

視床下部GRF放出のON-OFF制御機構における
ソマトスタチンの役割に関する研究

(課題番号 0 2 6 7 1 1 1 0)

平成2-3年度科学研究費補助金(一般研究C)
研究成果報告書

平成4年3月

研究代表者 三木伸泰
(東京女子医科大学医学部内科)

目次

はしがき	P. 1
研究組織、研究経費	P. 3
研究発表	P. 4
研究概要	P. 7

[はし が き]

下に垂る前葉かから成長ホルモンの分泌は、視床下部に存
 在（Gより抗用規として「ONが創R用ルし費りこのIF枯合部誘放析の期の一
 垂るR相Sい床て、単GRFF（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 前（F）反R、下部成、分泌（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 葉下）反R、下部成、分泌（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 か垂ると、in vivo成績同分泌（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 ら体放二抗血の成績同分泌（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 の性出二抗血の成績同分泌（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 成ホ抑重血の成績同分泌（1）抑制するに、我々の目的確測特のCysteamine、抗SRIFを用いた。そしてCysteamineにより視床下
 長ル制支配と条放とれ因子よ新説の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 ホモ因子と抗下が「SRIF」唱下（2）の促進直接視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 ルン子と抗下が「SRIF」唱下（2）の促進直接視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 モでソうGRで誘成SRIFとGRより提下にGR作用による視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 ンあマけてFRで誘成SRIFとGRより提下にGR作用による視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 の成スとい抗SRIFは、生理的分泌の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 分泌ホチ1988急と床SRIFの分泌の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 は、ホルンの急と床SRIFの分泌の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 視床（SRIF）急と床SRIFの分泌の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 下放出（SRIF）急と床SRIFの分泌の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 部に因（SRIF）急と床SRIFの分泌の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と
 存子々我免和した。因子の「正」今回SRIFでは、視床下部のPerifusion法として選択的SRIF分画と

の G R F の放出が抗 S R I F 抗体 γ -globulin による培
養液中 S R I F の免疫中和により増強すること、かん流誘
発実験にて G R F の放出が Cysteamine のパルス状投与で
独自に提唱している視床下部 S R I F の「G R F 分泌抑
制因子 (G R F - I F) 」説をさらに発展させる所見で
ある。

[研究発表]

1. 小野昌美、三木伸泰、羽生恵子、出村 博
甲状腺機能低下症による視床下部GRF, SRIF分泌亢進の機序について。
日本内分泌学会雑誌 66:344, 1990.
2. 三木伸泰、小野昌美、羽生恵子、出村 博
各種ストレスの視床下部GRF, SRIFに及ぼす影響。
日本内分泌学会雑誌 66:384, 1990.
3. 三木伸泰、小野昌美、村田洋二、青木智子
出村 博
GRF放出のON-OFF制御機構におけるSRIFの役割。
日本内分泌学会雑誌 66, 990, 1990.
4. 小野昌美、三木伸泰、村田洋二、青木智子
出村 博
Glucoseの視床下部GRF, SRIF分泌修飾作用の加齢に伴う変動。
日本内分泌学会雑誌 66, 990, 1990.
5. Ono, M. and N. Miki
Postnatal development of somatostatin (SRIF) inhibition of hypothalamic growth hormone-releasing factor (GRF) secretion in rats : An in vitro study with cysteamine.
Abst. of 72nd Annual Meeting of the Endocrine Society, Atlanta, GA, U. S. A., p48(#96), 1990.
6. 三木伸泰、小野昌美、村田洋二、青木智子
出村 博
視床下部GRF, SRIFの変動とその性差に関する検討。
日本内分泌学会雑誌 67, 340, 1991.

7. 村田洋二、三木伸泰、小野昌美、青木智子
出村 博
ラット下垂体門脈血中のSRIF,GRFの測定。
日本内分泌学会雑誌 67,475,1991.
8. 小野昌美、三木伸泰、村田洋二、青木智子
出村 博
視床下部SRIFのGRF抑制作用の加齢に伴う変動。
日本内分泌学会雑誌 67,475,1991.
9. 小野昌美、三木伸泰、村田洋二、青木智子
石塚祐一、出村 博
SRIF-14とSRIF-28におよぼす甲状腺ホルモン欠乏の
影響。
日本内分泌学会雑誌 67,1061,1991.
10. 青木智子、三木伸泰、小野昌美、村田洋二
石塚祐一、出村 博
視床下部SRIF-14とSRIF-28の比較検討および飢餓ス
トレスの影響。
日本内分泌学会雑誌 67,1062,1991.
11. 出村 博、出村黎子、高野加寿恵、須田俊宏
芝崎 保、三木伸泰
下垂体疾患の臨床の進歩
日本医学会総会学術講演要旨 23,315,1991.
12. Miki, N., M. Ono, Y. Murata, and T. Aoki
Age- and sex-related changes in hypothalamic
rat growth hormone-releasing factor (GRF) and
somatostatin (SRIF) secretion in vitro.
Abst. of 73rd Annual Meeting of the Endocrine
Society, Washington, D.C., U.S.A., p349
(#1276), 1991.

13. 三木伸泰、小野昌美、出村 博
内分泌疾患の診断と治療； 下垂体前葉機能低下症。
医学と薬学 25:1489-1495, 1991.
14. 三木伸泰、小野昌美、青木智子、村田洋二
出村黎子、小田桐恵美、出村 博
オキサトミドの内分泌機能に及ぼす影響について。
医学と薬学 25:1609-1614, 1991.
15. Ono, M., N. Miki, and H. Demura
Effect of antiserum to rat growth hormone
(GH)-releasing factor on physiological GH
secretion in the female rat.
Endocrinology 129:1791-1796, 1991.
16. Miki, N., M. Ono, N. Hizuka, T. Aoki
and H. Demura
Thyroid hormone modulation of the hypothalamic
growth hormone (GH)-releasing factor-pituitary
GH axis in the rat.
J. Clin. Invest. (submitted)

[研究概要]

(1) 成長ホルモン (G H) 分泌における G R F と S R I F の生理的意義

G H の分泌は周期的なパルス状の拍動性パターンを示す。従来、雄ラットを用いた研究では、抗 G R F 抗血清を投与すると G H のパルス状分泌のみ抑制されることが明らかとなっており、パルスとパルスの間を占める G H 分泌の谷間は S R I F の分泌増加によって形成されたと考えられてきた。しかし、今回我々の雌ラットを用いた実験により、抗 G R F 抗血清が G H のパルスのみならず谷間の分泌も完全に抑制することが明らかとなった。この成績は、S R I F の主作用は向下垂体性 G H 分泌抑制作用というよりは、むしろ視床下部レベルにおける G R F 放出の O N - O F F 制御作用であることを更に支持する所見である (Endocrinology 129:1791-1796, 1991)。

(2) S R I F 枯渴剤 Cysteamine の添加実験

視床下部組織片の incubation 実験系において Cysteamine を添加し、S R I F の含量及び放出を組織特異的に減少させることができた。この時の視床下部からの G R F の分泌は、Cysteamine の濃度依存的に増加し、かつ培養液中の Ca^{2+} の除去により完全に阻止された。この成績は、S R I F が視床下部組織内で G R F の分泌を持続的に抑制しており、その減少による脱抑制により G R F の放出が誘発されることを物語る。Cysteamine の G R F 放出作用の濃度依存性、 Ca^{2+} 依存性は、その効果の特異性を物語る。また、放出された G R F を Sep-Pak C18 で抽出し、Tosoh 社の逆相 H P L C カラムとアセトニトリルの濃度勾配で溶出したところ、G R F のピークは合成品と同一部位に溶出されることを確認した。したがって Cysteamine は G R F のペプチドの分子特性、分子型に影響しないことが明らかとなった。

(3) S R I F の G R F 放 出 抑 制 作 用 の 生 後 発 達

Cysteamineと視床下部のincubation法を用いてS R I FのG R F放出抑制作用の生後発達を検討した。実験には、1-49日齢の雄ラットを用いた。Cysteamineは全日齢群で視床下部組織中のS R I F分量を50%以上低下した。しかし、S R I Fの減少によっておこるG R F放出の増加は生後5日目頃までは認められず、7-10日頃に発現すること明かとなった。この生後7-10日はラットにおいて下垂体門脈血管が完成する時期に一致することから、視床下部内におけるS R I FのG R F放出抑制作用の生理的意義の一端を証明する所見である。すなわち、この時期に一致してラットのG H分泌が視床下部から強い抑制を受け始めるからである。なお、この新生児ラットのG R Fも、逆相H P L CによるCharacterizationを成功裏に終了した。

(4) 視床下部正中隆起のSynaptosomesを用いた実験

Synaptosomesは、Percollと蔗糖の密度勾配を用いて超遠心により分離した。Synaptosomesを浮遊させた培養液に、各種の脱分極剤を添加するとS R I FとG R Fの放出が増加し、それに伴ってSynaptosomes中のこれらペプチドの含量が減少することが観察された。この実験系に、ウサギ抗S R I F抗血清の γ -globulin分画を添加し、一定時間incubateすると、G R Fの放出が増加した。しかし、濃度依存性実験にて、 γ -globulinをある濃度以上に増加するとG R FのR I Aに非特異的影響を及ぼすことがわかった。したがって、培養液中のG R Fの抽出法や除蛋白などを今後改良する必要があると思われる。

(5) 視床下部組織のPerifusion実験

この実験系はサンプル数が多く測定の費用が大きいという欠点があるものの、ペプチドの分泌を経時的に観察できるといふ大きな利点がある。Cysteamineのパルス状投与により、かん流された視床下部組織中のSRIFを減少させることができた。かん流液中に放出されたGRFをSep-Pak C18で濃縮後RIAで測定すると、CysteamineによりGRFの分泌が増加した。今後Cysteamineの至適濃度を決定し、合成SRIFの同時投与実験を行う予定である。