

食を摂取させ、高カロリー摂取時における GHS-R の機能について検討した。

## B. 研究方法

(1) 8週齢の GHS-R 発現抑制 Tg ラットと対照ラットに普通食（脂肪量 12%, 4.3 kcal/g ; NF）ないしは高脂肪食（脂肪量 45%, 6.0 kcal/g ; HF）を 14 日間与え、毎日の摂食量、体重を計測した。15 日目に断頭し、血漿レプチン濃度を ELISA 法にて測定し、褐色脂肪組織 (BAT)、皮下、大網、後腹膜、副睾丸周囲の白色脂肪組織 (WAT) を採取し重量を測定した。さらに褐色脂肪組織およびエネルギー代謝について以下の検討を行った。

### (a) 褐色脂肪細胞数の定量

採取した褐色脂肪組織の 8 $\mu$ m の凍結切片を作製し、マイヤーのヘマトキシリン溶液にて核染色を行い、単位面積 (0.13mm<sup>2</sup>) 当たりの細胞数を定量した。

### (b) 褐色脂肪組織の脱共役蛋白質 1 (uncoupling protein 1 :UCP1) の遺伝子発現量の解析

各ラットの褐色脂肪組織から total RNA あるいはタンパク質を抽出し、mRNA 発現量をノーザンブロット法にて、タンパク質発現量をウェスタンブロット法にて解析した。それぞれの得られたシグナルはデンシトメトリー法にて定量解析した。

(2) NF を摂取した対照ラットと Tg ラットにおいて酸素消費量、二酸化炭素産生量を測定し、呼吸商を算出した。直腸温を測定用プローブを用いて測定した。

## C. 研究結果

### (1) 14 日間の体重増加と摂取カロリー

開始時の Tg ラットの体重は対照ラットと比較し有意に少なかった。体重は 14 日通して対照群が多く、両群ともに HF 摂取により体重は有意に増加した (図 1)。14 日間の総摂取カロリーは Tg ラットおよび対照ラットともに HF 摂取群において高値であった (図 2)。

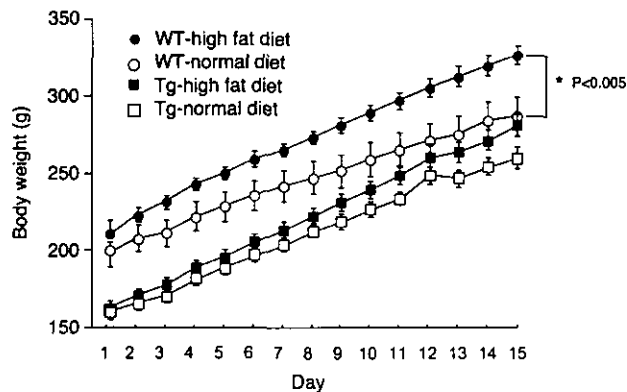


図 1 高脂肪食摂取による体重増加曲線

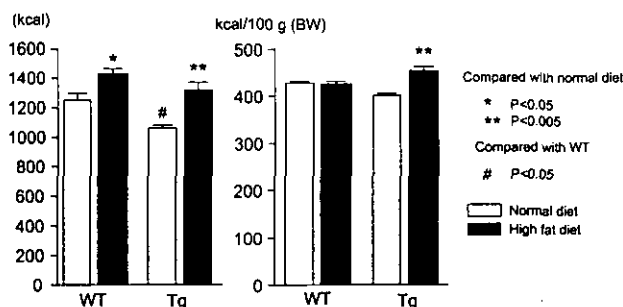


図 2 総摂取カロリー量と体重 100g 当たりのカロリー摂取量

### (2) 脂肪組織重量と組織像

皮下、大網、後腹膜、副睾丸周囲の白色脂肪組織量は HF 摂取対照ラットで有意に高値を示した。後腹膜、副睾丸周囲の白色脂肪組織量は NF 摂取下で Tg ラットが対照ラットに比べ少なかった。褐色脂肪組織重量は、HF 摂取 Tg ラットで著明に多く、NF 摂取群においては有意差は認められなかったものの Tg ラットで多い傾向を示した (図 3)。

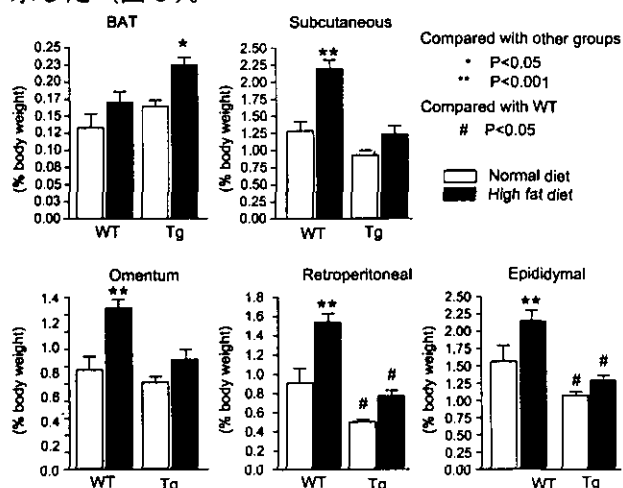


図 3 高脂肪食摂取による褐色および白色脂肪組織重量

### (3) 褐色脂肪細胞数の検討

HF 摂取対照ラットにおいて、単位面積あたり

の褐色脂肪細胞数は有意に減少し、褐色脂肪細胞には多数の脂肪滴が蓄えられていた。HF 摂取 Tg ラットでは単位面積当たりの褐色脂肪細胞数の減少は認められなかった (図4)。

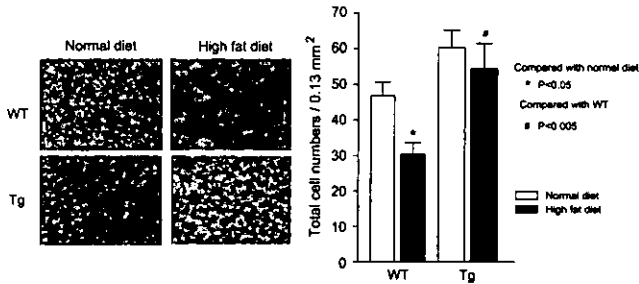


図4 単位面積あたりの褐色脂肪細胞数

#### (4) UCP1 遺伝子および蛋白質発現量

UCP1 mRNA 発現量は食事にかかわらず Tg ラットにおいて高値を示した。UCP1 タンパク質発現量は HF 摂取 Tg ラットにおいて有意に高値を示した(図5)。

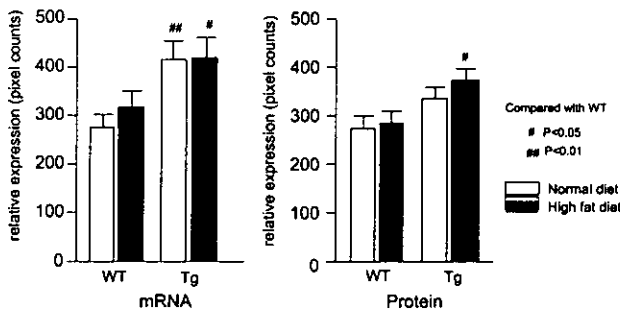


図5 褐色脂肪組織におけるUCP1遺伝子発現

#### (5) 血漿レプチン濃度

血漿レプチン濃度は、HF 摂取対照ラット群で最も高く、HF 摂取 Tg ラットでは NF 摂取対照群と同レベルであった (図6)。

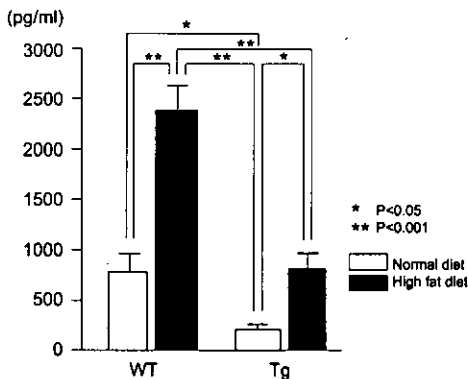


図6 血漿レプチン濃度

#### (6) 酸素消費量、二酸化炭素産生量、呼吸商、直腸温

酸素消費量、二酸化炭素産生量ともに Tg ラッ

トで高値を示し、呼吸商には差は認められなかった。直腸温は Tg ラットで有意に高値であった (図7)。

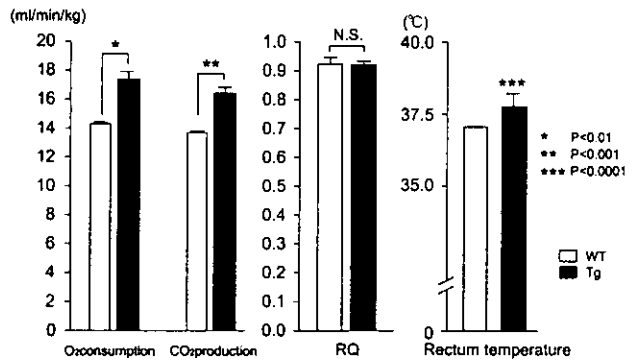


図7 O<sub>2</sub>消費量、CO<sub>2</sub>産生量、直腸温

#### D. 考察

カロリー摂取量は Tg ラットおよび対照ラットの HF 摂取群において大きかったが、脂肪蓄積は HF 摂取対照ラットのみ認められた。グレリンの投与により脂肪蓄積が促進することが報告されている (4)。視床下部弓状核の GHS-R の発現量が減少している Tg ラットでは、外因性の GHS の投与による GH 分泌の亢進、摂食促進、弓状核における Fos の発現のいずれも抑制されているという我々の過去の研究結果から、同ラットに認められた脂肪負荷時の白色脂肪増加抑制は内因性グレリンの作用が抑制されていることによるものと推測された。HF 摂取対照ラットでは脂肪が蓄積した褐色脂肪細胞が白色脂肪化し、個々の細胞の面積が増加した結果、単位面積当たりの細胞数が減少している組織像が確認された。これに対し HF 摂取の Tg ラットでは単位面積当たりの細胞数は変化せず褐色脂肪組織重量が増加していたことから同ラットでは HF 摂取による褐色脂肪組織の白色脂肪化が阻止されたと考えられた。

褐色脂肪組織の UCP1 遺伝子発現量は HF 摂取 Tg ラットにおいて増加していた。褐色脂肪組織の UCP1 は褐色脂肪組織へ投射している交感神経活動の亢進により合成される (6)。グレリンの投与により褐色脂肪組織へ投射している交感神経の活動が抑制されることから (7)、Tg ラットではグレリンの交感神経抑制作用が阻害され、褐色脂肪組織の UCP1 遺伝子の発現量が増していると推測される。グレリンの投与により

呼吸商が増加するという報告があり (4)、NF 摂取 Tg ラットでは呼吸商が低下していることが期待された。しかしながら呼吸商に差は認められず、これは同ラットでは既に体脂肪量が減少しているために呼吸商に差が生じなかったと推測される。グレリンの投与により酸素消費が抑制されることも報告されており (8)、Tg ラットにおいて酸素消費量が増加していることはこの報告を支持する結果であると考えられる。HF 摂取 Tg ラットでは UCP1 発現量の増大により熱産生、エネルギー消費が亢進し、脂肪蓄積が抑制されたと推測される。Tg ラットで直腸温が上昇していることから熱産生が増大していたと考えられた。

中・高齢者では GH 分泌の低下が知られており、中年以降の体脂肪の増加機序には GH 分泌低下が関与していると推測されている。加齢に伴う GH 分泌低下機序には少なくとも下垂体 GH 分泌細胞の GH-releasing factor への反応性の低下が関与していると考えられているが、グレリンの関与の有無は不明である。本研究結果が、グレリンの作用低下がエネルギー消費を促進し、体脂肪の減少をもたらすことを示したことから、グレリンの拮抗薬の開発が加齢に伴う健常者の体脂肪増加の防止に応用される可能性が示唆される。しかしながら、グレリンの投与は GH 分泌をもたらすことから、グレリンを基にした治療薬の開発には、加齢に伴う GH 分泌能低下とエネルギー代謝の変化の関係に関するさらなる解析が必要であると考えられる。

## E. 結論

視床下部弓状核の GHS-R 発現抑制 Tg ラットでは脂肪を燃焼し、エネルギー産生を増加させることにより脂肪摂取過多による脂肪蓄積を抑制していると考えられた。したがって、視床下部弓状核に作用するグレリンはエネルギー消費抑制、体脂肪蓄積作用を有すると考えられる。

## 参考文献

1. Smith RG, Van der Ploeg L H T, Howard A D, Feighner S D, Cheng K, Hickey G, Wyvrat 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, Liberators 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. Tshöp M, Smiley L D, Heiman M L. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407: 908- 913, 2000.
5. Shuto Y, Shibasaki T, Otagiri A, Kuriyama H, Ohata H, Tamura H, Kamegai J, Sugihara H, Oikawa S, Wakabayashi I. Hypothalamic growth hormone secretagogue receptor regulates growth hormone secretion, feeding, and adiposity. *J Clin Invest*, 109: 1429- 1436, 2002.
6. Lowell B B, Spiegelman B M. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature*, 404: 652- 660, 2000.
7. Yasuda T, Masaki T, Kakuma T, Yoshimatsu H. Centrally Administered ghrelin suppresses sympathetic nerve activity in brown adipose tissue of rats. *Neurosci. Lett*, 349: 75- 78, 2003.
8. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzariha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Niiijima A, Fujino M A, Kasuga M. Ghrelin in an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*, 120: 333- 345, 2001.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Kim K, Sanno N, Takano K, Yasufuku-Takano J, Teramoto A, Shibasaki T. Ghrelin mRNA and GH secretagogue receptor mRNA in human GH-producing pituitary adenomas is affected by

mutations in the  $\alpha$  subunit of G protein. Clin Endocrinol, 59: 630- 636, 2003.

## 2. 学会発表

- ①小田切あすか、関野あずさ、大阪寿雅、  
根本崇宏、稲田詩乃、杉原 仁、及川眞一、  
芝崎 保：GHS 受容体(GHS-R)発現抑制トランスジェニックラットにおけるエネルギー代謝について 第 30 回日本神経内分泌学会、  
2003 年

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 胃切除術後症状の病態解明とグレリン臨床研究の展望

分担研究者 山下 俊一

長崎大学大学院医歯薬総合研究科原爆後障害医療研究施設分子医療部門 教授

胃切除術後の患者 QOL を低下させている症状が、グレリン欠乏による特異的な胃内分泌機能低下症にもとづく可能性が考えられる。今回胃切除後のグレリンの血中動態とその意義を明らかにする目的で、胃全摘、亜全摘、および膵頭十二指腸切除などの 53 症例を対象とした。長崎大学倫理委員会の承認後、インフォームドコンセントの得られた治療切除可能な胃切除予定症例、および術後 6 ヶ月以上経過し再発の認められない症例に関し、グレリンの測定を行った。胃摘術後の食欲低下や体重減少とグレリンの低下は相関する結果が得られた。胃全摘出術後に認められる様々な機能障害の病態メカニズムにグレリン欠乏が関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

胃癌の診断や手術の進歩に伴い、胃切除術を受けられた多くの患者の方々に、長期間生存が得られるようになった、しかし一方で、胃切除にともなう様々な機能障害が患者の QOL にとって重要な問題となってきている。そこで胃切除後の機能障害にグレリンの欠乏が関与するかどうかを検討することを本分担研究の第一の目的とした。

また消化性潰瘍の治療に当たって H. pylori の除菌療法が保険適応となり、胃癌の予防になる可能性が示唆され、一般臨床の現場でも盛んに施行されるようになってきた。しかしながら、除菌に纏わる幾つかの問題点も指摘されている。除菌後の肥満（体重増加）もその1つであり、生活習慣病の観点から非常に重要な点である。このことは、除菌治療は潰瘍の再発や胃癌の発生の抑制という点ではメリットがあるが、肥満の抑制という点ではデメリットとなる可能性も考えられ、その病態解明は重要な課題である。そこで、ヘリコバクター感染に伴う慢性胃炎などにより、グレリンの産生に影響が出るかどうかを検討することを第二の目的とした。

### B. 研究方法

対象は胃全摘、亜全摘、および膵頭十二指腸切除などの 53 症例（男性 33 例、女性 20 例）で、年齢は 38-89 歳、平均 67 歳である。このうち 15 例に関しては術前、術後 2 週と 1 月後の経過を検討した。研究方法は長崎大学倫理委員会の承認後、インフォームドコンセントの得られた治療切除可能な胃切除予定症例、および術後 6 ヶ月以上経過し再発の認められない上記症例に関し、血漿、血清を採取し、グレリン(N-terminal & C-terminal)、IGF-1、GH、レプチンの測定を行った。また身長・体重より BMI を求めた。術後経過を追った症例は摂食量より食欲を検討した。

慢性萎縮性胃炎の対象は、長崎大学医学部附属病院光学診療部で胃内視鏡検査を受けた患者 112 名を対象に、方法は胃切除術のグレリンの検討に準ずる。グレリンの測定は宮崎医科大学にて行った。

### C. 研究結果

活性型のグレリン N-端のアッセイで見た場合、術前のグレリンレベルを 100% とすると、グレ

リンの血中レベルは幽門側胃切除では 78%であるのに対し、胃全摘術では 32%に低下していた。また摂食量も術後 4 週時点で幽門側胃切除術が術前の 80%であるのに比べ、胃全摘術は 50%程度に低下し、それはグレリンの低下と比例していた。さらに術後 6 ヶ月以上経過した安定期で、術前 BMI と比較すると、グレリンの血中レベルと%BMI 減少率に負の相関が見られた( $r = 0.734$ ,  $p < 0.001$ )。幽門側胃切除と胃全摘術では、残存する胃の体積が当然異なるので、術後のグレリンレベルはそれを反映しているとも考えられるが、今回検討した幽門側切除術は Billroth I 法で再建しているのに対し、全摘術は Roux-en-Y 再建を行っているので、再建方法による影響の可能性も否定できない。そこで部分胃切除だが Roux-en-Y 再建により近い Billroth II 法による再建術をおこなっている膵頭十二指腸切除術との比較を行った。この手術では体重の減少率は胃全摘術とほぼ同じだが、血中グレリンのレベルの低下は認められなかった。よって我々の検討では、グレリンレベルは再建術式よりは、グレリン産生細胞の切除範囲に規定されており、それが術後の食欲低下や体重減少にも影響があると考えられた。レプチンのレベルは BMI と相関が認められたが、グレリンとの関連は認めなかった。また術後のグレリンの変動にもレプチンや GH との連動性はなかったが、IGF-I はグレリンと同様な経時的変動が見られた。

H. pylori 感染・非感染患者に分けて、胃で産生される消化管ホルモン(グレリン、レプチン、ガストリン)の測定を行った。血漿グレリン値はペプシノーゲン 1/2 比でみた胃粘膜萎縮度と有意な負の相関性がみられた。また H. pylori 陽性者では、加齢との関連性も認められた。レプチンと H. pylori 感染に関しては、血漿レベルでは BMI で補正した場合有意差はなかったが胃粘膜局所では陽性患者で高値を呈した。血漿ガストリン値は、H. pylori 陽性者で上昇傾向にありレプチンとの相関性がみられた。

#### D. 考察

胃全摘出術後に認められる体重減少、食欲不振、ダンピング症候群、貧血、骨粗鬆症、消化

管運動障害などの様々な機能障害の一部もしくはかなりの病態メカニズムにグレリン欠乏が関与している可能性が示唆された。今後、胃切除術を受けられた患者さんに対して臨床研究を行い、グレリン治療による胃切除術後の病態改善が可能かどうかさらに検討を行っていきたいと考えている。また長期的な H. pylori 感染が各種消化管ホルモンの影響を及ぼしている可能性が示唆された。除菌前後の変化も現在検討中だが、除菌後数ヶ月で血中グレリンレベルが回復してくる例が多く認められた。このことは H. pylori 持続感染による局所炎症性サイトカインなどによるグレリン産生内分泌細胞の turn-over に対する影響などが考えられた。

#### E. 結論

本研究により、グレリン欠乏は胃切除後患者における体重減少をはじめとする様々なソマトポーズの一因になっている可能性があり、今後グレリン補充療法によるそれらの患者の治療研究が必要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ①Imanishi R, Ashizawa N, Ohtsuru A, Akiyama-Uchida Y, Kawano H, Kuroda H, Nakashima M, Saenko VA, Yamashita S, Yano K. GH suppresses TGF- $\beta$ -mediated fibrosis and retains cardiac diastolic function. *Mol Cell Endocrinol* ( in press).
- ②Kanazawa Y, Isomoto H, Wen C Y, Wang A P, Saenko V A, Ohtsuru A, Takeshima F, Omagari K, Mizuta Y, Murata I, Yamashita S, Kohno S. Impact of endoscopically minimal involvement on IL-8 mRNA expression in esophageal mucosa of patients with non-erosive reflux disease. *World J Gastroenterol*, 9: 2801- 2804, 2003.
- ③Daian T, Ohtsuru A, Rogounovitch T, Ishihara H, Hirano A, Akiyama-Uchida Y, Saenko V, Fujii T, Yamashita S. IGF-I enhances TGF- $\beta$ -induced

extracellular matrix protein production through the p38/ATF-2 signaling pathway in keloid fibroblasts. J Invest Dermatol, 120: 956- 962, 2003.

## 2. 学会発表

- ①高村昇、濱田亜衣子、大津留晶、古市哲、永田康浩、円城寺昭人、兼松隆之、下川功、細田洋司、寒川賢治、山下俊一：胃切除後におけるグレリン分泌と体重調節 第76回日本内分泌学会学術総会，2003年

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 脂肪酸摂取によるグレリンの脂肪酸修飾効果

分担研究者 児島将康

久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門 教授

脂肪酸摂取によるグレリンの脂肪酸修飾効果を調べた。トリアシルグリセリド摂取によって、脂肪酸で修飾されたグレリン濃度が上昇したが、総グレリン濃度とグレリン mRNA 発現には変化がなかった。生体内や食物中にはない炭素数7個のグリセロール・トリヘプタノエイト摂取によって、炭素数7個の脂肪酸で修飾されたグレリンが生成された。これらの結果から、食餌中の脂肪酸が直接グレリンの脂肪酸修飾基として利用されることが明らかになった。トリアシルグリセリド摂取によって活性型グレリン濃度を増えることから、脂肪酸摂取によってグレリン濃度を上昇させ、ソマトポーズ治療に応用できる可能性が考えられた。

### A. 研究目的

リガンド不明のオーファン受容体 GHS-R (Growth Hormone Secretagogue Receptor: リガンドが同定されたのでここではグレリン受容体) の内因性リガンドとして発見されたグレリンは、脂肪酸で修飾された生理活性ペプチドで、この脂肪酸修飾が活性発現に必須であるというこれまでにない構造である。グレリンはおもに胃から分泌され、強力な成長ホルモン分泌促進活性と摂食亢進作用を持ち、内分泌・エネルギー代謝に関与するホルモンである。

ソマトポーズにおいては一般に成長ホルモン濃度が成長ホルモン分泌不全症と同レベル、あるいはそれよりも低い値となり、この成長ホルモンの低値が高齢者の身体機能低下をもたらす大きな原因であると考えられている。そのためグレリンによる成長ホルモン増加、筋肉量増加、骨密度増加などの作用から、ソマトポーズ治療へのグレリンの応用が考えられている。ここでは内因性の活性型グレリンの合成・分泌量を増加させることで、グレリンのソマトポーズ治療への応用を試みた。具体的には、トリアシルグリセリドなどの脂肪酸摂取による生体内グレリンの合成・分泌動態への効果を調べた。

### B. 研究方法

#### ①グレリン測定

グレリン測定には我々が開発した2種類のRIA系を用いた。一つはグレリンの脂肪酸修飾部位に特異的なRIA (N-RIA)、もう一つはグレリンのC末端部分に特異的なRIA(c-RIA)である。RIAに用いるサンプルの処理、RIAは先に発表した方法と同じ手順で行った。すなわち、摘出した胃を速やかに沸騰水中で5分間ポイルして、ペプチドを分解する酵素類を失活させた。酸で抽出後、セパック・カラムにてペプチド画分を抽出、凍結乾燥後そのままRIAで測定あるいはHPLCで展開後グレリン免疫活性を定量した。

#### ②グレリン受容体発現細胞を用いたグレリン活性のアッセイ

グレリン受容体 (GHS-R) 発現細胞株へのサンプル添加による細胞内カルシウム濃度上昇活性を指標として、活性のあるグレリン分画をアッセイした。グレリン受容体をCHO細胞に安定発現させ、細胞にカルシウム反応性の蛍光色素であるFluo-4を取り込ませ、余分な色素をウォッシュ後、FLEX stationにて細胞内カルシウム上昇活性を測定した。

#### ③トリアシルグリセロール摂取

トリアシルグリセロールは油性なので、餌に混



せてマウスに投与した。雄マウス(C57BL/6J)へトリアシルグリセロールを混ぜた餌を 0~14 日間食べさせた。トリアシルグリセロールの脂肪酸の長さは炭素数 4, 6, 8, 10, 12, 16 のものを使った。マウスにトリアシルグリセロール投与後、胃を摘出し、ポイルしてプロテアーゼを失活させてからペプチド画分を抽出した。抽出したペプチド画分は HPLC で展開後、あるいは直接、RIA でグレリン濃度を定量した。また HPLC で展開したサンプルは同時にグレリン受容体への作用をみた。

#### ④ノーズンプロット

トリアシルグリセロールを含んだ餌を食べさせたマウスから胃 mRNA を抽出し、アガロース・ゲルにて展開し、ナイロン・メンブレンに移した。ノーズンプロットにはラット・グレリンの cDNA プローブを使用した。

#### ⑤トリアシルグリセロール(C7:0)・グリセロール摂取後の胃のグレリン分子型

食物中や生体内にはない脂肪酸として炭素数 7 個のトリアシルグリセロール(C7:0)・グリセロールを摂取させ、胃ペプチド抽出物を HPLC で展開し、グレリンの溶出時間を調べた。また脂肪酸で修飾されたグレリンを、グレリン IgG を使ったアフィニティー・クロマトグラフィーで精製し、グレリンの修飾基の分子フォームを質量分析計で調べた。

### C. 研究結果および考察

#### 1) トリアシルグリセリド摂取によるグレリンの脂肪酸修飾に対する効果

マウスにトリアシルグリセリド含有の食餌を摂取させると、胃においてアシル化された活性型グレリン濃度が上昇した。炭素数が 6 個から 10 個の脂肪酸からなるトリアシルグリセリドを摂取させると、摂取した脂肪酸の炭素数と同じ炭素数の脂肪酸によって修飾されたグレリン濃度が増加した。特に炭素数 8 個のオクタン酸による効果が高かった。一方、脂肪酸のついていない des-acyl グレリン濃度には変化がなかった。このことから、トリアシルグリセリド摂取はグレリンの脂肪酸修飾過程のみを活性化することがわかった。

内因性のグレリンではオクタン酸によって修飾

されたグレリンが最も多く存在することから、この脂肪酸修飾のメカニズムは炭素数 8 個の脂肪酸を最も適した基質とすることが伺われた。一方で炭素数 12 以上の長鎖脂肪酸や炭素数 6 以下の短鎖脂肪酸では摂取したトリアシルグリセリドに応じた炭素数の脂肪酸修飾はおこらなかった。

#### 2) トリアシルグリセリド摂取のグレリン脂肪酸修飾に及ぼす効果の時間変化

トリアシルグリセリド摂取によって脂肪酸で修飾された活性型グレリンの割合が増加するが、摂取後の時間的な変化を調べた。マウスにグリセロール・トリオクタノエイトを摂取させ、胃からペプチド画分を抽出し、N-RIA にてオクタンで修飾されたグレリン濃度を測定した。その結果、グリセロール・トリオクタノエイト摂取後、3 時間から胃でのオクタン修飾グレリン濃度が上昇し始め、24 時間で最大値に達し、摂食を続けるとオクタン修飾グレリン濃度は高いまま推移した。C-RIA で測定した総グレリン濃度は変化しなかった。このことから経口で摂取したトリアシルグリセリドは摂取後 3 時間くらいから、胃での修飾されたグレリン濃度を上昇させることが明らかになった。

#### 3) トリアシルグリセリド摂取による胃でのグレリン mRNA の発現

トリアシルグリセリド摂取による胃でのグレリン mRNA の発現がどのように変化するかを調べた。普通食を与えたコントロール・マウスとグリセロール・トリオクタノエイト含有食を与えたマウスから、胃の mRNA を抽出しノーズンプロット法にてグレリン mRNA の発現を調べた。その結果、グリセロール・トリオクタノエイトの摂取によって胃でのグレリン mRNA 発現に変化はなかった。このことはトリアシルグリセリド摂取は、グレリン mRNA の発現には影響しないことを示している。先の実験結果から、トリアシルグリセリド摂取は脂肪酸で修飾されたグレリン濃度を上昇させるが、des-acyl グレリンを含めた総グレリン濃度には変化がないことがわかっている。これらのことから、トリアシルグリセリド摂取はグレリン合成には影響を与えず、グレリンの脂肪酸修飾過程のみを活性化すると考えられた。

#### 4) 炭素数7個のヘプタン酸投与によるグレリン分子型への影響

トリアシルグリセリド摂取によって脂肪酸で修飾されたグレリン濃度のみが上昇するが、摂取されたトリアシルグリセリドが直接グレリンの脂肪酸修飾に使われる可能性を確かめるために、生体内や食餌中に存在しないトリアシルグリセリド体を摂取させ、グレリンの脂肪酸修飾基がどのようになるのかを調べた。そのためのトリアシルグリセリドとして炭素数7個のグリセロール・トリヘプタノエイトを使い、マウスに摂取させた。投与後3日目に胃からペプチド画分を抽出し、HPLCで展開後、C-RIAにてグレリン・ペプチドの分子型を調べた。その結果、炭素数8個のオクタン酸と炭素数6個のヘキサン酸で修飾されたグレリンの溶出位置の間に、あらたにグレリンの免疫活性が認められた。炭素数8個のオクタン酸で修飾されたグレリンはメインのグレリン分子フォームであり、炭素数6個のヘキサン酸で修飾されたグレリンも微量ではあるが生体内に存在する。それに対して、この新たなグレリン免疫活性に相当する位置には、これまでに全くグレリン・ペプチドがみられない溶出位置であった。これらのことから、炭素数7個のグリセロール・トリヘプタノエイトの摂取によって、生体内にはない脂肪酸で修飾されたグレリン分子フォームが生じた可能性が考えられた。

そこで次に、この炭素数7個のグリセロール・トリヘプタノエイト摂取によって新たに生成されたグレリン免疫活性を単離・同定することを試みた。グリセロール・トリヘプタノエイトを3日間投与したマウスの胃からペプチド画分を抽出し、イオン交換、ゲル濾過、グレリン・イムノ・アフィニティー・クロマトグラフィーの順に精製を行い、最終的にHPLCにて単一のピークを得た。このピークはアミノ酸配列はグレリンと全く同一で、質量分析計にて測定した分子量は炭素数7個のヘプタン酸によって修飾されたグレリンの推定分子量と一致した。またグレリン受容体発現細胞株での細胞内カルシウム濃度上昇活性は、オクタン酸修飾グレリンの活性とヘキサン酸修飾グレリンの活性とのちょうど中間であった。これらのことから炭素数7個のグリセロール・トリヘプタノ

エイト摂取によって新たに生成したグレリン分子フォームは、炭素数7個のヘプタン酸によって修飾されたグレリンであると結論した。

以上の結果から、外部から摂取したトリアシルグリセリドは、グレリンの mRNA 発現やグレリンのペプチド総量を変化させることなしに、グレリンの脂肪酸修飾過程のみを活性化する。また生体内で合成されず食餌中にも含まれていない炭素数7個のグリセロール・トリヘプタノエイト摂取によって、炭素数7個のヘプタン酸で修飾されたグレリン分子フォームが生成してくることから、摂取したトリアシルグリセリドの脂肪酸がグレリンの修飾基として直接使われることが証明された。

グレリンは脂肪酸で修飾された分子フォームだけが活性を持つため、トリアシルグリセリド（とくにグリセロール・トリオクタノエイト）摂取によって生体内の活性型グレリン濃度を増加させることができる。このとき同時に血中の活性型グレリン濃度も上昇している。今後の展開として、グリセロール・トリオクタノエイト摂取を増やすことで、生体内で活性型グレリン濃度を増加させ、ソマトポーズ治療に応用することが考えられる。

#### E. 結論

摂取したトリアシルグリセリドは、直接グレリンの脂肪酸修飾基質として使われることが明らかになった。グリセロール・トリオクタノエイトの摂取によって生体内の活性型グレリンを増加させ、ソマトポーズ治療に応用できる可能性が考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Choi K, Roh SG, Hong YH, Shrestha YB, Hishikawa D, Chen C, Kojima M, Kangawa K, Sasaki S. The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *Endocrinology*, 144: 754- 759, 2003.
- ② Enomoto M, Nagaya N, Uematsu M, Okumura H, Nakagawa E, Ono F, Hosoda H, Oya H, Kojima M,

- Kanmatsuse K, Kangawa K. Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in healthy humans. *Clin Sci (Lond)*, 105: 431- 435, 2003.
- ③ Hashizume T, Horiuchi M, Tate N, Nonaka S, Kojima M, Hosoda H, Kangawa K. Effects of ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in cattle. *Endocr J*, 50: 289-295, 2003.
- ④ Hashizume T, Horiuchi M, Tate N, Nonaka S, Mikami U, Kojima M. Effects of Ghrelin on growth hormone secretion from cultured adenohypophysial cells in pigs. *Domest Anim Endocrinol*, 24: 209-218, 2003.
- ⑤ Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem*, 278: 64- 70, 2003.
- ⑥ Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Moriyama S, Takahashi A, Kawauchi H, Kangawa K. Peptide purification, complementary deoxyribonucleic acid (DNA) and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. *Endocrinology*, 144: 5215- 5226, 2003.
- ⑦ Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K. Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 135: 421- 429, 2003.
- ⑧ Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Kangawa K. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. *J Endocrinol*, 176: 415- 423, 2003.
- ⑨ Kojima M, Kangawa K. Ghrelin, an orexigenic signaling molecule from the gastrointestinal tract. *Curr Opin Pharmacol*, 2: 665- 658, 2002.
- ⑩ Nakahara K, Hayashida T, Nakazato M, Kojima M, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N. Effect of chronic treatments with ghrelin on milk secretion in lactating rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 303: 751- 755, 2003.
- ⑪ Okimura Y, Ukai K, Hosoda H, Murata M, Iguchi G, Iida K, Kaji H, Kojima M, Kangawa K, Chihara K. The role of circulating ghrelin in growth hormone (GH) secretion in freely moving male rats. *Life Sci*, 72: 2517- 2524, 2003.
- ⑫ Rosicka M, Krsek M, Jarkovska Z, Marek J, Schreiber V. Ghrelin - a new endogenous growth hormone secretagogue. *Physiol Res*, 51:435-441, 2002.
- ⑬ Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, Imazu M, Okumura H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Kohno N. Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res*, 9: 774- 8, 2003.
- ⑭ Sugino T, Yamaura J, Yamagishi M, Ogura A, Hayashi R, Kurose Y, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. A transient surge of ghrelin secretion before feeding is modified by different feeding regimens in sheep. *Biochem Biophys Res Commun*, 298: 785- 788, 2002.
- ⑮ Sugino T, Yamaura J, Yamagishi M, Kurose Y, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Involvement of cholinergic neurons in the regulation of the ghrelin secretory response to feeding in sheep. *Biochem Biophys Res Commun*, 304: 308- 312, 2003.
- ⑯ Tanaka K, Minoura H, Isobe T, Yonaha H, Kawato H, Wang D F, Yoshida T, Kojima M, Kangawa K, Toyoda N. Ghrelin is involved in the decidualization of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 88: 2335- 2340, 2003.
- ⑰ Togo T, Hasegawa K, Miura S, Hosojima H, Kojima K, Shoji M, Kase A, Uchikado H, Iseki E, Kosaka K. Serum ghrelin concentrations in patients receiving olanzapine or risperidone. *Psychopharmacology (Berl)*, 172: 230- 232, 2004.
- ⑱ Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T, Takaya K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 13: 2748- 2752, 2002.

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## 京都大学・探索医療センターにおけるグレリン臨床試験

分担研究者 赤水尚史  
京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助教授

我々は、グレリンの多彩な生理作用を利用した臨床応用を図っている。その第一段階として、臨床第 I 相試験を施行した。すなわち、18 人の健康人ボランティアに対してグレリンまたはプラセボを投与するランダム化二重盲検試験を施行し、グレリンの成長ホルモン(GH)分泌や空腹度への影響を検討した。グレリン投与によって、血清 GH と空腹度への影響に関する検討では、有意ではないが用量依存的な上昇傾向が観察された。安全性に関しても、少数例において軽度のほてり感、軽度の腹部症状、発汗を自覚したのみで、その他に特記すべきものは認められなかった。以上より、臨床第 I 相試験によってグレリンの臨床効果と安全性が確認された。今後、高齢者患者などへの投与を行う臨床第 II 相試験の準備を進めていく予定である。

### A. 研究目的

グレリンは成長ホルモン分泌促進作用や食欲増進作用など多彩な生理作用を有していることが明らかにされてきた。そこで我々は、これらの作用を利用してグレリンの臨床応用を図っている。前者の作用に対して成長ホルモン分泌低下状態にある脆弱高齢者や成長ホルモン分泌不全症患者が、後者の作用に対しては神経性食欲不振症やカヘキシアなどの摂食異常患者が候補として考えられる。摂食不振は種々の疾患で見られ、体重減少、体力や気力の低下を招来し、ひいては原疾患の悪化、生命力や活動性の消失にまでつながる。その治療には、原疾患の改善が原則であるが困難または不可能な場合が少なくない。そこで、上記疾患に対してグレリンが有効な臨床効果を示すかどうかを検討するための準備検討として、まず臨床第 I 相試験を施行した。

### B. 研究方法

健康成人を対象としたグレリン単回投与試験（臨床試験第 I 相）の実施計画書（プロトコル）を作成し、倫理委員会に提出して承認を受けた。

健康人ボランティア 18 人を 3 群（グレリン高用量 [5 mg/kg] 投与群、グレリン低用量 [1 mg/kg] 投与群、およびプラセボ [生理食塩水] 投与群）にランダム化に割付け、二重盲検試験にて実施した。有害事象の有無（自覚・他覚症状や臨床検査値にて判断）、グレリンの薬物動態、グレリンの臨床効果（GH 分泌刺激作用、食欲への影響、糖代謝に対する作用など）、などを検討した。

### C. 研究結果

体内動態に関しては、合成ヒトグレリン 1 および 5  $\mu$ g/kg の投与によって、血中グレリン濃度は 15 分後でそれぞれ約 1,060 fmol/ml (3.5 ng/ml) および 6,060 fmol/ml (20 ng/ml) の濃度であった 15 分後でそれぞれ約 3.2 および 20 ng/ml の濃度であった。42-44% が活性型（オクタノイル化されたもの）であった。投与されたグレリンは約 30 分の半減期で血中より消失した。活性型はさらに急速に（半減期は 15 分以内）に消失し、90 分後にはほぼ基礎値のレベルにまで低下していた（図 1）。

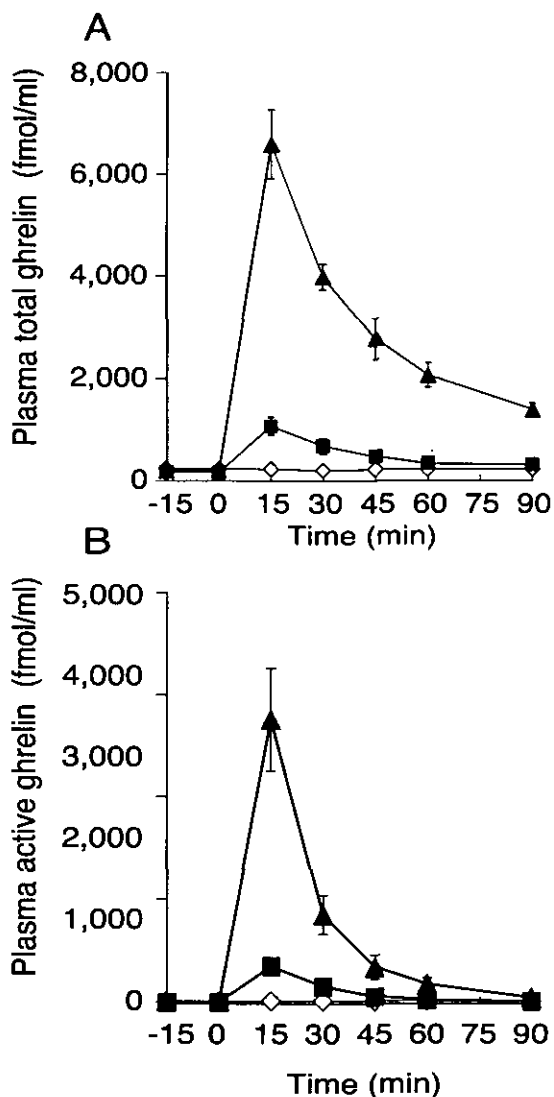


図1 グレリン静注後の血漿中グレリン濃度の推移。血漿グレリン濃度は、全グレリン (A) と活性型グレリン (B) のそれぞれをラジオイムノアッセイで測定。▲, 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  グレリン; ■, 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  グレリン; ◇, プラセボ。値は means  $\pm$  95% CI (n = 6 (A) and n = 5 (B))。

安全性に関しては、グレリン静脈内ボラス投与によって、少数例において軽度のほてり感、軽度の腹部症状、発汗、傾眠を自覚したのみで、その他に特記すべき自覚症状および他覚症状は認められなかった。一例において発熱、腹痛、下痢、白血球数増加、咽頭紅斑が出現したが、投与剤とは関連のない急性細菌性腸炎の合併と診断された。また、この際、投与後翌日と8日目に有意な生化学データや血清 IGF-1 の変動は認められなかった。有害事象の発生頻度は3群

間で有意な差を認めなかった (表1)。

有害事象	プラセボ (n=6)	グレリン 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (n=6)	グレリン 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (n=6)
腹部不快感	0	1	0
腹痛	0	0	1
下痢	0	0	1
倦怠感	1	0	0
発熱	0	0	1
尿中ブドウ糖陽性	1	1	0
白血球数増加	0	0	1
尿中蛋白陽性	1	0	0
感覚減退	1	0	0
傾眠	0	2	0
咽頭紅斑	0	0	1
多汗	0	0	1
潮紅	0	1	1
計	4	5	7
有害事象発症者数 (傾度, 95% 信頼区間)	3 (0.50, 0.12-0.88)	2 (0.33, 0.04-0.78)	2 (0.33, 0.04-0.78)

表1 京都大学医学部附属病院・探索医療センターで行われた健常人ボランティア 18 名における臨床試験での有害事象

血清 GH 上昇作用は、合成ヒトグレリン 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  と 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の投与によって、血清 GH はそれぞれ頂値 124 ng/ml (30 min) と 153 ng/ml (45 min) のレベルまで増加した (図2)。

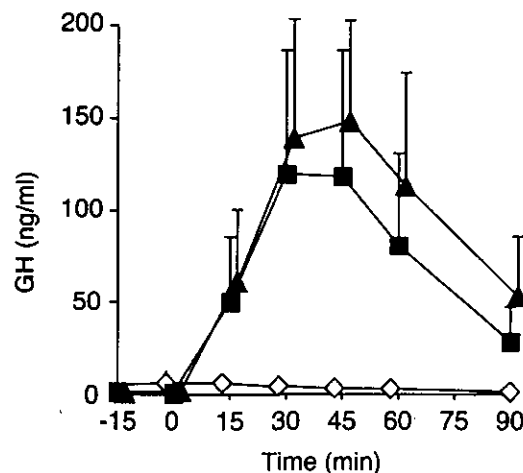


図2 グレリン静注後の血清 GH 濃度の推移。▲, 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  グレリン; ■, 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  グレリン; ◇, プラセボ。値は means  $\pm$  SD (n = 6)。

空腹増強作用に関しては、合成ヒトグレリン 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  と 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の投与によって用量依存的な空腹度スコア上昇傾向が観察された。この傾向は投与後 45 分以内において特に強かった (図3)。

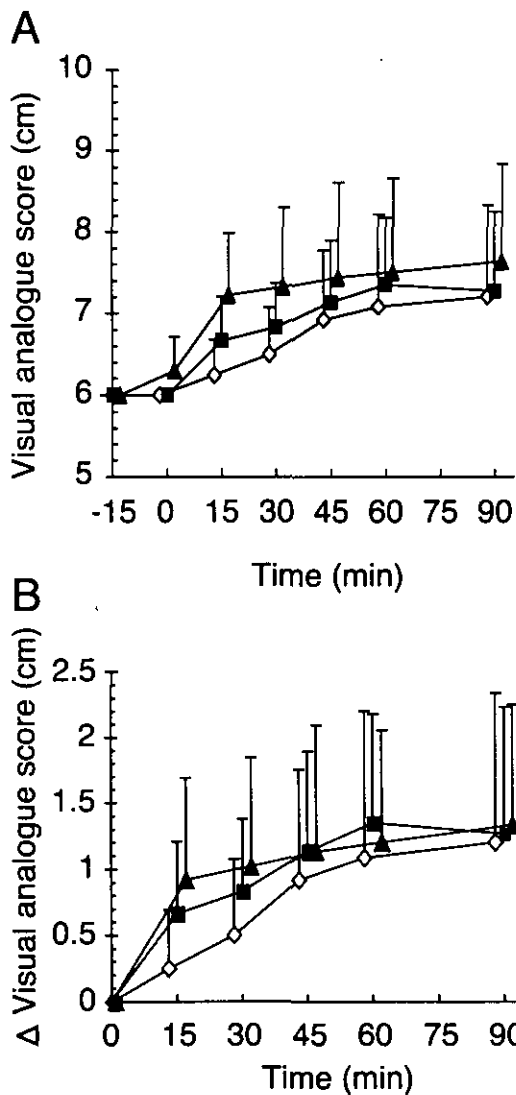


図 3 グレリン静注後の空腹感の推移。▲, 5  $\mu$ g/kg グレリン; ■, 1  $\mu$ g/kg グレリン; ◇, プラセボ。値は means  $\pm$  SD (n = 6)。空腹度を visual analogue scale (0 が最も満腹感が強く、10 が最も空腹感が強い)。空腹度の実測値 (A) と変化 (B) をプロット。

糖代謝に関しては、合成ヒトグレリン 1  $\mu$ g/kg と 5  $\mu$ g/kg の投与によって軽度ながら有意な血糖上昇作用とインスリン分泌低下作用が観察された。すなわち、1  $\mu$ g/kg と 5  $\mu$ g/kg のいずれのグレリン投与で 15 分後に血糖上昇、5  $\mu$ g/kg グレリン投与 90 分後に血中インスリン濃度の低下が認められた。

#### D. 考察

薬物動態に関しては、今回はじめて活性型グ

レリンの動態を検査することができた。すなわち、活性型グレリンの急速な血中からの消失を認めた。

安全性に関しては、従来の報告に比して特記すべきものはなく、問題はないと考えられた。その発現頻度もプラセボ群と差はなかった。

血清GH上昇作用は著明であったが、1  $\mu$ g/kg と 5  $\mu$ g/kg の間で有意な差を認めなかった。これは、1  $\mu$ g/kg での反応が非常に良く、天井効果と考えられた。

空腹度については例数が少ないため有意差はなかったが、プラセボを用いたランダム化二重盲検試験において用量依存的増強作用を観察し得た。これは、摂食不振患者への臨床応用を支持する結果であると考えられる。

糖代謝に関しては、血糖と血中インスリン濃度に対して軽度の影響があった。その傾向は従来のヒトでの報告に合致するが、その程度や time course は必ずしも一致せず、今後の検討が必要と考えられた。

#### E. 結論

プラセボを用いたランダム化二重盲検臨床第 I 相試験を実施し、グレリンの薬物動態、安全性、臨床効果を検討した。その結果、グレリンの GH 上昇や摂食亢進作用などの臨床効果と安全性が確認された。これによって、摂食不振患者や脆弱高齢者などを対象とした第 II 相臨床試験への準備に大いに寄与すると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Hataya Y, Akamizu T, Takaya K, Hosoda H, Kanamoto N, Moriyama K, Kangawa K, Nakao K. Alterations of plasma ghrelin levels in rats with lipopolysaccharide-induced wasting syndrome and effects of ghrelin treatment on the syndrome. *Endocrinology*, 144: 5365- 5371, 2003.
- ② Nakai Y, Hosoda H, Nin K, Ooya C, Hayashi H, Akamizu T, Kangawa K. Plasma levels of active

form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. Eur J Endocrinol, 149: R001- 3, 2003.

- ③ Akamizu T, Takaya K, Irako T, Hosoda H, Teramukai S, Matsuyama A, Tada H, Miura K, Shimizu A, Fukushima M, Yokode M, Tanaka K, Kangawa K. Pharmacokinetics, safety, endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. Eur J Endocrinol, in press, 2004.

## 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



## 消化管ペプチド グレリンおよび CCK の情報伝達における 自律神経系の役割

分担研究者 中里雅光 宮崎大学医学部第三内科

消化管ペプチド グレリンとコレシストキニン(CCK)は、各々摂食亢進と摂食抑制に作用するホルモンであり、ともに迷走神経求心線維の電気活動を変化させることで空腹および満腹情報を中枢に伝達する。今回私たちは、Wistar ラットおよび CCK-A 受容体欠損ラット Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat (OLETF rat) を用いて、両ペプチドの短期摂食調節機構における相互作用を検討した。グレリンあるいは CCK を先行投与すると、引き続き投与された CCK やグレリンの中枢への情報伝達が遮断された。さらに、迷走神経節において、グレリン受容体と CCK-A 受容体の大多数が同一ニューロンで産生されていた。これらのことから、迷走神経求心線維は、短期摂食調節に重要なグレリンや CCK の情報を末梢の受容体レベルで制御している可能性がある。本研究から、生活習慣の欧米化や高齢化が増加要因とされる糖尿病合併症の一つである自律神経障害や加齢にともなう自律神経系のトーンスの変化などが、グレリンや CCK 情報の正常な伝達機構を障害し、高齢者の摂食障害やソマトポーズの要因の一つになっている可能性が示唆された。

### 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ラットの胃から発見されたグレリンは、下垂体からの成長ホルモン分泌促進作用に加え、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。グレリンをラット静脈内に投与すると、短時間の摂餌量が増加し、絶食ラットに抗グレリン抗体を投与すると内因性のグレリンが中和され、摂餌量は減少する。また、ヒトでは各食前にグレリン血中濃度が上昇し、食後速やかに基礎値に復する。これらの知見は、グレリンが末梢の空腹情報として機能していることを示唆している。主に胃の内分泌細胞で産生されるグレリンは、迷走神経求心路の電気活動を変動させることにより、末梢の空腹情報や成長ホルモン分泌に関する情報を視床下部に伝達する。一方、腸管で産生される消化管ペプチド コレシストキニン (CCK) は、食後

血中に分泌され、グレリン同様、迷走神経求心路の電気活動を変化させることにより、満腹情報を視床下部に伝達する。今回私たちは、短期摂食調節機構におけるグレリンと CCK の役割を明確にするために、Wistar ラットおよび CCK-A 受容体欠損ラット Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat (OLETF rat)を用いて、両ペプチドの相互作用を検討した。

### B. 研究方法

8時間絶食させた Wistar 雄性ラット(250-270 g)にグレリン 1.5 nmol あるいは生食を静脈内投与し、30分後に CCK 1 nmol または生食を追加投与した後、2時間摂餌量を測定した。自由摂食 Wistar ラットの明期に CCK 1 nmol あるいは生食を静脈内投与し、30分後にグレリン 1.5 nmol または生食を追加投与した後、2時間摂餌量を測定した。自由摂食 OLETF およびコントロール (LETO) ラットの明期にグレリン 3

nmol を静脈内投与し、2 時間摂餌量を測定した。8 時間絶食させた OLETF および LETO ラットに CCK 3 nmol を静脈内投与し、2 時間摂餌量を測定した。8 時間絶食させ CCK 3 nmol を前投与した OLETF およびコントロール LETO ラットにグレリン 3 nmol を静脈内投与し、2 時間摂餌量を測定した。Wistar ラットに CCK 1 nmol を投与後、迷走神経胃枝求心線維の電気活動を記録し、30 分後にグレリン 1.5 nmol を追加投与した後の電気活動の変化を観察した。Wistar ラットにグレリン 1.5 nmol を投与後、迷走神経胃枝求心線維の電気活動を記録し、30 分後に CCK 1 nmol を追加投与した後の電気活動の変化を観察した。迷走神経神経節におけるグレリン受容体と CCK-A 受容体の発現を免疫組織化学にて検討した。CCK (1 nmol)あるいは生食を前投与した Wistar ラットにグレリン(1.5 nmol)を投与し、90 分後の視床下部弓状核 Fos 蛋白発現を検討した。

### C. 研究結果

グレリン前投与により CCK の摂食抑制作用はキャンセルされた。逆に CCK を前投与することにより、グレリンの摂食促進作用は減衰した。グレリンは OLETF (CCK-A 受容体欠損ラット)においても摂食促進に作用したが、CCK による摂食抑制作用は OLETF では見られなかった。OLETF ラットへの CCK 前投与は、グレリンによる摂食促進作用に影響を与えなかった。

グレリンは迷走神経胃枝求心線維の電気活動を抑制し、CCK はその活動を促進する。CCK を前投与すると、グレリンによる迷走神経求心線維の電気活動の抑制が見られなくなり、グレリンを前投与すると、CCK による電気活動の促進が見られなくなった。また、免疫組織化学的検討により、迷走神経節におけるグレリン受容体産生ニューロンの大多数が CCK-A 受容体を産生していることが明らかになった。さらに CCK 前投与により、グレリンにより誘導される弓状核の Fos 蛋白発現は抑制された。

### D. 考察

グレリンおよび CCK はともに消化管で産生

されるペプチドホルモンで、各々摂食亢進あるいは摂食抑制に作用する。両ペプチドとも食事の前後で血中濃度が変動し、迷走神経求心線維を介して空腹あるいは満腹情報を速やかに中枢に伝達する。これらのことから、グレリンは meal initiator、CCK は meal terminator と考えられている。今回の研究結果から、グレリンあるいは CCK の先行投与は、引き続き投与された CCK やグレリンの情報伝達を block することが明らかになった。また、グレリン受容体と CCK-A 受容体は迷走神経節の同一ニューロンで産生されており、グレリンおよび CCK の情報の制御が迷走神経求心線維の受容体レベルで行われていることが示唆された。

### E. 結論

本研究により、迷走神経求心路は短期摂食調節の重要な末梢パラメーターであるグレリンや CCK の情報を制御する伝達経路であることが明らかになった。糖尿病性ニューロパチーによる自律神経障害や加齢にともなう自律神経系のトーンスの変化などが、高齢者における摂食障害あるいはソマトポーズの一因になっている可能性もある。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- ①Hanada T, Toshinai K, Kajimura N, Nara-Ahizawa N, Tsukada T, Hayashi Y, Kangawa K, Matsukura S, Nakazato M. Anti-cachectic effect of ghrelin in nude mice bearing human melanoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 301: 275- 279, 2003.
- ②Tanaka M, Naruo T, Nagai N, Kuroki N, Shiiya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S. Habitual binge/ purge behavior influences circulating ghrelin levels in eating disorders. *J Psychiatr Res*, 37: 17- 22, 2003.
- ③Shimada M, Date Y, Mondal M S, Toshinai K, Shimbara T, Fukunaga K, Murakami N,

Miyazato M, Kangawa K, Yoshimatsu H, Matsuo H, Nakazato M. Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach. *Biochem Biophys Res Commun*, 302: 520- 525, 2003.

④Nakahara K, Hayashida T, Nakazato M, Kojima M, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N. Effect of chronic treatments with ghrelin on milk secretion in lactating rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 303: 751- 755, 2003.

⑤Tanaka M, Naruo T, Yasuhara D, Tarebe Y, Nagai N, Shiiya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S. Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 28: 829- 835, 2003.

⑥Yamaguchi H, Nakazato M, Kangawa K. Ghrelin: A gastric peptide to regulate hypothalamic control of feeding. *Curr Med Chem*, 3: 177- 188, 2003.

⑦Tanaka M, Tatebe Y, Nakahara T, Yasuhara D, Sagiya K, Muranaga T, Ueno H, Nakazato M, Nozoe S, Naruo T. Eating pattern and the effect of oral glucose on ghrelin and insulin secretion in patients with anorexia nervosa. *Clin Endocrinol*, 59: 574- 579, 2003.

⑧Hanada T, Toshinai K, Date Y, Kajimura N, Tsukada T, Hayashi Y, Kangawa K, Nakazato M. Upregulation of ghrelin expression in cachectic nude mice bearing human melanoma cells. *Metabolism*, 53: 84- 88, 2004.

## 2. 学会発表

①伊達 紫、寒川賢治、中里雅光：胃グレリンの神経系を介する作用機構に関する研究 第76回日本内分泌学会学術総会，2003年

②中里雅光、伊達 紫、寒川賢治：グレリンの局在と生理作用 第76回日本内分泌学会学術総会，2003年

③伊達 紫、寒川賢治、中里雅光：末梢摂食促進ペプチド グレリンの中樞への情報伝達機構 第30回日本神経内分泌学会，2003年

④Nakazato M, Date Y, Kangawa K. The Role of the Gastric Afferent Vagal Nerve in Ghrelin-Induced Feeding and Growth Hormone Secretion. 85th The Endocrine Society, 2003.

⑤山内敏正、尾池雄一、脇 裕典、戸部一之、佐伯武頼、中里雅光、山村研一、永井良三、木村 哲、門脇 孝：CBP ヘテロ欠損マウスを用いたレプチン/アディポネクチン非依存性の体重・糖代謝調節経路の同定 第76回日本内分泌学会学術総会，2003年

⑥十枝内厚次、伊達 紫、村上 昇、舟橋久幸、塩田清二、井上修二、寒川賢治、中里雅光：視床下部腹内側核破壊ラットにおけるグレリン発現 第76回日本内分泌学会学術総会，2003年

⑦柴田美雅、中里雅光、上田陽一：ラット嗅球におけるオレキシンの役割の検討 第76回日本内分泌学会学術総会，2003年

## H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし