を行った。ラット卵

巣顆粒膜細胞初代培養系を用いゴナドトロピン投与によって誘導もしくは抑制される遺伝子群をサブトラクショナルクローニングにより、6000クローン以上単離した。これらのクローンをスライドガラス上にスポットし、ラット卵巢顆粒膜細胞でゴナドトロピンにより誘導もしくは抑制される cDNA をもとにした DNA マイクロアレイを作成した。これらはグレリンによって卵巢顆粒膜細胞でどのような遺伝子発現の変化が生じるかを明らかにするために用いた。本年度は、このようにして調製したマイクロアレイを用いて、卵巢顆粒膜細胞をグレリンにより刺激した後、コントロールとして用いた無処理の卵巢顆粒膜細胞とともにそれぞれ、mRNA を抽出した。抽出した mRNA をそれぞれ、Cy3、Cy5 で標識された dUTP を用いて逆転写酵素によりラベルし、DNA マイクロアレイとハイブリダイゼーションした。マイクロアレイスキャナーにより、標識されたプローブとハイブリダイズした cDNA クローンを検出し、グレリン誘導性もしくは抑制性の遺伝子群を同定した。

卵巢顆粒膜細胞は、卵胞の発育に伴って増殖分化する細胞系である。原始卵胞では顆粒膜細胞上には FSH 受容体のみが発現しているが、ゴナドトロピン刺激により顆粒膜細胞上に LH 受容体が発現してくる。In vitro の様々な条件下で卵巢顆粒膜細胞に発現する FSH 受容体、および LH 受容体を Northern プロットにより定量した。特に IGF-I の投与による FSH 受容体、および LH 受容体の発現変化を Northern プロット、核ランオンアッセイ、mRNA degradation assay 等を用いて詳細に検討した。

(倫理面への配慮)

ラット卵巢顆粒膜細胞の初代培養をおこなうため、幼若雌ラットを用いたが、ラットの取り扱い、屠殺は NIH のガイダンスに基づき動物愛護の精神に反しないように取り行った。

C. 研究結果

グレリンの卵巢に対する直接作用を解析するため、ラット卵巢顆粒膜細胞に発現する遺伝子から構成される DNA マイクロアレイの作成を行った。卵巢顆粒膜細胞の増殖分化に関連する遺伝子群をピックアップするため、サブトラクショナルクローニングを行った。卵巢顆粒膜細胞をゴナドトロピンにより刺激した後、コントロールとして用いた無処理の卵巢顆粒膜細胞とともにそれぞれ、mRNA を抽出し逆転写酵素により cDNA を合成した。ハイブリダイゼーションにより、ゴナドトロピン処理を行った細胞からの cDNA からコントロールの細胞からの cDNA を差し引くことで、ゴナドトロピン誘導性の遺伝子群のサブトラクショナルクローニングを行った。一方、同様な手法でコントロールの細胞の cDNA からゴナドトロピン処理を行った細胞の cDNA を差し引くことで、ゴナドトロピン抑制性の遺伝子群のサブトラクショナルクローニングを行った。それぞれ T-ベクターに組み込んだプラスミドライブラリーを作成し、約 3000 クローンを単離した。それぞれのクローンを PCR によりインサートだけを増幅したのち、マイクロアレイヤーを用いてスライドガラスに 1 枚あたり 6000 ドットの割合でスポットングし DNA マイクロアレイを作成した。現在、グレリンにより刺激した細胞およびコントロールとして用いた無処理の細胞からそれぞれ mRNA を抽出し、Cy3、Cy5 で標識された dUTP を用いてマイクロアレイスキャナーによりグレリン誘導性もしくは抑制性の遺伝子群の同定を進めている。この DNA マイクロアレイを用いて、卵巢顆粒膜細胞の分化増殖に関連した遺伝子群の中から、グレリン投与によって影響を受ける因子群をピックアップすることで卵巢に対するグレリンの直接作用が明らかになるものと期待される。DNA マイクロアレイの結果、グレリン誘導性、及び抑制性の卵巢性遺伝子候補をそれぞれ数クローン

ずつ単離している。これらの塩基配列の解析の結果からそれぞれのクローンの同定を行った。

一方グレリンの卵巣に対する作用は IGF-I を介して行われる可能性も大きい。グレリンの卵巣に対する作用を解析する上 IGF-I の卵巣における役割の解析も重要である。昨年度に引き続き、本研究では、LH 受容体および FSH 受容体遺伝子発現に対する IGF-I 影響を検討した。ラット卵巣顆粒膜細胞初代培養系に対し、IGF-I は単独ではこれらの受容体を誘導する事はできない。しかし FSH あるいは 8Br-cAMP と同時投与すると、IGF-I はこれらの受容体遺伝子の発現を著しく増大させることが Northern ブロットにより明らかとなった。核ランオンアッセイによる検討では、IGF-I はこれらの受容体 mRNA を転写レベルで増加させていないことが判明した。一方、これらの受容体 mRNA の安定性をその半減期を利用して調べたところ、IGF-I はこれらの受容体遺伝子の mRNA の安定性を増大することでその発現を著しく増大させている事が明らかとなった。またこの受容体遺伝子の発現は、極めて低濃度のダイオキシンによっても著しく抑制されることから、様々な情報伝達系を介して厳密に調節されていることが明らかとなった。グレリンは神経細胞では、NGFI-A の遺伝子発現を惹起すると報告されているが、卵巣においても NGFI-A は卵巣顆粒膜細胞の増殖分化に伴って急激に誘導される。本研究では卵巣における NGFI-A の発現調節を分子生物学的手法に基づいて解析した。ルシフェラーゼアッセイを用いた解析で、マウス Leydig 細胞由来細胞株 MA10 及びゴナドトロピン処理により分化した卵巣顆粒膜細胞では NGFI-A は LH 受容体の発現を特異的に誘導した。この LH 受容体に対する NGFI-A の作用は、LH 受容体遺伝子上流に存在する 2 カ所の NGFI-A 結合サイトによることが、site directed mutagenesis により確認された。一方 NGFI-A 自身の発現は、マウス Leydig 細胞由来

細胞株 MA10 及びゴナドトロピン処理により分化した卵巣顆粒膜細胞では cAMP を介した刺激により 15 分以内に急激に誘導されるが、一方未分化の卵巣顆粒膜細胞では cAMP の刺激によっても全く誘導されない。未分化の卵巣顆粒膜細胞では LH 受容体は発現しておらず、NGFI-A が LH 受容体の発現に重要であることと良い相関を示した。卵巣においてグレリンが NGFI-A の発現を誘導すれば、LH 受容体の発現などの卵巣機能に直接関与する事が推定される。

D. 考察

グレリンの主たる産生部位は胃であることから、その作用が卵巣に及ぶかどうかは議論のあるところである。私どもの検討でも、卵巣顆粒膜細胞におけるグレリンの産生は、極めて低いものであった。一方、本研究ではグレリン受容体の遺伝子発現がラット卵巣顆粒膜細胞で確認されたことから、卵巣顆粒膜細胞にグレリンが作用するとすれば、周辺細胞からのパラクリン作用、もしくは血流を介したホルモン作用によるものと推測された。グレリンは脳下垂体からの GH 分泌を促進する生理活性ペプチドホルモンとして同定されたが、末梢においては様々な直接作用を行っている可能性が示されている。グレリン受容体は 7 回膜貫通型の G 蛋白質結合受容体であり、その細胞内情報伝達は 2 次メッセンジャーを介する細胞刺激作用と思われる。卵巣機能は、基本的には脳下垂体からの卵巣刺激ホルモンおよび黄体刺激ホルモンによる、cAMP を介した刺激作用に依存している。グレリン受容体もこの情報伝達系に深く関与することからも、グレリンの卵巣機能に対する修飾作用が示唆される。神経系では細胞刺激により早期に誘導される転写因子である NGFI-A や Myc 遺伝子がグレリンによって誘導されることが報告されている。卵巣においても NGFI-A は卵巣顆粒膜細胞の増殖と分化に深く関わっている。

本研究ではグレリンの卵巢直接作用を検証するため、NGFI-A の卵巢における役割を検討した。NGFI-A は卵巢機能に必須の LH 受容体の発現に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。NGFI-A の発現は直接 LH 受容体の発現に結びついており、グレリンが NGFI-A を介して卵巢の LH 受容体の発現に関与することが示唆された。またグレリンの間接作用として、GH 及び IGF-I を介して卵巢機能に影響を与える可能性が考えられることから、卵巢に対する IGF-I の作用を解析した。IGF-I は卵巢顆粒膜細胞でのゴナドトロピン受容体の遺伝子発現を、それらの mRNA の安定性を増加させることで高めることが明らかとなった。これはグレリンが間接的に卵巢機能分化を促進していることを示唆している。

E. 結論

卵巢での卵胞成熟、分化はゴナドトロピンとともに、IGF-I が深く関与している。卵巢におけるグレリンの作用は、直接作用および IGF-I-GH 系を介した間接的な作用とが想定される。本研究では、卵巢におけるグレリンの役割について、基礎的な検討を行った。直接作用に関しては、グレリン受容体は卵巢顆粒膜細胞に発現していることを初めて明らかにし、その可能性を示唆した。一方グレリン自身の遺伝子発現は卵巢顆粒膜細胞には見られず、卵巢に対する直接作用はパラクリンあるいはホルモン作用であることが予想された。グレリンの間接作用として、卵巢機能における IGF-I の役割を明らかにし、IGF-I-GH 系の関与が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Mizutani T., Yamada K., Yazawa T., Okada T., Minegishi T., Miyamoto K.
Cloning and characterization of gonadotropin inducible ovarian transcription factors (GIOT1 and 2) that are novel members of the (Cys)₂-(His)₂-type zinc finger protein family.
Mol. Endocrinol. 15, 1693-1705.2001
- ② Yamada K., Mizutani T., Shou Z., Yazawa T., Sekiguchi T., Yoshino M., Inazu T., Miyamoto K.
Cloning and functional expression of an E box-binding protein from rat granulosa cells.
Biol. Reprod. 64, 1315-1319. 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

グレリンの下垂体および甲状腺機能調節における意義

分担研究者 山下俊一(長崎大学医学部原爆後障害医療研究施設 教授)

1. 各種内分泌疾患におけるグレリンの変動
2. 胃切除手術・術後症状におけるグレリン及び関連ホルモンの動態
3. グレリンの活性発現におけるカロリー制限、成長ホルモン抑制の影響

A. 研究目的

1. 今回我々は、内分泌疾患におけるグレリンの意義を解明するため、インスリノーマの症例における術前、術後のグレリンの変動について調査を行った。さらに、グレリンの主産生部位である胃における腫瘍でのグレリン産生の関与の解明を目的として、胃がん摘出標本におけるグレリンの免疫染色を行った。
2. 胃切除後の患者で、食欲が低下し、体重減少をきたすことはよく知られているが、これまでは切除に伴う消化吸収障害がその主な原因と考えられてきた。しかしながら、グレリンが、主に胃から分泌されること、そして食欲亢進作用を示すことから、この病態に関与している可能性が考えられる。今回は、胃切除後のグレリンの血中動態を明らかにすることによって、胃切除後症例の病態におけるグレリンの関与を検索した。
3. グレリンの活性発現には、3番目のセリン残基のn-オクタン酸によるO-アシル化が必須である。このn-オクタノイル化に対するカロリー制限、成長ホルモン抑制の影響を明らかにした。

B. 研究方法

1. 症例よりインフォームドコンセントを得た後に、手術前、後で血漿、血清を採取し、グレリン濃度を測定した。同時に関連するホルモンについても同様の検索を行った。また、グレリン濃度から胃での産生亢進が疑われる症例については、摘出標本を用いて免疫染色を行った。
2. 胃切除予定症例より、インフォームドコンセントを得た後に、術前採血の際に、血漿、血清を抽出し、グレリン、IGF-1、GH、レプチン等の測定を行った。術後同様の採血を1W後、2W後、1M後、2M後にそれぞれ行った。さらにこの際、BMIによって体重の変化を評価すると同時に、問診にて食事摂取量の評価を行った。
3. C-末端部認識抗体を用いたRIA法(C-RIA)およびN-末端のアシル化領域認識抗体によるRIA法(N-RIA)により、カロリー制限ラット、GH抑制ラットにおける血漿グレリン濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究においてヒトを対象とした研究を行うに際しては、当施設で定められた臨床研究の規定に従って行った。また、実験動物を用いた研究では、実験動物飼養及び保管に関する基準、

当施設における実験動物委員会の指針に基づき、実験動物愛護を配慮して行った。

C. 研究結果

1. 術前において、GH 5.8, PRL 2105.8, IGF-1 1072.2, Gastlin 700 と各ホルモンが高値を示した。しかし、グレリンの値は術前、術後とも正常であり、本症例の Insulinoma の病態におけるグレリンの関与は否定的であった。
2. 現在、胃がん症例におけるグレリン及び関連ホルモンをフォローアップ中である。
3. C-RIA により、血漿グレリン濃度は、カロリー制限、特に摂食量が少ない時間帯(CR2)で増加していることを確認した。GH の中等度の抑制(F1)による有意な影響は検出できなかった。N-RIA では、対照 Wistar ラットで、カロリー制限下で餌がある時期(CR1)でグレリン濃度が減少した。GH 抑制ラットでは、カロリー制限による有意な変化は検出できなかった。

D. 考察

1. これまでの報告で、グレリンは、主に胃の粘膜下層の内分泌細胞(A-like 細胞、または X 細胞)から分泌されることがわかっている。しかし、最近になって、Volante らは、膵臓の Insulinoma、Gastrinoma、VIPoma といった内分泌腫瘍におけるグレリンの発現を観察し、免疫染色では 11/28(39%)の症例でグレリンの発現が見られたと報告している。グレリンの発現は、ホルモン分泌のタイプや組織系には特に依存しておらず、また正常膵のβ細胞でも発現が見られたとしている。今回、我々が preliminary study として行った Insulinoma の症例では血中のグレリンの上昇は見られなかったが、今後症例の積み重ねによって、グレリンの内分泌腫瘍における関与を明らかにできると期待される。

2. 本テーマについては現在各症例をフォローアップ中であり、今後、胃がん症例におけるグレリン及び関連ホルモンの推移を追跡調査することによって、胃切除後の体重の減少におけるグレリン及び関連ホルモンの関与を明らかにする。
3. 検体数が少ないため断定できないが、n-オクタノイル化に対するカロリー制限の影響があることが示唆された。特に、限られた食餌を摂食した時間帯(CR1)において活性型グレリン濃度が低下するが、食餌がほとんど残されていない時期(CR2)では、対照の自由摂食群(AL)のレベルまで回復することが示唆された。GH 抑制の効果についてはさらに検討が必要である。これまでの報告から、グレリンはエネルギー代謝の制御に関連していることが示されている。我々の研究からも、カロリー制限により、グレリンの血中濃度および n-オクタノイル化が変化することが示された。カロリー制限によるエネルギー代謝の変化(適応)によって老化遅延効果が現れるという仮説があるが、グレリンはこの変化に関連する重要な因子であるかもしれない。カロリー制限モデルを用いた今後の検討が必要である。

E. 結論

1. 今後の症例の積み重ねによって、内分泌疾患、特に内分泌腫瘍におけるグレリンの関与を明らかにしていく。
2. 今後、胃がん症例におけるグレリン及び関連ホルモンをフォローアップすることによって、胃切除後の体重の減少におけるグレリン及び関連ホルモンの関与を明らかにする。
3. n-オクタノイル化に対するカロリー制限の影響が示唆された。特に、限られた食餌を摂食した時間帯(CR1)において活性型グレリン濃度が低下するが、食餌がほとんど残されていない時期(CR2)では、対照の自由摂食群(AL)の

レベルまで回復することが示唆された。

hormone-insulin-like growth factor-1 axis in a transgenic rat model. Am J Pathol, in press

F. 健康危険情報

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

研究協力者

下川 功(長崎大学医学部・教授)

- ①Hamasaki K., Nakashima M., Naito S., Akiyama Y., Ohtsuru A, Hsu C, Ito M, Sekine I.
The sympathetic nervous system promotes carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis by suppressing apoptosis and enhancing the growth kinetics of regenerating rat hepatocytes.
J Gastroenterology, 36: 111-120, 2001
- ②Nakayama T., Ito M., Ohtsuru A., Naito S., Nakashima M., Sekine I.
Expression of the Ets-1 proto-oncogene in human colorectal carcinoma. Modern Pathol, 14: 415-422, 2001.
- ③Mitsutake N., Namba H., Shklyayev S., Tsukazaki T., Ohtsuru A., Ohba M., Ayabe H., Yamashita S.
PKC δ mediates ionizing radiation-induced activation of c-Jun NH2-terminal kinase through MKK7 in human thyroid cells. Oncogene, 20: 989-996, 2001
- ④Shimokawa I., Higami, Y.
Leptin and anti-aging action of caloric restriction. J Nutrition, Health & Aging, 5 (1): 43-48, 2001
- ⑤Shimokawa I., Higami Y.
Leptin signaling and aging: insight from caloric restriction. Mech Ageing Dev, 122: 1511-1519, 2001
- ⑥Shimokawa I.
Caloric restriction and Longevity. Geriatrics & Aging, 4: 22-23, 2001
- ⑦Shimokawa I., Higami Y., Utsuyama M., Tuchiya T., Komatsu T., Chiba T., Yamaza H.
Lifespan extension by reduction in growth

加齢モデル動物およびヒトにおけるグレリンの生理的意義

分担研究者 島津 章(国立京都病院臨床研究部 部長)

加齢における機能的 GH 分泌不全状態に対して GH および GH 分泌刺激剤やグレリンによる治療の可能性が考えられる。欧米における抗加齢療法の現況を調査し、その理論的背景を検討した。GH が加齢により分泌低下すること、正常の老化過程と成人 GH 欠損症の症状に類似性があること、加齢による身体・精神機能低下に GH 欠乏が一部関与するとの仮定から、加齢に対する GH 療法が位置付けられる。米国では形成外科を中心に浸透している。健康な高齢者に対する GH 療法は副作用が強く明確な効果は期待できないが、身体機能低下から自立できない虚弱な高齢者に対し GH 療法は効果が期待する。フィードバック機構により過剰作用を避けうる点から GH そのものより GH 分泌刺激剤の方が有用と考えられる。

A. 研究目的

高齢により、運動精神機能は低下し、機能低下が進むほど、看護・ケアが必要となる。運動精神機能の喪失は疾病の増加に関連し、体構成の変化は有病率の増加につながると考えられる。下垂体前葉から分泌される成長ホルモンの分泌は、思春期中期にピークがあり、以後加齢とともに進行性に低下し、60 歳代では思春期の分泌量の 4 分の 1 か 5 分の 1 と大幅に減少する。これはソマトポーズと呼ばれ、機能的な成長ホルモンの分泌不全状態である。高齢者における成長ホルモン分泌は、器質的病変を有する成人成長ホルモン欠損症や小児期発症の成長ホルモン単独欠損症と同様であり、成長ホルモン分泌の低下が、除脂肪体重の減小と体脂肪量、特に内臓脂肪の増加に関連することは明白である。抗加齢療法として成長ホルモン治療が加齢に伴う身体機能を制御できるかどうか注目が集まっている。

一方、寒川、児島らにより胃から単離された

新規成長ホルモン分泌促進ペプチド・グレリンは、強力な成長ホルモン分泌促進作用を有し、新しい成長ホルモン分泌調節機構を担っている。加齢に対する成長ホルモン分泌促進剤やグレリンによる治療の可能性を探るため、本研究では、欧米における抗加齢療法の現況を調査し、その背景について検討した。

B. 研究方法

2001 年 10 月 17 日～10 月 20 日に米国フロリダ州クリアウォータービーチ市で開催された「加齢に対する内分泌療法：成長ホルモン」に関する国際研究集会に出席し、加齢・老化が内分泌系に及ぼす影響から老化の基礎的、臨床的側面に至るまで、現在までの知見を総括し最新の情報を収集した。

シンポジウムは、内科医、科学研究者、看護婦、薬剤師などの医療専門家で、内分泌学、老化学、老年医学、内科、家庭医学の分野を専攻した参加者に対して、①老化に対して成長ホル

モン療法を考慮する根拠について評価できる、
②老化に対する成長ホルモン使用に関連した現在の基礎的および臨床的研究を解説できる、③健康な高齢者に対する成長ホルモン治療に関する期待、効果、安全性、倫理的諸問題について評価できる、ことが到達目標とされた。

(倫理面への配慮)

実験動物に対する動物愛護上の配慮は、京都大学実験動物取扱細則に準拠した。

C. 研究結果およびD. 考察

12 週齢の若齢ラットにおいて、グレリン、KP-102、GHRH はいずれも 15 分に頂値を有する強力な成長ホルモン分泌促進作用を示した。1 μ g/kg 体重の用量が最小閾値と考えられた。用量依存関係は GHRH ではやや不明瞭であったが、グレリン、KP-102 とともに明らかであり、10 μ g/kg 体重投与でほぼプラトーに達した。成長ホルモン分泌の力価を比較するとグレリン=KP-102>GHRH の順であった。

一方、48 週齢のラットにおいて GHRH による成長ホルモン分泌促進作用には著しい個体差が観察された。また成長ホルモン総分泌量も若齢ラットに比較して明らかに減弱していた。グレリンおよび KP-102 静脈内投与による成長ホルモン分泌は GHRH と比較すると比よく保たれており、用量依存関係が明らかであった。12 週齢および 48 週齢ラットともに、グレリン、KP-102、GHRH 静脈投与による明らかな行動変化は今回の検討ではみられなかった。

E. 結論

12 週齢および 48 週齢のラットを用い、インビボにおいてグレリン静脈内投与による成長ホルモン分泌促進作用を GHRH および KP-102 と比較検討した。グレリンは GHRH とは明らかに異なり老化にともなう成長ホルモン分泌不全の影響を受けにくいと結論された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

①Consensus: Critical evaluation of the safety of recombinant human growth hormone administration: Statement from the Growth Hormone Research Society. J Clin Endocrinol Metab, 86: 1868-1870, 2001

②Tanaka T., Hanew K., Nishi K., et al.

Final height of growth hormone (GH)-treated short children registered at the Foundation for Growth Science in Japan: comparison between the pituitary human GH era and the recombinant human GH era. Clin Pediatr Endocrinol, 10: 53-62, 2001

③Hataya Y., Akamizu T., Takaya K., Kanamoto N., Ariyasu H., Saijo M., Moriyama K., Shimatsu A., Kojima M., Kangawa K., Nakao K.

A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. J Clin Endocrinol Metab, 86: 4552-4555, 2001

④Ariyasu H., Takaya K., Tagami T., Ogawa Y., Hosoda K., Akamizu T., Suda M., Koh T., Natsui K., Toyooka S., Shirakami G., Usui T., Shimatsu A., Doi K., Hosoda H., Kojima M., Kangawa K., Nakao K.

Stomach is a major source of circulating ghrelin and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. J Clin Endocrinol Metab, 86: 4753-4758, 2001

⑤Kanamoto N., Akamizu T., Hosoda Y., Hataya Y., Ariyasu H., Takaya K., Hosoda K., Saijo M., Moriyama K., Shimatsu A., Kojima M., Kangawa K., Nakao K.

Substantial production of ghrelin by a human

medullary thyroid carcinoma cell line. J Clin
Endocrinol Metab, 86: 4984-4990,2001

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

グレリンのエネルギー代謝調節機序に関する研究

分担研究者 中里雅光(宮崎医科大学第三内科 講師)

グレリンは、消化管と視床下部で産生され、末梢と中枢投与でGH分泌を促進するペプチドである。今回、グレリンの分泌動態、ヒトの肥満とやせにおける血漿濃度の変動、膵臓における局在とインスリン分泌への影響ならびに担癌体カヘキシアモデルに対する治療効果について解析した。グレリンによる新たなエネルギー代謝調節機構を明らかにした。

A. 研究目的

オーファン受容体であった成長ホルモン分泌促進因子受容体の内因性リガンドとしてヒトとラットの胃から発見されたグレリンは、強力な成長ホルモン分泌活性に加え、摂食亢進や体重増加、消化管機能調節などエネルギー代謝調節に重要な作用を持つ。グレリン細胞は、既知の消化管ホルモン産生細胞とは異なる新たな内分泌細胞で、胃で2番目に多い内分泌細胞で主として産生される。グレリン受容体は心臓、下垂体、消化管を初め、全身臓器で発現している。グレリンはまた、脳視床下部でも産生され、下垂体からの成長ホルモンの分泌や他の神経ペプチドの調節を介して、循環器を含め多くの臓器に対し生理作用を有していることが明らかになりつつある。グレリンは、脳内の交感・副交感神経に対する *neuromodulator* としても作用しており、全身のエネルギー代謝調節や摂食にも機能している。グレリンは、さらに視床下部室傍核の自律神経中枢や脳幹部のノルアドレナリンセンターへも投射し、循環器の生理や病態と深く結びついていることが示唆されている。新規生理活性ペプチドであるグレリンの生理作用を解析し、病態との関連を明らかにすることは意義深いと考えられる。本研究では、主にグレリン

のエネルギー代謝作用に関する基礎・臨床的研究を行った。

グレリンは胃から膵島β細胞ルートを経てインスリン分泌を調節している可能性が示唆される。本研究ではさらに、(1)グレリンのインスリン分泌とβ細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_c$)に対する作用を検討し、(2)膵島細胞におけるグレリン受容体の発現ならびにグレリンの局在もについても検討した。グレリンの摂食亢進作用は、アノレキシア-カヘキシア症候群への適応が期待されている。われわれはすでに、ヒトメラノーマ細胞(SEKI細胞株)をヌードマウスに移植すると、カヘキシアがおこることを確認している。グレリンのエネルギー同化作用がカヘキシアモデルマウスにおける摂食低下と体重減少に対しても有効であるかについても検討した。

B. 研究方法

健常者、摂食障害者、単純肥満者および糖尿病患者において空腹時血漿グレリン濃度と体格比(BMI, 体重÷身長÷身長)との関連を検討した。早朝空腹時、健常者18名に75g経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)を、また9名に10g経静脈ブドウ糖負荷試験(IVGTT)を施行した。合併症のない糖尿病患者7名に食事負荷試験を施行した。血

漿グレリン濃度は既報のRIA法により測定した。

ラット分離膵島からインスリン分泌をELISAにより測定し、グレリンの効果とそのグルコース依存量を調べた。ラット膵島からβ細胞を単離し $[Ca^{2+}]_c$ をfura-2蛍光画像解析にて測定し、グレリンの作用を調べた。ラット膵島におけるグレリン蛋白の発現を免疫染色化学により調べた。ラット膵島におけるグレリン受容体のmRNAの発現をRT-PCRにより調べた。6週齢BALB/c-*nu/nu* miceの背部皮下にSEKIまたはG361細胞あるいはメディウムを注入し、体重、摂餌量および癌重量を毎日計測した。SEKIまたはG361移植群の体重が減少した直後から合成ヒトグレリン(3 nmol/マウス)あるいは生食を1日2回腹腔内投与し、計6群を解析した。投与7日目に組織を採取し、胃グレリンペプチド量をRIA法で、mRNA発現をノーザン解析にて検討した。血漿中の遊離脂肪酸濃度を酵素法にて、レプチンと白血病抑制因子(LIF)濃度をELISA法で定量した。さらに胃と子宮周囲の白色脂肪を摘出し、重量の変化を測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、日本生理学会ならびに宮崎医科大学動物実験施設の定める動物実験に関するガイドラインに基づいて行い、臨床例からのサンプル採取に際しては、必ず本人の書面による同意のもとに行っており、倫理的問題はない。

C. 研究結果

空腹時のヒト血漿グレリン濃度は、C端抗体を用いたラジオイムノアッセイでは、 148 ± 28 fmol/mlで、脂肪酸化された生物活性のあるグレリン分子だけを測定できるN端抗体を用いたRIAでは 5.4 ± 1.4 fmol/mlであった。健常者、摂食障害者、単純肥満者においてBMIが増加するにつれて空腹時血漿グレリン濃度は有意に低下した($R = -0.77, P < 0.0001$)。単純性肥満患者の血漿グレリン濃度は正常体重の健常群より

低く、神経性食欲不振症を持った患者の血漿グレリン濃度は、より高値であった。糖尿病患者でも同様にBMIとグレリン濃度は逆相関した($R = -0.47, P < 0.005$)。2型糖尿病肥満患者の空腹時血漿グレリン濃度は健常群より低く、痩せた患者のそれは健常群より高かった。75gOGTTにて血糖の上昇に伴い、グレリンは前値の66%に低下した($P < 0.0001$)。経口水分摂取では血漿グレリン濃度は変化しなかった。10gIVGTTでは血糖値の上昇に伴い、血漿グレリン濃度は低下し、糖尿病患者で食事負荷後、血糖値の上昇とグレリン濃度は逆相関し、インスリン濃度と逆相関した($R = -0.40, P < 0.05$)。ヒト血漿グレリン濃度は、食前に増加して食後に減少し、午前2時に頂値を示した。

ラットの分離膵島におけるグルコース(8.3 mM)誘発インスリン分泌を生理的濃度(10^{-12} Mと 10^{-11} M)のグレリンは促進した。一方高濃度グレリンは(10^{-8} M)はこれを抑制した。グルコース(8.3 mM)によるβ細胞 $[Ca^{2+}]_c$ 増加反応のうち、オシレーション成分をグレリン(10^{-12} Mと 10^{-11} M)は促進した。一方高濃度グレリン(10^{-8} M)は Ca^{2+} 濃度増加反応を抑制した。ラット膵島にはグレリンとグレリン受容体のmRNAが発現していた。ヒトとラットで二重免疫染色の結果、グレリンはヒトとラットの膵島α細胞にグルカゴンと共存していた。

SEKI移植後約2週間で、またG361では移植後4日間で体重は減少に転じ、コントロール群(メディウム移植群)と比べて体重、摂餌量ともに全経過を通じ、低かった。コントロール群へのグレリン投与により体重、摂食量ともに生食投与群よりも高値を示した。SEKIまたはG361移植群においても、グレリン投与により摂食量の低下と体重減少が有意に抑制された。癌重量は両群で差を認めなかった。胃グレリンのペプチドおよびmRNAとも、SEKIまたはG361投与群はコントロール群に比べて有意に高かった。カヘ

キシアの原因とされる白血球抑制因子(LIF)の血漿中濃度は SEKI 移植群で高値(4.6 ± 0.4 ng/ml)を示し、グレリン投与による変化は認めなかった。内臓脂肪量、血漿中遊離脂肪酸濃度および血漿中レプチン濃度は SEKI および G361 移植群においてコントロール群よりも低値を示し、グレリン投与によって増加する傾向が認められた。

D. 考察

非糖尿病患者、糖尿病患者いずれにおいても血漿グレリン濃度は BMI と逆相関した。肥満者において血漿グレリン濃度は低値を示し、摂食行動を調節している可能性が示唆された。また胃の伸展のみではグレリン分泌は抑制されず、また胃の伸展がなくても血糖値が上昇するとグレリン分泌は抑制された。血漿グレリン濃度は acute feeding state、chronic feeding state の指標となりうると考えられた。このことから、栄養状態がヒトの血漿グレリン濃度に関与することが示された。グレリン分泌はネガティブエネルギー・バランスの条件の下で促進され、ポジティブエネルギー・バランスの下で抑制される。食行動およびエネルギーの恒常性を制御するシステムに、グレリンは関与している。ヒトの概日動態において、成長ホルモンの血中濃度は夜間睡眠時に高値を示し、昼間の運動はこの夜間成長ホルモン分泌を刺激する。ヒトグレリンの概日動態も睡眠時に高値を示し、成長ホルモンの概日動態とよく相関していた。また各食前に高値となり、摂食により低下したことは、食行動が胃からのグレリン分泌を調節していることを示している。

グレリンは生理的濃度でグルコース依存性にインスリン分泌を促進した。このグレリンのインスリン分泌促進作用の少なくとも一部は β 細胞内 Ca^{2+} 濃度増加の増強を介しているとし唆された。一方、高濃度グレリンはグルコース誘発インスリン分泌と β 細胞内 Ca^{2+} 濃度増加を抑制

した。グレリンは β 細胞に対し、濃度依存性に2相性の効果を持つと推定されるが、その機序と生理学的意義は現時点では不明である。

グレリンは膵 α 細胞にも局在するペプチドであり、パラクリン作用による β 細胞へのインスリン分泌調節が示唆された。グレリン投与は、癌移植マウスのカヘキシアモデルにおいて、摂食低下の改善および体重減少抑制作用を示した。

E. 結論

グレリンはヒト、ラット胃より単離・同定された新規の成長ホルモン分泌促進ペプチドで下垂体からの成長ホルモン分泌促進だけでなく、循環器への作用、エネルギー代謝調節、骨粗鬆症の抑制などの生理作用を持つ。グレリンの発見により、胃が成長ホルモンの分泌や摂食調節に重要な役割を担っていることが判明した。グレリン受容体は全身臓器に発現しており、グレリンは骨形成や強心作用、糖代謝などにも機能していることが明らかにされつつある。グレリンの摂食亢進と体重増加作用に注目し、糖尿病患者や肥満、摂食障害の患者においてその血中動態を観察することで、これらの病態との関連解析を行った。糖尿病、肥満、摂食障害いずれにおいても、その食行動を改善することが疾患の治療の第一歩となるため、その成因を科学的に解明することは新たな治療法の開発へ貢献できるものと考えられる。成長ホルモン分泌は思春期をピークとして、老化の過程で減退する。成長ホルモン分泌低下は“somatopause (ソマトポーズ)”とも呼ばれ、筋肉や骨量の低下、内臓脂肪蓄積型肥満、脂肪肝などをもたらし、高齢者の生活の質を低下させる。グレリンのエネルギー同化促進作用は、ソマトポーズやカヘキシアに対する新たな治療の可能性を示唆している。

F. 健康危険情報

なし