

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 14 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591190

研究課題名（和文）グレリンによる中枢神経系を介した肝細胞増殖および再生機構の解明

研究課題名（英文）The effect of ghrelin on hepatocyte proliferation and regenerative liver growth via the autonomic nervous system

研究代表者

細田 洋司（HOSODA HIROSHI）

独立行政法人国立循環器病研究センター・再生医療部・室長

研究者番号：40359807

研究成果の概要（和文）： 中枢神経系と肝臓の臓器連関はホメオスタシス維持に重要な役割を果たし、主に迷走神経が情報伝達経路を担っている。末梢グレリンは、このシグナル伝達系を介して、薬剤性肝硬変及び肝部分切除ラットにおいて肝細胞増殖促進や肝組織損傷の修復改善等の神経性生理活性を発揮する。また、グレリンのアナボリック作用も肝障害の改善を促進する。本研究は中枢神経系による肝細胞増殖制御という新しい研究分野の構築につながるものと期待される。

研究成果の概要（英文）： The liver is richly innervated, and the autonomic nervous system regulates hepatic functions, such as hepatic regeneration and apoptosis, and metabolic control. Because ghrelin participates in the central regulation of gastric functions through vagal nerve pathway, we have explored the effect of ghrelin on the neural regulation of hepatic functions. In a rat model of lethal liver cirrhosis produced by dimethylnitrosamine, repeated ghrelin administration reduces the collagen deposition and hepatocyte apoptosis, and accelerates hepatocyte proliferation and normalization of liver function, resulting in the recovery from lethal hepatic failure. Ghrelin also promotes regenerative liver growth in seventy-percent partial hepatectomized rats. Thus, ghrelin may serve as a new neuroendocrinologic approach for improving hepatic functions and accelerating liver regeneration in-patients with liver cirrhosis and hepatic resection.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：グレリン、生理活性ペプチド、神経科学、再生医学

1. 研究開始当初の背景

グレリンはGHS (GH secretagogue、成長ホルモン分泌促進因子) 受容体の内因性リガンドとして、我々がラット及びヒトの胃から精製、構造決定を行った新規生理活性ペプチドである (*Nature*, 1999)。グレリンはGH分泌促進作用のみならず、摂食促進作用や脂肪蓄積効果、消化管機能調節などエネルギー代謝調節において重要な作用をもつことが知られている (*Nature*, 2001)。胃から分泌されたグレリンは、そのシグナルが迷走神経求心路を介して延髄弧束核に到達し、そこからノルアドレナリン神経により視床下部に伝達され、GH分泌刺激や摂食促進作用を発揮する (*Gastroenterology*, 2002、*Cell Metab*, 2006)。迷走神経求心路を介したグレリンの末梢から中枢への情報伝達とそれに伴う作用発現については知られているが、さらに遠心路を経由した中枢神経系から末梢組織に対するグレリンの生理作用についてはほとんど検討されていない。肝臓はエネルギー代謝調節の中心的役割を演じ、その調節には中枢神経系も深く関わっている (*Cell Metabolism*, 2005)。臓器間におけるエネルギー代謝情報連関の機構が少しずつ明らかとなり、自律神経系ネットワークが注目されている。また、中枢性神経ペプチドが自律神経系を介して病態時の肝機能制御に関与していることが報告されている (*J Gastroenterol*, 2001)。これらの結果は、グレリンが中枢及び自律神経系を介して肝生理機能および肝病態の制御に何らかの影響を与える可能性を示唆するものである。最近の研究から我々は、中枢神経系に伝達されたグレリンのシグナルがさらに迷走神経系遠心路を経て、肝細胞増殖促進作用をはじめとする様々な肝機能調節に関与していることを新たに見出した。肝細胞増殖調節や肝組織損傷時の修復過程制御に対するグレリンの神経性生理活性を明らかにすることはこれまでにない研究で、肝再生の分子機構の全容把握にも有意義なものと思われる。肝細胞の増殖・分化は様々な因子で調節されており、本研究は中枢神経系による肝細胞増殖制御という新しい研究分野の構築につながるものと期待される。

2. 研究の目的

エネルギー代謝の恒常性維持に中枢神経系と肝臓の臓器間相互作用は重要な役割を果たし、主に迷走神経がその情報伝達経路を担っている。一方、肝組織損傷時の修復過程や肝細胞増殖制御における中枢神経系の関わりについてはほとんど分かっていない。我々は最近の研究から、中枢神経系に伝達さ

れたシグナルはさらに自律神経系遠心路を経て、肝細胞増殖促進作用をはじめとする様々な肝機能調節に関与していることを新たに見出した。このような神経性肝機能調節作用を示すペプチドホルモンはこれまで報告はない。本研究では、肝細胞増殖調節や肝組織損傷時の修復過程制御に対するグレリンの神経性生理活性を明らかにし、中枢神経系による肝細胞増殖・分化制御の機構解明に取り組む。具体的には、実用性も考慮し、まず肝障害モデルラット及び肝部分切除ラットを用いて肝再生におけるグレリンの薬理的治療効果について分子生物学的、生理学的、生化学的、形態学的に検討を行い、グレリンによる肝機能調節作用について包括的に研究を進めていく。グレリンのアナボリックな作用は、カヘキシアを呈する種々の病態への改善効果がある。肝部分切除ラットに摂食制限を行い、カロリー制限が肝再生能に与える影響とグレリンによるその改善効果についても検討する。機能解剖学的手法を用いてグレリンの中枢神経系における作用機序を明らかにし、これまで全く不明である肝再生に関わる調節中枢(核)の局在の同定や機能解析を目指す。

3. 研究の方法

肝再生におけるグレリンの薬理的治療効果を包括的に検討し、中枢神経系を介した肝再生の分子機構を明らかとする。さらに、これまで不明である中枢神経系と肝細胞の増殖・分化調節の関係について検討を行う。研究実験の実施項目は以下の通りである。

- (1) 薬剤性肝硬変モデルラットにおける肝再生及び線維化に対するグレリンの作用について
- (2) 肝部分切除ラットにおけるグレリンの肝再生促進作用について
- (3) 摂食制限が部分切除肝の再生に与える影響と、グレリンによるその改善効果について
- (4) 肝細胞の増殖・分化に関わる調節中枢の局在同定や機能解析

4. 研究成果

末梢性グレリンが迷走神経系を介して中枢神経系にそのシグナルを伝達し、肝細胞増殖調節や肝組織損傷時の修復制御に関与することを新たに見出した。

- (1) ジメチルニトロサミンによる薬剤性肝硬変モデルラットを作製し、グレリン末梢投与による肝再生促進作用および抗線維化作用を検討した。
①グレリン投与により肝細胞増殖能が

- 促進された
②肝組織の線維化が抑制された
③肝硬変による致死率の改善が認められた

これらの作用は、主に肝細胞の増殖促進による効果であり、迷走神経系を介して発現したものと思われる。また、ジメチルニトロサミン投与による摂食量の抑制をグレリンは軽減した。

- (2) 70%肝部分切除ラットを用いて、グレリン末梢投与による肝再生促進作用および摂食量制限による肝再生能への影響を検討した。

- ①グレリン投与により肝細胞増殖能が促進された
②摂食量制限により肝再生能は抑制された
③摂食量制限においては糖代謝抑制が肝再生低下に関与
④グレリン投与によって糖代謝が促進され、摂食量制限による肝再生低下を抑制した

迷走神経系を介した発現した肝細胞増殖促進によるものと思われる。また、グレリンに特異的なアナボリック作用により、摂食量制限などのエネルギー量低下においても肝再生が促進された。

これらの結果より、薬剤性肝硬変モデルラット及び70%肝部分切除ラットにおいて、グレリンは中枢神経系を介して肝細胞増殖作用を発揮するとともにエネルギー代謝の改善によって、肝再生機能改善に関与しているものと考えられた。

グレリンによって活性化される中枢神経細胞（核）と肝細胞増殖作用との関連について機能解剖学的に解析を行ったが、肝細胞の増殖・分化に関わる調節中枢を同定するに至っておらず、現在進行中である。

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8件)

- ① Bando M, Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Yamada G, Hosoda K, Adachi S, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. Transgenic overexpression of intralyslet ghrelin does not affect insulin secretion or glucose metabolism in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 査読有, 302,

2012, E403-408.

DOI:10.1152/ajpendo.00341.2011

- ② Yamada G, Ariyasu H, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Nakao K, Kangawa K. Generation of transgenic mice overexpressing a ghrelin analog. *Endocrinology*, 査読有, 151, 2010, 5935-5940.

DOI:10.1210/en.2010-0635

- ③ Hiejima H, Nishi Y, Hosoda H, Yoh J, Mifune H, Satou M, Sugimoto H, Chiba S, Kawahara Y, Tanaka E, Yoshimatsu H, Uchimura N, Kangawa K, Kojima M. Regional distribution and the dynamics of n-decanoyl ghrelin, another acyl-form of ghrelin, upon fasting in rodents. *Regul Pept*, 査読有, 156, 2009, 47-56.

DOI:10.1016/j.regpep.2009.05.003

[学会発表] (計1件)

- ① 細田洋司、グレリンはラット肝切除後の肝再生を促進する、第82回日本内分泌学会学術総会、2009年4月23日、群馬県民会館

[図書] (計3件)

- ① 細田洋司・寒川賢治、日本臨床、肥満症(第2版) -基礎・臨床研究の進歩-、2010年、776頁
② 細田洋司・寒川賢治、日本臨床者、日本臨床者増刊高血圧(第4版)上巻、2009年、704頁

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細田 洋司 (HOSODA HIROSHI)

独立行政法人国立循環器病研究センター・再生医療部・室長

研究者番号：40359807

(2)研究分担者

宮里 幹也 (MIYAZATO MIKIYA)

独立行政法人国立循環器病研究センター・生化学部・部長

研究者番号：50291183

(3)連携研究者

寒川 賢治 (KANGAWA KENJI)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・所長

研究者番号：00112417