



Physiological role of somatostatin-mediated autofeedback regulation for growth hormone : importance of growth hormone in triggering somatostatin release during a trough period of...

佐藤, 倫明

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1989-12-06

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1354

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001354>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	さ とう みち あき 佐 藤 倫 明 (山口県)
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医博ろ第1113号
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位授与の日付	平成元年12月6日
学位論文題目	Physiological Role of Somatostatin-Mediated Autofeedback Regulation for Growth Hormone : Importance of Growth Hormone in Triggering Somatostatin Release during a Trough Period of Pulsatile Growth Hormone Release in Conscious Male Rats (ソマトスタチンを介する成長ホルモン自己調節機構の生理的役割 : 雄ラットの脈動的成長ホルモン分泌の底期に亢進するソマトスタチン放出の誘発における成長ホルモンの重要性)
審 査 委 員	主査 教授 藤 田 拓 男 教授 中 村 肇 教授 千 原 和 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【緒 言】

ヒトを含む多くの哺乳動物では成長ホルモン (GH) は脈動的に分泌されているが個体の正常な成長発育にはこの GH の脈動的な分泌リズムが必要不可欠で、これが何らかの原因で崩れると発育障害 (ヒトの場合は小人症) をきたす。従って脈動的な GH 分泌の機序を解明することは小人症の病因究明や治療法を見出す上で極めて重要である。ヒトのみならずラットにおいても脈動的 GH 分泌は観察されるためラットを用いた GH の分泌リズムの研究はしばしば行われる。成熟雄ラットでは約3時間周期で血漿 GH が著しく高値を示す分泌頂期と、極めて低値となる分泌底期とを規則正しく交互に繰り返す特有の脈動的 GH 分泌リズムを示す。GH 分泌は主として二つの相反する作用をもつ視床下部ペプチド、GH 放出因子 (GHRH) と GH 抑制因子であるソマトスタチン (SRIF) によって直接的な調節を受けているが、ラットの脈動的 GH 分泌の頂期には主として GHRH が視床下部より下垂体門脈血中へ放出されて大きな GH の分泌ピークを形成し、続く底期には SRIF 放出亢進が起こって血漿 GH 分泌を低く抑制していると考えられている。この GH 分泌底期における SRIF 放出亢進の起こる機序として中枢神経系の“生物時計”のリズムに依存して約3時間周期で SRIF 放出亢進が発現する可能性を Plotsky らは提唱している。しかし、一方私共はラットを用いた in vivo の実験で外因性に GH を投与すると視床下部からの SRIF 放出が亢進することを以前に見出し、また他の研究者も in

vitro で GH が SRIF 放出を促進させることを確認しているので、私共は GH 分泌底期に先行する分泌頂期に分泌された GH が SRIF 放出の引き金となる可能性を考え、それを立証することを試みた。この可能性が立証されれば内因性 GH の分泌が亢進するとその GH が引続き SRIF 分泌を促し、その結果 GH 分泌が抑制されるという自己分泌制御機構、即ち GH 分泌調節における短環ネガティブフィードバック機構が生理的な環境下で作動していることをはじめて証明することになるので重要な研究課題と考えた。

【方 法】

SD 系成熟雄ラット（体重400-500g）の右心房内に慢性的にカニューレを留置して数時間にわたってこれより採血、後日ラジオイムノアッセイ（RIA）にて血漿 GH を測定した。実験に先立ち山羊を用いてラット GHRH に対する抗体（抗ラット GHRH 山羊 γ -グロブリン、GHRH-Ab）と SRIF に対する抗体（抗 SRIF 山羊 γ -グロブリン、SRIF-Ab）を作成した。これらの抗体はそれぞれの標的ペプチドに対して強い親和性と結合能を有し、in vivo でこれらを静脈内投与すると循環血液中の内因性 GHRH あるいは SRIF を中和しつそれぞれの生物学的活性を失わせることが可能であった。また正常山羊 γ -グロブリン（NG）を SRIF-Ab の対照として用いた。ラットを GHRH-Ab で前処置して内因性 GHRH の影響を除くと脈動的 GH 分泌は消失するが、GHRH-Ab と交叉反応を示さないヒト GHRH（1-29）アナログ（hGHRH アナログ）を投与すると明確な血漿 GH 反応が観察される。視床下部の GH 調節因子は主に GHRH と SRIF の二つであるので、この hGHRH アナログ投与後の血漿 GH 増加反応は下垂体門脈血中を運ばれてきた SRIF によって影響される。即ち SRIF の存在下では hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応は共存する SRIF の量に応じて抑制される。しかし GH RH-Ab 処置に加えて SRIF-Ab を投与し内因性 SRIF も中和すると内因性 SRIF による抑制は解除され、hGHRH アナログ投与後には比較的一定した大きな血漿 GH 反応がみられる。そこで GHRH-Ab 投与群と GHRH-Ab + SRIF-Ab 併用群における hGHRH アナログ投与後血漿 GH 反応を比較することによって内因性 SRIF の分泌量を間接的に推測することができる。この手法を用いて、1）脈動的 GH 分泌が消失した条件のもとで尚、約3時間おきに視床下部 SRIF の放出亢進が起こるか否か、2）分泌頂期に分泌された GH が SRIF 放出亢進の引き金となりうるか否かについて検討した。具体的には「結果および考察」の項で後述する。

【結果および考察】

NG だけを処置したラットでは脈動的 GH 分泌はよく保持され、hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応は分泌底期では分泌頂期に比べて著しく鈍化したが、これは分泌底期における SRIF の放出亢進を示唆するものと考えられる。次に GHRH-Ab を投与して脈動的 GH 分泌を完全に消失させたのち、hGHRH アナログを1時間おきに7回静注して血漿 GH 反応を観察した。GHRH-Ab および NG で前処置した時、もし SRIF がこの条件下でも約3時間周期で放出亢進が起こるのであれば血漿 GH の反応値は3時間おきに低下するはずであるが、実際には NG のみで処置した時とは対照的にいずれ

の時間帯でも hGHRH アナログに対して血漿 GH は明らかに増加し、しかもそれらの反応値の間にほとんど差はなかった。さらに GHRH-Ab に加えて SRIF-Ab も投与して内因性 SRIF も中和した時、hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応は各時間帯でほぼ一様に増強された。以上の成績より脈動的 GH 分泌が消失した場合には、視床下部からの SRIF は 3 時間おきに放出亢進が起こるのではなく一定量が持続的に分泌されることが示唆される。続いて先行する分泌頂期に分泌された GH が分泌底期の SRIF 放出亢進の引き金となる可能性について検討した。実験方法はやはり GHRH-Ab + NG, あるいは GHRH-Ab + SRIF-Ab で前処置したラットで GH を外因性に投与した時、その後の hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応がどのように影響されるかを観察した。本実験の目的はあくまでも生理的な環境の中で分泌頂期の GH の役割を検討することであるため、外因性に投与した GH は成熟雄ラットで通常みられる脈動的 GH 分泌を可能な限り模倣するように留意した。実際には投与した GH はラットでも強力な生物活性を有することとラット GH の RIA 系で交叉反応を示さないことから合成ヒト GH (hGH) を用いた。また麻酔下の同一ラットで末梢血と下垂体茎を切断して湧出してくる下垂体門脈血の血漿 GH 濃度を測定すると、下垂体門脈血中の GH 濃度は末梢血中のそれに比べて約 200 倍の高値であった。従って脈動的 GH 分泌頂期の末梢血 GH 濃度の頂値は約 500 ng/ml 前後であるので、この時の下垂体門脈血中 GH 濃度はこの 200 倍の約 100 μ g/ml に達していると考えられる。hGH はラット GH に比べて約 4 倍強い生物活性を有することを考慮すると、投与された hGH が中枢神経系で脈動的 GH 分泌の頂期として認識されるためにはラットでの hGH の血中濃度が約 25 μ g/ml 程度となる必要がある。さらにラットでの脈動的 GH 分泌頂期は数十分持続し、しばしば多相性であることから hGH の投与方法として通常分泌頂期の時間帯にあたる 1200-1240h, および 1500-1540h に生食に溶解した hGH 1 mg を 20 分おきに 3 回ずつ静脈内投与した。この時のラット血漿中における hGH 濃度を実際に測定したところ、頂値は 1240h, 1540h にそれぞれ $26.6 \pm 7.4 \mu$ g/ml, $26.6 \pm 7.1 \mu$ g/ml で分泌頂期の GH 値として期待される値に近似しており目的に適した投与量であると考えられた。実験に際してはラットを 4 群に分け GHRH-Ab + NG あるいは GHRH-Ab + SRIF-Ab の前処置をしておき、それぞれについて hGH あるいは対照として生食を前述のごとく静脈内投与したのち、それに続く分泌底期に相当する時間帯の 1300h, 1400h, 1600h, 1700h に hGHRH アナログを負荷してこれに対する血漿 GH の反応値を比較した。GHRH-Ab + NG 処置群で生食を投与した時、hGHRH アナログに対して血漿 GH は明確な増加反応を示し、GHRH-Ab + SRIF-Ab 前処置群ではこの反応は有意に増強された。ところが hGH を静脈内投与した時 GHRH-Ab + NG 前処置群で内因性 SRIF が残存する場合には、hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応は著明にかつ有意に抑制された。GHRH-Ab に加え SRIF-Ab 処置を行ない内因性 SRIF の影響を除去した場合には、hGH 投与後の hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応の抑制は完全に解除された。以上の成績は脈動的 GH 分泌の頂期を模倣して投与した hGH が分泌底期に相当する時期に視床下部より SRIF 放出亢進を促し、それにより hGHRH アナログに対する血漿 GH 反応を抑制したことを示唆している。ところで hGH は成長促進作用の他に PRL 様作用を合せもつことが知られているので本実験の中で観察された hGH の効果は PRL 様作用により発現した可能性も否定できない。そこで hGH の他、

GH 様作用のない羊プロラクチン (oPRL), わずかに PRL 様作用を有するが成長促進作用が主体の ウシ GH (bGH) を同様に投与したところ, hGH, bGH 投与は続く hGHRH アナログ刺激による血漿 GH 反応を対照の生食投与群に比べて有意に抑制したが, oPRL の投与は hGHRH アナログの血漿 GH 反応に影響を与えなかった。この成績より hGH 投与後の SRIF 放出亢進が hGH の PRL 様作用によるのではなく純粋な GH 作用により惹起されたことがわかる。以上の成績をまとめると, 脈動的 GH 分泌が消失した時, SRIF はほぼ一定量が持続的に放出され約 3 時間おきの放出亢進は起こらない。しかし通常の分泌頂期に匹敵する GH の分泌亢進が起これば, その GH によって視床下部 SRIF 放出が促されることが明らかになった。一方 SRIF で前処置しておくとその後投与された GHRH に対する GH 反応を増強するなど, SRIF は GH の抑制作用の他, 逆説的に GH 分泌促進を補助する作用も有することが知られている。従って頂期, 底期が交互に規則正しく繰り返されるラットの脈動的 GH 分泌では底期に分泌された SRIF がこの時期の GH を低く抑制するためだけに働いているのではなく, 次の頂期の GH 分泌亢進を有効に行なわしめるためにも重要な役割を果たしていると思われる。この GH の短環フィードバック機構が正常に働いてはじめて正常な脈動的な GH 分泌リズムが維持され, さらに個体の正常な発育に寄与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

下垂体ホルモンの一つである成長ホルモンは小児の成長に不可欠であるばかりでなく, 成人の糖代謝調節の上にも重要な役割を果たす。成長ホルモンの分泌調節は成長ホルモン自身による自己調節と血糖その他の代謝産物による調節があるが, 視床下部及びその産生するペプチドであるソマトスタチンや GHRH の関与が大きい。視床下部から分泌される GHRH 成長ホルモン分泌促進因子は GH 分泌に促進的に, ソマトスタチンは逆に抑制的にはたらき, 生理的状态下でみられる GH の脈動性分泌にも重要な役割を果たしている。ソマトスタチンの GH 分泌自己調節における役割を明らかにするために, 本研究者はラットの脈動的 GH 分泌 (episodic secretion) の現象を用いてこの問題を検討した。麻酔の影響をさけるためにカテーテル挿入後覚醒し自由に動くことのできるラットを用い, 抗ソマトスタチン及び抗 GHRH 抗体の存在及び非存在下で, 外因性成長ホルモンを投与し, 内因性成長ホルモンの分泌に対する影響を調べた。抗 GHRH 抗体で前処置すると脈動性 GH 分泌は全く消失し, GHRH による分泌刺激が脈動性分泌の成立に重要であることが分った。自然の脈動状 GH 分泌の谷の部分に相当してみられるソマトスタチンの分泌の増加は, GHRH に対する反応性の低下によって示唆されるが, 抗 GHRH 抗体によって主要な GH の脈動分泌が停止した動物ではおこらなかった。他方, 抗 GHRH 抗体で前処置したラットにヒト GH を投与して脈動性分泌と同様に下垂体門脈血中の成長ホルモンレベルを変化させた場合には, GHRH によっておこった血中 GH 値の上昇は脈動性分泌の谷の部分にあたるソマトスタチン分泌の増加は普通にみられ, GHRH に対する反応性の低下がみとめられた。この抑制は抗ソマトスタチン抗体の投与によって完全に阻止されることから, ソマトスタチンの分泌増加によることがたしかめられた。牛 GH の投与は同様のソマトスタチン分泌増加をおこし

たが、羊プロラクチンではこのような効果はみとめられず、GHのソマトスタチンに対する作用は特異的なものであることがわかった。即ち、自然にみられるGHの脈動性分泌では、分泌の谷の部分でみられるソマトスタチンの放出は、その前におこるGHの分泌増加による自己調節の一環としてソマトスタチンが分泌されることによると思われる。このことはソマトスタチンがGH分泌の自己調節に重要な役割を果し、ことに生理的な状態でみられる律動的分泌に不可欠であることを示す。即ち、GHはソマトスタチンの分泌を刺激し、これを介してGH分泌を抑制して自己調節が成立する。

以上、本研究者は従来ほとんど行なわれなかった成長ホルモン分泌自己調節の機序について研究し新しい成果を得たもので、価値ある集積とみとめられる。よって、本研究者は医学博士の学位を得る資格があると考ええる。