

機関番号：14301
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2009～2010
課題番号：21790893
研究課題名(和文) 後天的グレリン分泌低下マウスを用いたグレリンの生理作用の検討
研究課題名(英文) The Analysis of Physiological Roles of circulating ghrelin
研究代表者
有安 宏之 (ARIYASU HIROYUKI)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：50378650

研究成果の概要(和文)：

グレリン分泌低下マウスの血中GH濃度とIGF-1濃度は野生型マウスと比較して有意差はなかった。また、肝臓・骨・骨格筋におけるIGF-1のmRNA遺伝子発現も同様であった。血中・組織中における正常なIGF-1分泌を反映し、正常な成長パターンを示した。

摂食に関する解析では、グレリン分泌低下マウスの平均摂食量、昼夜の摂餌パターン、摂食調節に関する遺伝子の発現検討において、検討し得た限りにおいて目立った変化を指摘し得なかった。

研究成果の概要(英文)：

In this study, we generated a transgenic mouse that expresses human diphtheria toxin (DT) receptor cDNA in ghrelin-secretion cells (GPDTR-Tg mice). Administration of DT to this mouse ablates ghrelin-secretion cells in a controlled manner. Four days after injection of DT into GPDTR-Tg mice, ghrelin-secreting cells were ablated, and plasma levels of ghrelin were markedly decreased. Daily food intake of these animals, however, was not affected. Three-week-old GPDTR-Tg mice were then treated with DT twice a week for five weeks. Although plasma ghrelin levels were reduced, GPDTR-Tg mice did not display any decreases in serum GH or IGF-1 levels or any growth retardation. Our results strongly suggest that circulating ghrelin does not play a crucial role in either feeding behavior or somatic growth.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
平成 22 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：成長ホルモン、グレリン

1. 研究開始当初の背景

グレリンは、外因性投与による薬理的検

討により、成長ホルモン分泌促進作用のみならず摂食促進作用や消化器系への作用、エネルギーを蓄積させ肥満へと導く作用など、多彩な薬理作用を有することが明らかになっている。一方、グレリンの生理的役割に関しては、国内外からグレリン欠損 or グレリン受容体欠損マウスを用いた研究成果が報告されているものの、先天的に上記を欠損させた場合、生前・生後に Adaptation をお越している可能性があり、不明な点も多く残されている。

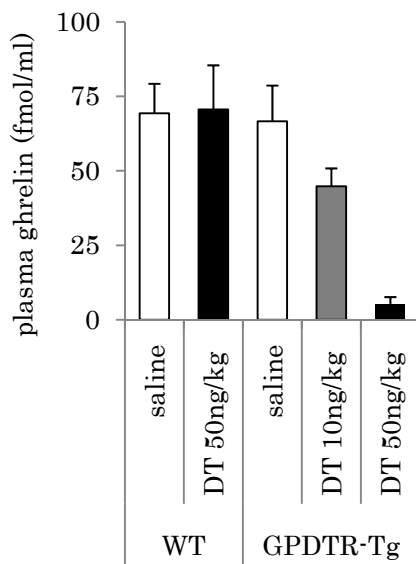
2. 研究の目的

我々がこれまでに作成した後天的グレリン分泌低下マウスを用いて、成長・摂食における循環血中グレリンの役割を解明する。

3. 研究の方法

①グレリン分泌低下マウス

グレリン分泌細胞にジフテリアトキシン (DT) 受容体を強制発現する GPDTR-Tg マウスに DT を投与すると、グレリン分泌細胞が破壊される。血中グレリン濃度は、50ng/kg x 2 回 (day0, day2) の DT 投与によって、day4 には検出限界以下まで低下し (野生型 (WT) マウス vs. GPDTR-Tg マウス 64.0±6.0 fmol/ml vs. 5.0 fmol/ml)、その分泌低下状態は day7 まで持続する。このグレリン分泌低下マウスを用いて、以下の検討を行った。



②成長ホルモン分泌・成長における循環血中グレリンの役割の検討

離乳直後から5週間 (3週齢から8週齢まで)、50ng/kg の DT を週2回投与することによって、成長期に血中グレリン濃度が著明に低下したマウスを作成し、体長・体重測定、血清 GH 濃度・IGF-I 濃度測定、GHRH 負荷に

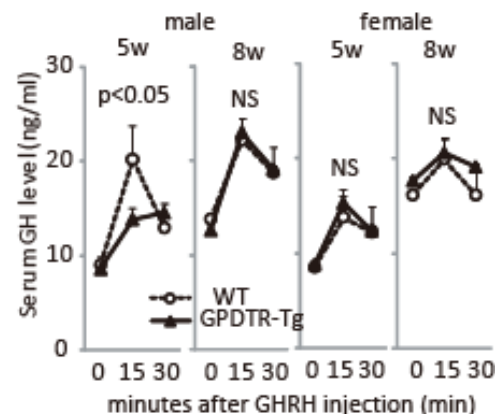
よる GH 分泌を検討する。視床下部・下垂体における成長ホルモン分泌に係る遺伝子発現の検討を行う。グレリン分泌低下状態にした後に、浸透圧ポンプにてグレリンを補充したマウス (グレリンレスキューマウス) を作成し、上記検討を行う。

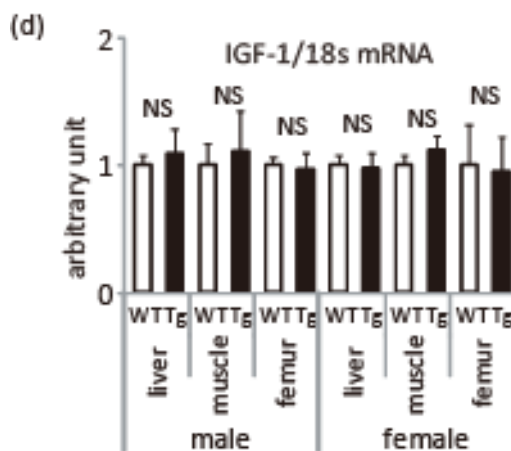
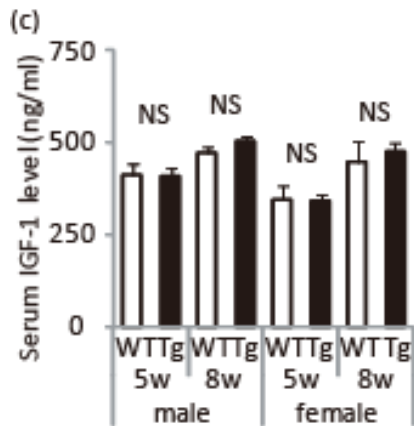
③摂食における循環血中グレリンの役割の検討

成長がある程度落ち着いたマウス (8-12 週齢) に対して、50ng/kg の DT を週2回投与し、循環血中グレリン濃度が検出限界以下に低下させ、そのマウスの一日平均摂食量、昼夜の摂餌パターンを測定する。摂食調節に関与する視床下部の遺伝子の発現検討や接触制限や絶食等の負荷時の摂食状況等の解析を行う。

4. 研究成果

成長期に循環血中グレリンが低下したマウスの血清 GH/IGF-1 濃度の基礎値は、野生型マウスと比較して有意な差を認めなかった。また、肝臓・骨・骨格筋における IGF-1 の mRNA 遺伝子発現も影響を受けていなかった。5 週齢雄性のグレリン分泌低下マウスでは、GHRH (180 μg/kg) 投与後 15 分の血清 GH 濃度は 13.9±1.2ng/ml と野生型マウス 20.2±3.6ng/ml と比較して、GHRH に対する GH 分泌反応が著明に低下していた。しかしながら 8 週齢時には、GHRH に対する GH 反応性の低下は回復していた (WT vs. Tg: 22.2±2.3 ng/ml vs. 23.0±1.5 ng/ml)。この GHRH に対する一過性の GH 分泌低下は、循環血中グレリンが補償されたマウスにおいては認められなかった (Ghrelin-rescued mice vs. non-rescued mice: 26.2±4.2 ng/ml vs. 10.9±2.6 ng/ml)。また、雌性マウスでは、GHRH に対する一過性の GH 分泌低下を認めなかった。





観察期間の、吻でん長・体重は野生型マウスとの間で有意差を認めなかった。このように、内因性の循環血中のグレリンは、GHRH への GH 反応性に軽度関与している可能性があるが、成長への関与は少ないことがわかった。

グレリン分泌低下マウスの1週間の平均摂食量は 27.1 ± 0.6 g であり、WT マウス 28.2 ± 0.6 g と比較して有意差を認めなかった。また昼夜の摂餌パターンの解析では、WT マウスが日中に1日摂餌量の22.7%、夜間に77.3%を摂取したのに対し、グレリン分泌低下マウスは、日中に22.0%、夜間に78.0%を摂取しており、両者の間に有意な差は認めなかった。これに加えて、摂食調節に関与する遺伝子の発現検討や負荷時の摂食状況等の解析を行ったが、検討し得た限りにおいて、グレリン分泌低下マウスで目立った変化を指摘し得なかった。この結果からは、摂食行動は生物にとって重要な行動であるがゆえに、強力な摂食促進作用を有するホルモンであるグレリンが分泌低下した状況においても、速やかに代換経路によって摂食行動が維持されたのではないかと推測している。今後は、いかなる代換経路が働いているのか検討す

る必要がある。

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 4 件)

1. Generation of Transgenic Mice Over-expressing a Ghrelin Analog. Yamada G, Ariyasu H, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Nakao K, and Kangawa K. *Endocrinology*. 2010; 151:5935-40. 査読あり

2. Establishment of a novel ghrelin-producing cell line. Iwakura H, Li Y, Ariyasu H, Hosoda H, Kanamoto N, Bando M, Yamada G, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, and Akamizu T. *Endocrinology*. 2010; 151:2940-5. 査読あり

3. A postweaning reduction in circulating ghrelin temporarily alters growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone in male mice but does not affect somatic growth. Ariyasu H, Iwakura H, Yamada G, Kanamoto N, Bando M, Kohno K, Sato T, Kojima M, Nakao K, Kangawa K, and Akamizu T. *Endocrinology*. 2010; 151:1743-50. 査読あり

4. A mouse model of ghrelinoma exhibited activated growth hormone-insulin-like growth factor I axis and glucose intolerance. Iwakura H, Ariyasu H, Li Y, Kanamoto N, Bando M, Yamada G, Hosoda H, Hosoda K, Shimatsu A, Nakao K, Kangawa K, and Akamizu T. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 297:E802-11. 査読あり

[学会発表] (計 7 件)

1. 有安宏之, 岩倉浩, 赤水尚史, 山田豪, 中尾一和, 寒川賢治: 後天的グレリン分泌低下マウスにおける成長ホルモン分泌の検討 第 37 回 日本神経内分泌学会 2010,10,22 京都大学医学部 紫蘭会館

2. 有安宏之: 人工股関節置換術を受けた高齢者患者の機能回復に対するグレリンの臨床効果と安全性についての検討 第 82 回 日本内分泌学会学術総会 2009年

4月23日 前橋文化会館

3. H. Ariyusu : Physiological roles of circulating ghrelin in GH secretion and somatic growth

2009 International Symposium of Ghrelin
2009.11.19 Tokyo International Forum

4. 有安宏之 : グレリンの分泌調節と作用に関する研究

第36回 日本神経内分泌学会 2009年9月5日
北九州国際会議場

5. 有安宏之 : ヒトの糖代謝に対するグレリン投与の影響

第83回 日本内分泌学会学術総会 2010年3月26日
京都国際会議場

6. H. Ariyusu : Roles of ghrelin in the control of growth hormone secretion

14th International Congress of Endocrinology 2010.3.28
Kyoto International Conference Center

7. H. Ariyusu : Generation of transgenic mice over-expressing a ghrelin analog
Satellite Symposium Obesity and Metabolic Syndrome,

14th International Congress of Endocrinology 2010.3.31
Shiran Kaikan

[その他]

ホームページ

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~ghrelin/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有安 宏之 (ARIYASU HIROYUKI)

京都大学・医学研究科 助教

研究者番号 : 50378650

