

論文の内容の要旨

獣医学専攻

平成 10 年度博士課程 入学

氏名 茂木 一孝

指導教官名 西原 真杉

論文題目 シバヤギを用いた成長ホルモンパルス発生機構の神経内分泌学的解析

成長ホルモン (GH) は、体成長促進や代謝調節、乳汁分泌促進など多様な生理作用を持つホルモンである。GH は下垂体から末梢血中へ種に固有のパターンで律動的に、すなわちパルス状に分泌されているが、GH の生理作用の発現はそのパルスパターンに依存している。そのため、GH パルス発生機構を明らかにすることは、GH の分泌異常に起因する病態の解明や、GH による資源動物の機能制御法の開発にとっても極めて重要である。GH の分泌には視床下部から下垂体門脈へと分泌される神経ペプチドである GH 放出ホルモン (GHRH) とソマトスタチン (SRIF) が大きな役割を果たしており、GH パルスは前者による促進的作用と後者による抑制的作用の相反的な制御の結果として発生するものと想定されている。しかしながら、下垂体門脈からの連続的な採血が困難であること、GH 分泌がストレスにより容易に抑制されることなどから、GHRH、SRIF の分泌動態と GH パルスとの関係は依然として明確ではない。さらに近年、GH の分泌が脳内、あるいは消化管由来の多くのペプチドにより影響を受けることが明らかになってきている。なかでも、視床下部における摂食促進因子として同定されたニューロペプチド Y (NPY) が GH 分泌抑制作用をもつことや、GH 分泌促進作用をもつ合成ペプチドとして開発されてきた GH セクレタゴグ (GHS) の受容体に対する内因性リガンドとして胃から単離されたグレリンが摂食促進作用を併せもつことなどが明らかとなり、摂食と GH 分泌との関係が改めて注目されている。また、やはり GH 分泌促進作用をも

つ神経ペプチドとして知られるガラニンの視床下部での発現が脂肪食負荷で高まることが報告され、GH パルスが消化管からの情報や体内の栄養環境により修飾を受け、代謝の合目的制御に与っている可能性が考えられている。

本論文は、脳脊髄液を連続的に採取して神経ペプチドの動態を経時的にモニターできる中型実験動物であるシバヤギを用いて、本モデル動物の GH パルスの特徴を解析するとともに、複数の神経ペプチドの分泌動態と GH パルスとの関係を検討することにより、GH パルスの発生機構や修飾機構を解明することを目的としたものである。本論文は 5 章から構成され、第 1 章では上記のような本研究の背景と目的を論じた後、第 2 章から第 4 章まで以下のような実験を行い、第 5 章において総合的な考察を行った。

第 2 章においては、雄シバヤギにおける GH の分泌動態を詳細に解析し、さらに春期発動後の去勢、あるいは GHS、アスパラギン酸 (Asp) の静脈内投与が GH 分泌へ及ぼす影響を検討した。頸静脈に留置したカニューレより 15 分毎に 24 時間に渡って採血を行い、血中 GH 濃度を測定した結果、雄シバヤギにおける典型的な GH 分泌は約 5 時間間隔で規則的に発生する 20 ng/ml 以上の振幅をもつ大きな GH パルス (ラージパルス) と、その間に存在する約 1 時間間隔の小さなピーク (スモールパルス) から構成されることが明らかとなった。去勢によって両パルスの間隔には変化は見られなかったが、個々のラージパルスの振幅が増加し、持続時間が短縮した。しかし、各パルスの曲線下面積は変化しなかった。このようにラージパルスの形状はアンドロジェンの影響を受けており、去勢による代謝の変化には直接的なアンドロジェン作用の欠失とともに、GH のパルスパターンの変化が関与していることが考えられた。なお、無処置雄、去勢雄ともに、少数例ながらスモールパルスの規則性は維持されているもののラージパルスが 5 時間よりも短い間隔で頻発した個体や、あるいは逆にラージパルスが全く認められない個体もあり、ラージパルスは栄養状態やストレスなど個体の置かれた状況を反映していることが示唆された。

GHS と Asp の静脈投与によっては、投与直後に大きな GH パルスが発生するとともに、その約 5 時間後に次のラージパルスが発生した。つまりラージパルスのリズムがリセットされることが明らかとなった。これらの結果は、血中のグレリンやアミノ酸など末梢からの情報がラージパルスの発生リズムを規定する因子として大きな役割を果たしていることを示唆している。

第 3 章においては、第 3 脳室に留置したカニューレから脳脊髄液を 15 分毎に採取して GHRH、SRIF 及び NPY の濃度を測定し、GH パルスや摂食との関連を検討した。まず、GHRH と SRIF の動態を解析した結果、両者はほぼ同期して約 1 時間間隔でパルス状に脳脊髄液中に放出されていることが明らかとなった。また、全ての GH パルスの 83%は

SRIF の下降期に発生していた。これらのことから、GH のスモールパルスは SRIF の GH 分泌抑制作用の解除によるリバウンド現象によって誘起されることが示唆された。GHRH は GH 合成促進作用などを介して、下垂体の GH 分泌能を維持していることが考えられた。

一方、NPY は GHRH、SRIF とは異なる分泌動態を示し、その基底レベルが約 2.5 時間周期で上下動を繰り返していることが明らかとなった。また、NPY 分泌の上昇と自発的な摂食行動がほぼ同期していることが初めて明らかとなり、この結果は NPY が生理的な摂食促進因子であることを強く支持するものである。さらに、GH のラージパルスと NPY の減少が同期していることが明らかとなった。ラージパルスが約 5 時間間隔で発生する典型例では、NPY の減少が常にラージパルスの発生を伴っているわけではなかったが、ラージパルスが 5 時間より短い間隔で発生するような個体では、NPY 分泌が減少する毎に GH ラージパルスが発生していた。NPY は GH 分泌に対して抑制的に作用することが知られていることから、NPY の抑制解除がラージパルスを誘起することが示唆された。また、これらの結果より、摂食制御系と GH 分泌制御系はリンクしており、食間期に GH ラージパルスを発生させ代謝の恒常性を維持するような仕組みが存在することが考えられた。

第 4 章においては、上述のように GH 分泌抑制作用をもつ NPY、また GH 分泌促進因子として知られるグレリンとガラニンを第 3 脳室内に投与し、脳脊髄液中の神経ペプチド、及び血中 GH の動態を解析し、それらの作用機構を検討した。NPY を第 3 脳室内に投与したところ、脳脊髄液中の GHRH 濃度は顕著に上昇したが、SRIF 濃度には特に変化は認められなかった。また、血中 GH 濃度にも明確な変化は見られず、ラージパルスの発生も NPY 投与後には抑制されていた。したがって、NPY は SRIF を介さず下垂体に対して直接に作用して GH 分泌を抑制する一方、GHRH を介して GH の分泌能自体は維持しているという 2 面的な作用を有することが示唆された。

グレリン及びガラニンはともに GH 分泌を促進したが、グレリンの GH 分泌促進活性は投与後 1 時間の積算値にしてガラニンの約 10 倍と強力なものであった。両者は GHRH 分泌を同程度促進したが、SRIF 分泌には影響しなかった。しかし、ガラニンが脳脊髄液中への NPY 分泌を顕著に促進したのに対し、グレリンは NPY 分泌に影響しなかったことから、両者の GH 分泌促進活性の差には NPY が関与していることが示唆された。第 2 章における GHS の効果と併せて考えると、グレリンは消化管からの情報を視床下部へ伝達し、その強力な GH 分泌促進活性でラージパルスのリズムの形成に関与していることが考えられた。一方、ガラニンはおそらく末梢の脂質代謝などの情報を仲介し、GH パルスを修飾していることが考えられた。

以上、本論文の研究により、雄シバヤギにおける GH パルスはそれぞれ約 5 時間、1 時間を周期とするラージパルス、スモールパルスから構成され、特にラージパルスの発生はアンドロジェンやアミノ酸などの影響を受けており、GH の生理作用の発現に重要であると考えられた。また、GHRH と SRIF は約 1 時間間隔で同期して放出され、GH のスモールパルス発生に関与していることが示唆された。一方、NPY の放出は約 2.5 時間周期の変動を示し、上昇期は摂食行動と、下降期はラージパルス発生と同期しており、栄養摂取と内分泌環境が協調的に制御されていることが示唆された。ただ、NPY の下降期に常にラージパルスが発生するのではないことから、ラージパルスの 5 時間周期を形成するにはさらに他の因子の関与が必要であると考えられ、今後の検討課題として残された。さらに、ラージパルスのリズムの形成には消化管からの情報や末梢の栄養環境がグレリンやガラニンなどのペプチドを介して影響を与えており、代謝の恒常性維持に貢献していることが示唆された。本研究で得られた知見はシバヤギのみならず哺乳類一般へと適用できるものと考えられ、ヒトにおける低身長や肥満の治療、資源動物における成長促進や乳量増進などにも貢献できるものと考えられた。