

血管平滑筋における rhGH による *mitochondrial transcription factor 1 (mtTF1) mRNA* レベルの変化

RT-PCR により、血管平滑筋細胞において rhGH が mtTF1 mRNA を増加させることが再確認された。さらに、定量 PCR では、コントロール群、rhGH 1ng/ml, rhGH 10ng/ml, rhGH 100ng/ml 投与群のスレッシュホールドサイクルは各々 31.280±0.136, 30.767±0.242, 30.675±0.394, 29.001±0.422 (n=3, mean ± SD) であり、rhGH が mtTF1 mRNA を用量反応性に増加させることが明らかとなった。

血管平滑筋における IGF-I による *mtTF1 mRNA* レベルの変化

定量 PCR では、コントロール群と 100 ng/ml の IGF-1 投与群のスレッシュホールドサイクルは各々 31.222±0.068 と 30.647±0.073 (n=3; mean ± SD) であり、100 ng/ml の IGF-I は血管平滑筋において mtTF1 mRNA のレベルをごくわずかに増加させたのみで、統計学的に有意差は認められなかった。

L6 細胞における GH、および IGF-I による *mtTF1 mRNA* レベルの変化

rhGH の mtTF1 mRNA 発現増強効果が GH 受容体を介する効果か否か明らかにする目的で、GH 受容体を持たない L6 細胞において、同様に mtTF1 mRNA レベルの変化を調べた。定量

PCR を行ったところ、L6 細胞において、コントロール群、100ng/ml の rhGH、100 ng/ml の IGF-1 投与群のスレッシュホールドサイクルは各々 24.746±0.163, 25.666±0.251, 25.446±0.217 (n=3; mean ± SD) であり、100ng/ml の rhGH、IGF-I とも mtTF1 mRNA レベルを変化させないことがわかった。

血管平滑筋細胞における JAK2 阻害剤 AG490 による *mtTF1 mRNA* レベルの変化

コントロール群、rhGH 1ng/ml, rhGH 10ng/ml, rhGH 100ng/ml、10 nM AG490 前処置後 100ng/ml-GH 投与群のスレッシュホールドサイクルは各々 31.280 ± 0.136, 30.767 ± 0.242, 30.675 ± 0.394, 29.001 ± 0.422, 31.532 ± 0.953 (n=3, mean ± SD) であり、10 nM の AG490 による前処置で、rhGH 投与の mtTF1 mRNA 発現増強効果は抑制された。

#### D 考察

今回の研究で、私どもは rhGH が mitochondrial cytochrome oxidase subunit II/III の mRNA を増加させることを見いだした。mitochondrial cytochrome oxidase は 13 のサブユニットから構成されている。I、II、III のサブユニットはミトコンドリアのゲノムにコードされているが、そのほかのサブユニットは核のゲノムにコードされて

いる。I、II、IIIのサブユニットの発現は、核のゲノムにコードされている mitochondrial transcription factor 1 (mtTF1, または mtTFA や Tfam と呼ばれている)に支配されている。そのため、私どもはその mtTF1 そのものの発現が rhGH によって制御されているのではないかと予想し、それについて定量 PCR で検討したところ、rhGH が mtTF1mRNA 量を容量依存性に増加させることを見出した。

血管平滑筋は GH 受容体を持っており、GH はその受容体に作用し、IGF-I の合成を亢進させる。その結果産生された IGF-I は、オートクライン的に作用して細胞の増殖を促進することがすでに報告されている。しかしながら、今回の実験では IGF-I は mtTF1 の mRNA 量を変化させなかった。このことより、mtTF1 mRNA の増加は GH によって産生される IGF-I を介する作用ではないことが示唆された。

一方、JAK2 インヒビターである AG490 は、rhGH によって引き起こされる mtTF1 mRNA の発現増加をほぼコントロールレベルまで抑制した。また、GH 受容体を持たない L6 細胞において、rhGH は mtTF1mRNA 量を変化させなかった。これらの成績は、血管平滑筋において、GH は GH 受容体-JAK2 経路を介して

mtTF1mRNA 量を増加させることを示唆する。

mtTF1 はミトコンドリアの遺伝子発現を制御しているだけではなく、ミトコンドリアの複製も支配しているので、今回の実験成績から、GH はミトコンドリアの数にも影響をおよぼしている可能性が考えられる。過剰量の GH は動脈硬化促進作用だけでなく、循環器系に好ましい影響を与える場合もある。たとえば、拡張型心筋症や虚血性心疾患の患者において、GH 投与により心機能や臨床症状が著明に改善したと報告されている。GH により誘導された mtTF1 が、ミトコンドリア数にも影響し、ATP 産生を高め、心機能の改善に関与しているのかもしれない。

## E 結論

血管平滑筋細胞において、GH は mtTF1 mRNA 量を上昇させ、その結果として、mitochondrial cytochrome oxidase subunit II / III mRNA 量を増加させる。これは、ミトコンドリア機能と GH の結びつきを示唆するはじめての成績である。この生理的意義についてはさらに検討する必要がある。

## F 健康危険情報

なし

## G 研究発表

### 1 学会発表

成長ホルモン投与による成長ホルモン欠損ラット (SDR) 心筋での遺伝子発現の変化—マイクロアレイを用いた検討

吉岡嗣朗、置村康彦、加治秀介、竹野亮子、工藤工、高橋健太郎、岸本正彦、井口元三、高橋裕、千原和夫  
第76回日本内分泌学会学術総会  
日本内分泌学会雑誌79巻1号、199頁、2003年

### 2 論文発表

Up-regulation of mitochondrial transcription factor1 mRNA levels by GH in VSMC

Yoshioka s, Okimura Y, Takahashi Y, Iida K, Kaji H, Matsuo M, Chihara K.  
Life Sci. in press

A study of carotid intima-media thickness in GH-deficient Japanese adults during onset among adults and children.

Murata M, Kaji H, Mizuno I, Sakurai T, Iida K, Okimura Y, Chihara K.

Euro J Endocrinol 148:333-338, 2003

Diverse regulation of full-length and truncated growth hormone receptor expression in 3T3-L1 adipocytes.

Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Yoshioka S, Murata M, Iguchi G, Okimura Y, Chihara K.

Mol Cell Endocrinol. 210:21-9, 2003

Cloning of a protein binding to the most proximal Pit-1 binding element of prolactin gene from human pituitary cDNA library.

Fumoto M, Okimura Y, Sakagami Y, Iguchi G, Kishimoto M, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K.

Mol and cell Endocrinol 207:31-38, 2003

Lactogenic hormone responsive element reporter gene activation assay for human growth hormone.

Sakatani T, Kaji H, Takahashi Y, Iida K, Okimura Y, Chihara K.

Growth Horm IGF Res 13:275-81, 2003.

Cloning and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene.

Kishimoto M, Okimura Y, Iguchi G,

kudo T, Takahashi Y, Kaji H, Chihara  
K.

Biochemical and Biophysical  
Research Communications  
305:186-92, 2003

Mutant form of Pit-1 (R271W)  
does not act as a dominant  
inhibitor of Pit-1 action to  
activate the promoters of growth  
hormone and prolactin genes.

Kishimoto M, Okimura Y, Fumoto M,  
Iguchi G, Iida K, Kaji H, Chihara  
K.

Euro J Endocrinol 148:619-25,  
2003

The role of circulating ghrelin in  
growth hormone (GH) secretion in  
freely-moving rats.

Okimura Y, Ukai K, Hosoda H, Murata  
M, Iguchi G, Iida K, Kaji H, Kojima  
M, Kangawa K, Chihara K  
Life Sci. 72:2517-24, 2003

**H 知的財産権の出願・登録状況**  
該当無し

20030208

以降 P.47－P.97は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.101－P.106の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kaji H, S Hattori, K Sekita, T Sugimoto, <u>K Chihara</u>	Factors affecting bone mineral density in hemodialysis patients with diabetic nephropathy	Endocrine Journal	50	127-133	2003
Okimura Y, K Ukai, H Hosoda, M Murata, G Iguchi, K Iida, H Kaji, M Kojima, K Kangawa, <u>K Chihara</u>	The role of circulating ghrelin in rowth hormone (GH) secretion in freely moving male rats	Life Sciences	72	2517-2524	2003
Murata M, H Kaji, I Mizuno, T Sakurai, K Iida, Y Okimura, <u>K Chihara</u>	A study of carotid intima-media thickenss in GH- deficient Japanese adults during onset among adults and children	Europian Journal of Endocrinology	148	333-338	2003
Yano S, T Sugimoto, T Tsukamoto, <u>K Chihara</u> , A Kobayashi, S Kitazawa, S Maeda, R Kitazawa	Decrease in vitamin D receptor and calcium-sensing receptor in highly proliferative parathyroid adenomas	Europian Journal of Endocrinology	148	403-411	2003
Kishimoto M, Y Okimura, M Fumoto, G Iguchi, K Iida, H Kaji, <u>K Chihara</u>	The R271W mutant form of Pit-1 does not act as a dominant inhibitor of Pit-1 action to activate the promoters of GH and prolactin genes	Europian Journal of Endocrinology	148	619-625	2003
Kanatani M, T Sugimoto, J Kano, M Kanzawa, <u>K Chihara</u>	Effect of high phosphate concentration on osteoclast differentiation as well as bone- resorbing activity	Journal of Cellular Physiology	196	180-189	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sowa H, H kaji L Canaff, G N Hendy, T Tsukamoto, T Yamaguchi, K Miyazono, T Sugimoto, <u>K Chihara</u>	Inactivation of menin, he product of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene, inhibits the commitment of multipotential mesenchymal stem cells into the osteoblast lineage.	J Biol Chem	278	21058- 21069	2003
Kishimoto M, Y Okimura, H Nakata, T Kudo, G Iguchi, Y Takahashi, H Kaji, <u>K Chihara</u>	Cloning and characterization of the 5' -flanking region of the human ghrelin gene	Biochem Biophys Res Commun	305	186-192	2003
Oishi K, K Toma, K Matsuo, T Nakai, <u>K Chihara</u> , H Fukuyama	Cortical motor areas in plantar response:an event- related functional magnetic resonance imaging study in normal subjects	Neuroscience Letters	345	17-20	2003
Hori H, H Nakata, G Iguchi, H Yamada, <u>K Chihara</u> , H Baba	Oncogenic ras Induces gastrin/ CCKB receptor gene expression in human colon cancer cell lines LoVo and Colo320HSR	J Lab Clin Med	141	335-341	2003
Fumoto M, Y Okimura, Y Sakagami, G Iguchi, M Kishimoto, Y Takahashi, H Kaji, <u>K Chihara</u>	Cloning of a protein binding to the most proximal Pit-1 binding element of prolactin gene from human pituitary cDNA library	Molecular and Endocrinolog y	207	31-38	2003



発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yano S, T Sugimoto, T Tsukamoto, T Yamaguchi, T Hattori, K-I Sekita, H Kaji, S Hattori, A Kobayashi, <u>K Chihara</u>	Effect of parathyroidectomy on bone mineral density in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism: possible usefulness of preoperative determination of parathyroid hormone level for prediction of bone regain	Horm Metab Res	35	259-264	2003
Qingxiang Chen, H Kaji, Mei-Fway IU, R Nomura, H Sowa, M Yamauchi, T Tsukamoto, T Sugimoto, <u>K Chihara</u>	Effects of an excess and a deficiency of endogenous parathyroid hormone on volumetric bone mineral density and bone geometry determined by peripheral quantitative computed tomography in female subjects	J Clin Endocrinol Metab	88	4655-4658	2003
Qingxiang Chen, H Kaji, R Nomura, H Sowa, M Yamauchi, T Tsukamoto, T Yamaguchi, A Kobayashi, T Sugimoto, <u>K Chihara</u>	Trial to predict malignancy of affected parathyroid glands in primary hyperparathyroidism	Endocrine J	50	527-534	2003
Kawamoto K, M Nagano, F Kanda, <u>K Chihara</u> , Y Shigeyoshi, H Okamura	Two types of VIP neuronal components in rat suprachiasmatic nucleus	Journal of Neuroscience Research	74	852-857	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Gomyo H, M Shimoyama, K Minagawa, K Yakushijin, N Urahama, A Okamura, K Yamamoto, M Ito, K Chihara, T Matsui	Effective anti-viral therapy for hemophagocytic syndrome associated with b-cell lymphoma	Leukemia & Lymphoma	44	1807-1810	2003
S. Yoshioka, Y. Okimura, Y. Takahashi, K. Iida, H. Kaji, M. Matsuo, K. Chihara	Up-regulation of mitochondrial transcription factor 1 mRNA levels by GH in VSMC	Life Science	74	2097-2109	2004
関口兼司、大石健一、濱口浩敏、前田伸也、西本啓介、石原広之、荻田典生、千原和夫	出血性帯状疱疹ヘルペス脳炎をきたしたSLEの1例	日本内科学会雑誌	92	1328-1330	2003
竹野亮子、井口元三、工藤工、高橋健太郎、岸本正彦、高橋裕、置村康彦、加治秀介、笹野公伸、千原和夫	原発性アルドステロン症と preclinical Cushing 症候群を合併し、同一副腎内に個々にアルドステロンとコルチゾールの自律性分泌腫瘍を認めた一例	日本内分泌学会雑誌	79Suppl	103-106	2003
岸本正彦、置村康彦、井口元三、高橋裕、加治秀介、千原和夫	CAMP 依存性 Pit-1 仲介遺伝子発現増強機序の解明	日本内分泌学会雑誌	79Suppl	141-143	2003
吉岡嗣朗、塚本達雄、千原和夫	冠動脈硬化と血管平滑筋細胞	日本臨床	61 (増刊号4)	80-85	2003
千原和夫	リンパ球性下垂体炎	内科	91	1442-1443	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
千原和夫	ソマトスタチンアナログ	内科	91	1444-1445	2003
高橋 裕 千原和夫	ホルモン補充療法- ヒト成長ホルモン	臨床と研究	80	1859-1861	2003
内藤純子、梶 博史、余 美 慧、野村利可 子、宗和秀明、 陳 慶祥、山 内美香、塚本 達雄、杉本利 嗣、千原和夫	慢性C型肝炎患者に 全身性び慢性骨硬化 症及び高PTH血症を きたした一例	CLINICAL CALCIUM	13	1072-1076	2003
千原和夫	特集 代謝性骨疾患 序論	最新医学	58	2607-2608	2003
井口元三 千原和夫	成人成長ホルモン分 泌不全症	薬の知識	54	346-349	2003
濱口浩敏、苅 田典生、小西 淳也 藤井正彦、千 原和夫	頸動脈狭窄病変の診 断における multidetector- row CT(MDCT)の有用 性と超音波、MRAと の比較	脳卒中	25	305-311	2003
高橋 裕、千 原和夫	末端巨大症と年齢	老年病診療 Q&A	40	1301/6- 1301/9	2003

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Hayakawa, M and <u>K. Chihara</u>	Activity of GH isoforms: effects of recombinant 20 kDa human growth hormone in adult patients with growth hormone deficiency	Ed. C. J. Strasburger	In pituitary and periphery: communication In and Out	Bio Scientifica Ltd	Bristol	2003	127-134
<u>千原和夫</u>	下垂体前葉機能低下症	山口 徹 北原光夫	今日の治療指針2003年版	医学書院	東京	2003	511-512
<u>千原和夫</u>	巨人症、末端肥大	杉本恒明 小俣政男	内科鑑別診断学 第2版	朝倉書店	東京	2003	254-261
<u>千原和夫</u>	下垂体機能亢進症	黒川 清 松澤佑次	内科学 第2版	文光堂	東京	2003	1205-1210