

論文の内容の要旨

獣医学 専攻

平成 13 年度博士課程 入学

氏 名 米澤 智洋

指導教員名 西原 眞杉

論文題目 雌性動物における成長ホルモンパルスの生物学的意義に関する研究

ヒトや家畜をはじめとする全ての哺乳動物は、代謝・内分泌機構により一定のエネルギー平衡を保っている。ホメオスタシスと呼ばれるこの現象は、個体が生命を維持するうえで重要な機構である。しかし、個体が自己の生存率を高めるような「個体の維持」を目的とする場合と、次世代をより多く残すために繁殖効率を高めるような「種の維持」を目的とする場合とでは、最適と思われるエネルギー代謝のバランスは必ずしも一致しない。したがって、状況によって代謝のバランスを変動させる、上位の制御機構の存在が予想される。このような機構の存在は、次世代を残すために妊娠、出産、授乳を行う雌性動物において、特に重要であると考えられる。

成長ホルモン（GH）は、視床下部の神経ペプチド群による制御をうけて、下垂体前葉より分泌されている。GHは、体成長促進作用のみならず、インスリン様成長因子 I（IGF-I）放出や、脂肪燃焼促進などによる糖脂質代謝量の変動という生体のエネルギー平衡を調節するホルモンとして、ホメオスタシス制御に密接に関与している。GHはパルス状／持続的など様々な分泌動態を示し、この多様な分泌動態がGHの生理作用の発現を決定している。したがって、様々な環境条件下で発現するGH分泌動態の解析と、これを形成する視床下部

神経ペプチド群の GH 分泌制御機構の解明は、個体のホメオスタシスを理解する上で重要な知見を与えるものと考えられる。また、GH の分泌動態には性差が存在し、雌性動物は雄性動物に比べて GH パルスの規則性がみとめられにくいため、詳細な研究・解析が待ち望まれていた。

そこで本研究では、視床下部近傍の第三脳室から脳脊髄液（CSF）を連続的に採取することが可能なシバヤギの、雌ないし去勢雌（OVX）を用いて、いくつかの環境下での GH パルスの動態と、これを形成する神経ペプチド群の分泌動態を解析し、雌性動物における成長ホルモンパルスの形成機序とその生物学的意義を解明することを目的とした。

まず、雌性動物の繁殖活動にともなったエネルギー代謝調節機構を明らかにするために、第 2 章第 1 節では性周期および OVX による GH の分泌動態の変動について観察するとともに、雌性ステロイド処置の GH 分泌動態に対する影響を調べた。2-4 歳の雌ヤギの初期黄体期（発情より 1-8 日後）、後期黄体期（発情より 9-18 日後）、および卵胞期（発情より 19 日-次回発情）と、OVX ヤギにおける 15 分毎の血中 GH 濃度変化を 24 時間にわたって測定した。その結果、OVX ヤギでは、約 6 時間に 1 回の明瞭な GH パルスとその間の低い基底値が観察された。OVX ヤギの GH パルスは去勢雄ヤギのそれと比べパルス振幅が低く、GH パルスに性成熟前に生じる性差が存在することが示唆された。初期黄体期では OVX ヤギによく似た GH 分泌動態を示したのに対し、後期黄体期では GH パルス頻度、振幅の減少がみられた。逆に、卵胞期ではパルス頻度、振幅の増加がみられた。また、プロゲステロンを留置した OVX ヤギでは、GH パルス振幅の下降がみられ、エストラジオールを皮下投与した OVX ヤギでは、GH パルス振幅の著しい上昇がみられた。以上の結果から、雌ヤギにおいて、GH パルスは後期黄体期にプロゲステロンの作用により抑制され、卵胞期にエストロジェンの作用により亢進する、性周期変動をもつことが明らかになった。さらに、卵胞期では、GH パルスの亢進と同期して血中 IGF-I や遊離脂肪酸（FFA）の上昇がみられた。以上より、雌性動物は、性周期に伴い変動する性ステロイドによって、GH パルスの頻度や振幅を抑制・亢進させて、蛋白同化・脂肪分解等を制御し、黄体期には脂肪を蓄積して妊娠に備える代謝バランスに、卵胞期には脂肪分解や生殖器官の細胞増殖分化を高める代謝バランスに調節して、個体の維持、および次世代の作出に最も適切な代謝・内分泌環境を保持していると考えられた。

つぎに、栄養状態の悪化により個体の維持が困難な場合のエネルギー代謝調節機構を明らかにするために、第 2 章第 2 節では、低栄養条件に曝されたときの GH 分泌動態について検討した。OVX ヤギに 3 日間の絶食条件を負荷し、12 時間にわたって 15 分毎の採血を行うことで、急性的な低栄養条件による GH パルスへの影響を観察した。また、1 日 2 時間の制限給餌条件を負荷し、制限給餌開始より 2 週間、1 ヶ月、2 ヶ月の時点で連続採血を行い、

慢性的な低栄養条件に曝されたときの GH パルス動態の変動も同時に検討した。その結果、急性的な低栄養状態や慢性的な低栄養状態の初期において、通常の分泌動態より規則性の乱れた、高頻度で低振幅の GH パルスが観察され、単位時間あたりの GH 分泌量は増大した。このときの血中 FFA は増大していた。一方、2ヶ月に渡る長期の慢性的な低栄養条件下では、GH パルスの振幅はさらに低下し、単位時間あたりの分泌量も低下していた。以上の結果より、短期の低栄養条件下では、GH は持続的とも表現できるような分泌動態を示し、エネルギー消費量を下げることなく脂肪の利用効率を向上させるような代謝バランスの維持に貢献していると考えられた。一方、長期の低栄養条件下では、GH の分泌が著しく低下することにより、エネルギー消費量を落とし、低栄養条件に適応した代謝バランスの維持が達成されると考えられた。このように、生体の GH 分泌動態は低栄養状態において、その深刻度に応じた 2 種類のパターンを示し、これがエネルギー源の枯渇状況に対応したエネルギー代謝バランスの維持に貢献しているものと考えられた。

続いて第 3 章では、状況に応じて変化する GH の分泌動態の形成に、視床下部由来の神経ペプチド群がどのように関与しているかを知るために、GH 分泌促進因子である GH 放出ホルモン (GHRH) と GH 分泌抑制因子であるソマトスタチン (SRIF)、さらに、近年、GH パルス形成に関与する可能性が示唆されているニューロペプチド Y (NPY) の分泌動態について解析を行った。OVX ヤギの第三脳室より CSF を連続的に採取して、上記の神経ペプチド群の分泌動態を、GH の分泌動態と比較することで、OVX ヤギにおける GH パルス制御機構について追究した。

第 3 章第 1 節では、通常状態にある OVX ヤギの GHRH、SRIF、NPY の分泌動態と GH パルスとの関係について、パルス解析、相互相関解析および近似エントロピー解析を用いて詳細に検討した。その結果、OVX ヤギの GH パルスは、約 3 時間周期の NPY のパルス状の分泌減少 (NPY トラフ) や、約 1.5 時間周期の GHRH パルスとの間に相関が認められた。NPY については GH に約 15 分先行した負の相関もみとめられた。これに対し、SRIF は約 2 時間周期の分泌動態を示すものの、GH に対する明確な相関はみとめられなかった。また、NPY の脳室内投与中に GH セクレタゴグの静脈注射を行って NPY の GH 放出に対する効果を検討した結果、NPY の存在下では GH 放出刺激に対する GH の反応性が著しく減退することが示された。以上の結果より、通常の状態における OVX ヤギの GH パルスの発生は、GHRH による分泌促進作用に影響を受けながらも、抑制性因子である NPY の分泌動態に特に依存して形成されることが明らかになった。

以上の知見をふまえて、第 3 章第 2 節では、第 2 章で調べた環境条件下における、GH パルスと神経ペプチドの関係を第 3 章第 1 節と同様の手法で解析した。OVX ヤギにエストラジオールを皮下投与することによって、NPY の分泌量は著しく減少し、GH との相関を失っ

たのに対し、GHRH パルスは頻度の減少と持続時間の延長がみられ、パルスあたりの分泌量が増加し、GH パルスに対する同期性がより強く認められるようになった。すなわち、エストラジオール存在下では NPY による GH 分泌抑制作用が解除され、同時に GHRH による GH 分泌促進作用が強化されることで、パルス振幅の大きい GH 分泌動態が発現したと考えられた。一方、OVX ヤギに 3 日間の絶食条件を負荷した場合、NPY 分泌量は低下し、GH との相互相関を失ったのに対して、SRIF の分泌量は上昇し、GH パルスと負の相関を有するようになった。すなわち、急性的な低栄養条件下では NPY の GH 分泌抑制作用が解除され、かわりに SRIF による GH 分泌抑制作用が強化されることで、低振幅で高頻度な GH 分泌動態が発現したと考えられた。以上の結果は、第 3 章第 1 節で明らかにした NPY トラフの GH パルス発生機構が絶対的なものではなく、性ステロイドの影響や栄養条件によって NPY の GH 分泌抑制が解除された場合には、GHRH や SRIF による GH パルス発生機構が表面化することを示すものである。すなわち、GH パルス発生機構とはある特定の一つの因子の変動によって決定されるものではなく、複数の GH パルス発生因子の分泌が栄養状態や生殖環境の変化などに対応して変動することにより、その状況にもっとも適した GH パルス動態が形成されていると考えられた。

以上、本研究によって、雌性動物も特有のパルス状の GH 分泌動態を有し、性周期や栄養状態によって柔軟に変動することが示された。また、GH パルス発生機構は、GHRH と SRIF の単純な二重支配によるものではなく、NPY を含めた包括的な制御機構によって形成されており、状況に応じてパルス形成の主導となる神経ペプチドが変化して、GH パルスの発現を調節していることが示された。この GH パルス動態の変動は、雌性動物が直面する多様な状況に応じて、最も適応性の高い生理状態を維持するために、ホメオスタシスの基準となるエネルギー代謝バランスの均衡点を変化させる重要な代謝調節機構の一つと考えられる。