

機関番号：12102

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500187

研究課題名 (和文) 美味しさを感じる神経機構に対する成長ホルモンの影響

研究課題名 (英文) Effects of growth hormone on the neural mechanisms of gustatory perception

研究代表者

野上晴雄 (NOGAMI HARUO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授

研究者番号：30119838

研究成果の概要 (和文)：個体の成長や脂質、糖質代謝に主要な働きを担う成長ホルモンが人の味覚嗜好に関与することが臨床的に示唆されている。本研究では運動や成長ホルモン自体の投与により体内の成長ホルモン環境を変化させた場合味覚嗜好に変化が見られるかどうかを、実験動物を用いて検討し、成長ホルモンの作用を仲介する分子である成長ホルモン受容体の脳内分布や発現調節に係る知見を得るとともに、成長ホルモン作用の変化がラットの甘味嗜好に与える影響を示唆する結果を得た。

研究成果の概要 (英文)：Accumulating data now suggest that growth hormone, a hormone involved in the promotion of body growth and carbohydrate metabolism, in the taste preference in humans. In this study, whether the changes in growth hormone levels affect taste preference was examined in rats. The data suggest the possible involvement of growth hormone in the regulation of sweet taste preference in rats. The study also revealed the distribution of receptors for growth hormone in the brain that mediate the action of the hormone.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：神経内分泌学

科研費の分科・細目：生物系、医歯薬学、基礎医学、解剖学一般

キーワード：成長ホルモン、味覚、成長ホルモン受容体

1. 研究開始当初の背景

食物に対する味覚嗜好は人により様々であり、何をおいしく感じるかについて多様な要素が影響している。例えば特定のアミノ酸が不足している人はそのアミノ酸が入った食物を、大量に汗をかいたときは塩辛いものをおいしく感じる。食べ物の歯ざわり、匂いも、さらには食事を皆で楽しく食べるか一人で食べるかといったことさえ味に大きく影響する。一方、女性には女性特有の味覚嗜好があるとされるように、ある条件を満たす人の集団が共通の味覚嗜好を示すことがある。若年者は一般に肉食を好むが高齢になるに従って魚を好むということもよく言われる。味覚嗜好に性差や年齢差があるとすればその原因は何であろうか。

ヒトの性差を生み出す生物学的背景は性ホルモンの違いである。また個体の成長はホルモン系によって制御されているし、個体の老化に伴ってホルモン環境は大きく変化する。このようなことはホルモンが味覚嗜好に影響を与えているのではないかと想像させる。事実、人では加齢とともに大きな味覚の変化が起こること多数報告されている。高齢化に伴う味覚の感度の低下、嗜好の変化は摂取する食品の品目の減少、ひいてはエネルギーや栄養のバランスを悪化させ、生活の質の低下を招くとされている (Seiberling ら、*Otolaryngol Clin North Am* 2004, 37:1209)。申請者らはこのような加齢に伴う味覚嗜好の変化の原因に老化に伴うホルモン環境の変化、特に成長ホルモン分泌の著しい低下があるのではないかと考えている。成長ホルモンは脳下垂体という内分泌腺から分泌されるホルモンで思春期の急速な成長をもたらすホルモンとしてよく知られているが、脳機能の調節にも関わる重要なホルモンである。最近では加齢に伴う成長ホルモン分泌の低下が、記憶・学習能力の低下、抑うつなどの原因となっていることが指摘されている。

(Smith ら、*Endocr Rev*, 2005, 26:203)。治療目的の大量の成長ホルモン投与には味覚の変化という副作用が指摘されていること、成長ホルモン分泌不全症患者 (小人症) では甘味の嗜好が強く偏食になりがちであることなども、成長ホルモンが加齢に伴う味覚の変化に関係している可能性を示している。

2. 研究の目的

本研究では成長ホルモンが味覚嗜好に影響を与えるかどうかを明らかにするために行った。具体的には以下の三点に焦点を絞って研究を行った。①脳内の成長ホルモン受容体の発現分布、発達に伴う発現量の変化の

検討、および脳で発現する成長ホルモン受容体の構造の検討、②運動に伴う脳内成長ホルモン受容体遺伝子発現、及び甘味嗜好の変化の検討、③成長ホルモン投与による甘味嗜好の変化の検討。

3. 研究の方法

(1) 脳内成長ホルモン受容体の解析

Sprague-Dawley 系オス、メスラット 8 週令から、大脳皮質、海馬、視床下部、脳幹、小脳、脊髄、及び下垂体を摘出し、定法により total RNA を調整した。さらに 25 日令、5 日令、および胎生 16、18、20 日令の胎仔から、大脳皮質、海馬、視床下部及び下垂体を摘出し同様に RNA を抽出した。Total RNA 1 μ g を用いて、ランダムヘキサマーをプライマーとして逆転写反応をおこない cDNA を調整、定量 PCR により成長ホルモン受容体 mRNA の発現解析を行なった (用いたプライマーの配列など詳細は下記雑誌論文 1 を参照)。

(2) 脳内成長ホルモン受容体発現および甘味嗜好に対する運動の影響

実験には **Sprague-Dawley** 系のオスラット、8 週令のものを用いた。ラットを一群 7 匹ずつ 2 群に分け、対照群、運動群 1 (4 週間運動負荷) とした。運動の負荷は回し車によって行なった。運動終了後、ラットを断頭屠殺し海馬と前頭皮質を摘出、上記の方法により成長ホルモン受容体の発現変化を検討した。また、回し車によって運動させた群 (5 匹) とさせなかった対照群 (5 匹) について 2% ショ糖液の摂取量を測定した。

(3) 成長ホルモン投与による味覚嗜好の変化

実験には **Sprague-Dawley** 系のオスラット、8 週令を用いた。ラットを一群 5 匹ずつ 2 群に分け、対照群とヒツジ成長ホルモン投与群 (1mg/kg 体重) とした。成長ホルモンは一日一回、5 日間投与し、対照には溶媒 (0.05N 炭酸水素ナトリウム溶液) を投与した。実験期間中は毎日体重と飲水量を測定した。甘味に対する嗜好を測定するため 1 日目は蒸留水、2 日目に 2.0% ショ糖液 3 日目に再び蒸留水を用いて一日あたりの飲水量を測定した。

4. 研究成果

(1) 脳内成長ホルモン受容体の解析

ラット成長ホルモン受容体の mRNA は細胞外領域と細胞内領域の全てを備えた long form と細胞内領域を欠いた short form がある。さらに、mRNA の第 1 エクソン由来配列 (5'端) に現在 5 種の亜種が知られており (第 1 エクソンバリエーション)、各々異なるプロモーターの制御下に転写されていると考えられ

ている。本研究では先ず、脳内成長ホルモン受容体の構造、脳内分布、生後発生を検討した。

PCRにより5種の第1エクソンバリエントの発現量を脳皮質と肝臓で比較すると、両方の組織の最も多い成長ホルモン受容体はV1バリエントであった、しかし、脳内ではそのほかわずかにV4が発現するが、V2,3,5は認められなかった。肝臓ではV2, V4の発現も有意に認められ脳と異なる結果を得た(表1)。また、肝臓ではLong formとshort formの発現比がおおよそ10:9であったが、脳皮質では10:1で、脳内ではlong formの発現が有意であることが解った。これまでの文献では脳内ではV4の発現のみ認められるとされてきた。またlong formとshort formについては記載がなかったが、本研究の結果、脳内の主要な成長ホルモン受容体はV1バリエント、long formであることが明らかとなった。このことは脳内或いは下垂体での成長ホルモン受容体発現の調節機構を解明する上で重要な知見で、これに基づき本研究では一部培養細胞を用いた成長ホルモン受容体発現調節機構の解明のための基礎研究も開始したが、今後の課題である。

表1. ラット肝と大脳皮質における成長ホルモン受容体mRNA発現

	CTX	Liver
V1	100.00 ± 3.30	100.00 ± 12.06
V2	0.15 ± 0.06	65.28 ± 6.55
V3	1.75 ± 0.24	1.01 ± 0.09
V4	11.25 ± 2.21	23.19 ± 3.89
Long	100.00 ± 4.78	100.00 ± 10.62
Short	9.65 ± 2.26	87.44 ± 5.55

The abundance of each mRNA species is expressed as % of V1 or long form mRNA. Values are the mean ± SEM (n=6). CTX, cerebral cortex

脳内の成長ホルモン受容体の分布を検討した結果、大脳皮質、海馬、視床下部、下垂体で高く、脳幹、小脳、脊髄はその30-40%の発現量であった。全ての領域について成長ホルモン受容体発現量に性差は認められなかった。図1に脳内各領域と下垂体におけるtotal成長ホルモン受容体mRNAの発現レベルの比較を示す。

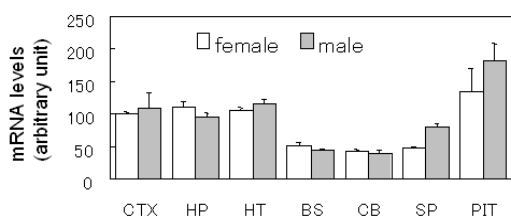


図1. ラット脳及び下垂体における成長ホルモン受容体mRNAの発現分布

成長ホルモン受容体の発現レベルが個体の

成長に伴いどのような変化を示すかを検討した結果を図2に示す(total成長ホルモン受容体mRNAの結果)。大脳皮質、海馬、視床下部の成長ホルモン受容体mRNAは胎生期に低く、生後上昇した。大脳皮質では生後5日に一過性の発現上昇が見られた。これに対して下垂体では胎生期に発現が高く生後顕著に下降した。このことは胎生期の下垂体の発達或いは機能発現に成長ホルモンが何らかの働きを有する可能性を示しているが、これは今後の課題である。

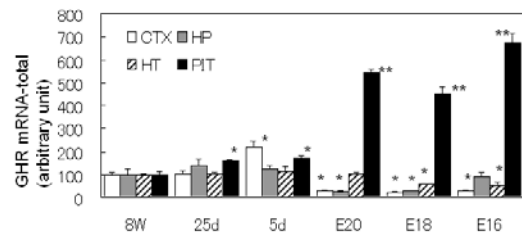


図2 成長ホルモン受容体mRNA(total)発現の発達の伴う変化
CTX,大脳皮質;HP,海馬;HT,視床下部;PIT,下垂体
* P<0.05, **p<0.01 vs 8W

(2) 脳内成長ホルモン受容体発現および甘味嗜好に対する運動の影響

4週間の運動負荷がラット海馬のニューロン新生を増加させることが知られている。また成長ホルモンが記憶に関わるという報告があるので、本研究ではラットに回し車による運動負荷を4週間行い、その後脳内の成長ホルモン受容体mRNA発現の変化を測定した。運動負荷実験は一群5-7匹とし、実験を3回行った。mRNAの測定は大脳皮質と海馬について行ったが、実験結果が一定せず、結果的に運動が脳内成長ホルモン受容体mRNAレベルに影響を与えるという結果は得られなかった。しかし、今回の実験では4週間の回し車による運動負荷のみ行ったので、運動強度や運動負荷の期間を変えて今後検討する必要があるだろう。これに対し、ショ糖溶液の摂取量については運動の効果が見られた。対照群と運動負荷群の蒸留水の摂取量は測定初日に、体重1kg当り113.4±3.8mlと131.0±17.0ml、測定3日目には103.5±7.0mlと112.9±12.8mlと有意な差は無かった。しかし測定2日目のショ糖液の摂取量は対照群438.8±25.6ml、運動群は572.2±12.8mlと有意に増加した。これは、運動がラットの甘味嗜好を強めた結果であると考えられる。しかし、運動によるエネルギー代謝の変化もこのショ糖摂取量の増加の原因の一部であることも考えられ、他の味覚に対する嗜好を今後検討し、運動と味覚嗜好についてさらに詳細なデータを積み重ねる必要があると思われる。

(3)成長ホルモン投与による味覚嗜好の変化

人では適度な運動の負荷は下垂体前葉からの成長ホルモン分泌を高め、脳への成長ホルモン作用も増強されると考えられている。しかし、実験動物ではこの作用は普遍的ではなく、今回用いたラットでは運動負荷が末梢血中の成長ホルモンレベルを上昇させることはないと考えられている。本研究では成長ホルモン受容体の変化を通して成長ホルモン作用が変化すると考え上記(1-2)の研究を行った。実験(3)では、成長ホルモンレベルを成長ホルモン投与によって強制的に上昇させたときに甘味嗜好がどのように変化するかを測定し、成長ホルモンと味覚嗜好の関係を明らかにしようと試みた。ラットに毎日一回 1mg/kg 体重のヒツジ成長ホルモンを投与した。実験開始時のラットの体重は対照群 216.0±3.4g、実験群は 213.3±2.0g と有意差は無かった。5 日の成長ホルモン投与後の体重増加率は対照群 43.4±2.2g、実験群は 51.1±2.9g と成長ホルモン投与による体重の増加が認められた。このような処理を行っている期間中に(2)と同様にショ糖溶液に対する両群の嗜好の違いを測定した。

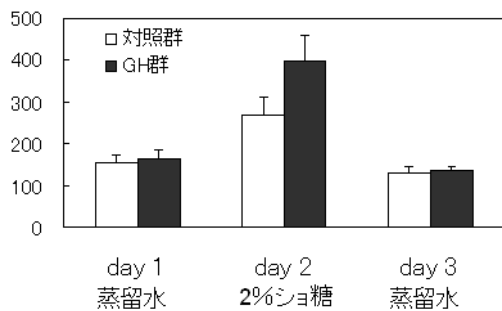


図3 ラットのショ糖溶液摂取量に対する成長ホルモン投与の影響

図3に示すように1日目は蒸留水、2日目は2%ショ糖液、3日目は蒸留水の摂取量を測定した。1日目と3日目の蒸留水の摂取量に差が無いことはGH投与が個体の水分摂取量に影響しないことを示している。これに対しショ糖液を与えるとその摂取量は対照群で蒸留水の場合の1.7倍、成長ホルモン群(GH群)で2.4倍に増加した。しかし、2日目のショ糖溶液の摂取量に両群で統計的な差は無かった。成長ホルモンの用量の増加、投与期間の延長などにより、成長ホルモンの作用が有意に現れる可能性もあると思われる。

以上のように本研究では成長ホルモンが味覚嗜好に与える影響を検討する目的で、先ず脳内で発現する成長ホルモン受容体の第1エクソンバリエーションについて検討し、脳内ではどの部位においてもV1が主要な転写産物であることを示した。さらに、肝臓ではlong formと同程度発現するshort formの成長ホ

ルモン受容体 mRNA は脳では極めて低レベルしか発現しないことも明らかにした。脳内諸領域の成長ホルモン受容体 mRNA レベルは個体の成長に伴い増加することが解ったが、意外なことに下垂体では胎生期に高レベルであった。このことは胎生下下垂体における成長ホルモンの未知の作用があることを示唆するものと思われる。

回り車を使った4週間の運動負荷は大脳皮質と海馬の成長ホルモン受容体遺伝子発現に有意な作用を示さなかった。ラットでは運動が成長ホルモン系に影響することはないのかもしれない。しかし、運動負荷の日数や負荷の大きさが問題である可能性が残されている。一方運動によっても、成長ホルモン投与によってもともにショ糖溶液の摂取量の上昇傾向が見られた。このことは運動や成長ホルモン作用の増強が甘味嗜好を増強する可能性を示唆している。本研究ではこれらについて十分な解析が終わっていない。今後の更なる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Nogami H, Lee M, Soya H, Hisano S. Regional distribution and ontogeny of the first exon variants of the rat growth hormone receptor mRNA in the brain and the pituitary gland. *Growth Horm IGF Res*. 査読有、2011 21:11-15 (2011)
- ② Ogasawara K, Nogami H, Tsuda MC, Gustafsson JA, Korach KS, Ogawa S, Harigaya T, Hisano S Hormonal regulation of prolactin cell development in the fetal pituitary gland of the mouse. *Endocrinology*. 査読有、150:1061-1068 (2009)
- ③ Yoshida S, Ina A, Konno J, Wu T, Shutoh F, Nogami H, Hisano S The ontogenic expressions of multiple vesicular glutamate transporters (VGLUT) during postnatal development of rat pineal gland. *Neuroscience* 査読有、152:407-416 (2008)
- ④ Konno J, Yoshida S, Ina A, Ohmomo H, Shutoh F, Nogami H, Hisano S Upregulated expression of neuropeptide Y in hypothalamic-pituitary system of rats by chronic dexamethasone administration. *Neurosci-Res* 査読有、60:259-265 (2008)
- ⑤ Nogami H, Hisano S. Functional

maturation of growth hormone cells in the anterior pituitary gland of the fetus. Growth Horm IGF Res 査読有、18:379-388 (2008)

〔学会発表〕(計 2 件)

- 1) 小笠原清基、野上晴雄、久野節二 胎生マウス下垂体におけるプロラクチン細胞の機能発達 第 35 回日本神経内分泌学会、第 23 回日本下垂体研究会合同学術集会 平成 20 年 8 月 28 日 政策研究大学院大学 東京
- 2) 小笠原清基、野上晴雄、久野節二 胎生マウス下垂体におけるプロラクチン遺伝子発現の制御メカニズム 第 114 回日本解剖学会全国学術集会 平成 21 年 3 月 30 日 岡山理科大学 岡山

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/anatomy/hisano-group/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野上晴雄 (NOGAMI HARUO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
准教授

研究者番号：30119838

(2) 研究分担者

久野節二 (HISANO SETSUJI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
教授

研究者番号：70136216

首藤文洋 (SHUTOU FUMIHIRO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
講師

研究者番号：10326837