

胃グレリン産生調節ネットワークの研究

Regulatory mechanism of rat gastric ghrelin mRNA expression and production

プロジェクト代表者：坂井貴文（理工学研究科・教授）

Graduate School of Science and Engineering, Division of Life Science, Professor

1. 胃エストロゲンによるグレリン発現調節の研究

グレリンは成長ホルモン分泌刺激因子受容体の内在性リガンドとして発見されたペプチドである。その生理作用に関する報告は数多いものの、胃グレリン自体の発現、分泌調節に関しての知見は少ない。プロジェクト代表者は以前、発生過程の胃グレリン発現には雌雄差があり、この雌雄差には性ホルモンの関与が考えられる事を報告した。本研究では、胃グレリン細胞に対するエストロゲンの直接効果を詳細に検討するために、胃粘膜より単離したグレリン細胞を含む細胞群にエストロゲンとエストロゲン受容体拮抗薬処理を行い、リアルタイムPCR法およびラジオイムノアッセイ法（RIA）によりグレリン発現・産生を定量した。その結果、図1に示すように、エストロゲンはグレリン発現（図1左、定量PCR実験）および分泌（図1右、RIA測定実験）を濃度依存的に刺激し、拮抗薬の投与によりエストロゲンによるグレリン発現上昇は有意に減少した（結果不掲載）。このことは、エストロゲンがグレリン発現・産生を直接刺激し、その効果はエストロゲン受容体を介していることを強く示唆している。

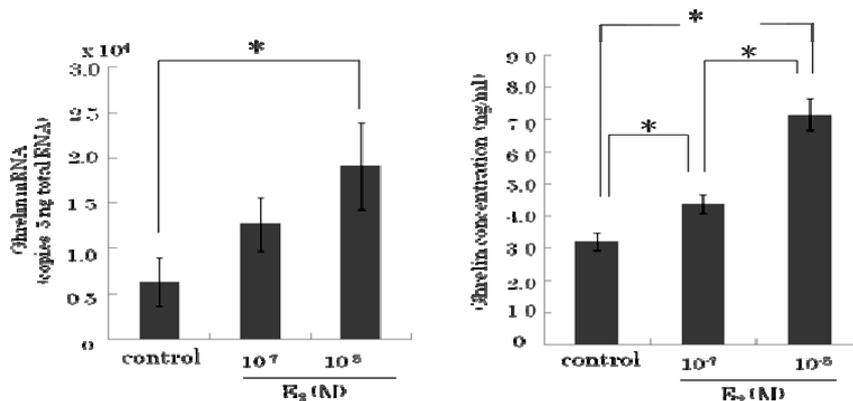


図1 エストロゲン投与による胃グレリン発現・産生に対する刺激効果

一方、Ueyama 等はエストロゲン合成酵素であるアロマターゼが胃壁細胞に存在していることを報告している。我々は *in situ* hybridization と免疫染色法を用いて、アロマターゼ発現細胞とグレリン産生細胞の二重染色を行い、これら二種類の細胞は互いに近接して存在することを明らかにした、このことは、壁細胞から傍分泌されたエストロゲンの作用により、グレリン産生が調節されていることを強く示唆するものである。また、胃における種々のエストロゲン合成酵素の発現を検討した結果、CYP11Aの発現が認められず、胃エストロゲンは他器官で産生されたエストロゲン前駆体から変換されていることが考えられた。これを受け、エストロゲン前駆体の主な産生臓器である卵巢または副腎の摘除を行ったところ、副腎摘除時のみ血中グレリン濃度の有意な減少が見られ、副腎で産生されたプロゲステロンまたはアンドロステンジオンが胃壁細胞でエストロゲンに変換され、グレリン発現・産生を調節している可能性が示唆された。

2. 絶食時ラットにおけるグレリンmRNA発現上昇への胃レプチンの関与

グレリン発現および産生は、絶食により増加し、再摂食により減少することが報告されているが、その調節機構の詳細は不明である。そこで、本研究では、胃グレリン発現調節に関与すると考えられる胃エストロゲン合成酵素アロマターゼ、レプチン、ソマトスタチンの mRNA 発現量の絶食時における変化を、リアルタイム PCR を用いて検討した。また同時に、絶食時の胃レプチン量と門脈血 17- β -エストラジオール濃度を ELISA 法を用いて定量した。その結果、48 時間絶食後、胃グレリン mRNA 量は有意に上昇したが (図 2、左)、レプチン mRNA 発現量 (図 2、中) 及びレプチン濃度 (図 2、右) は共に減少することが明らかになった。これと対照的に、絶食後の胃内アロマターゼ、ソマトスタチン mRNA 発現量及び門脈血における 17- β -エストラジオール濃度に変化はなかった (結果不掲載)。

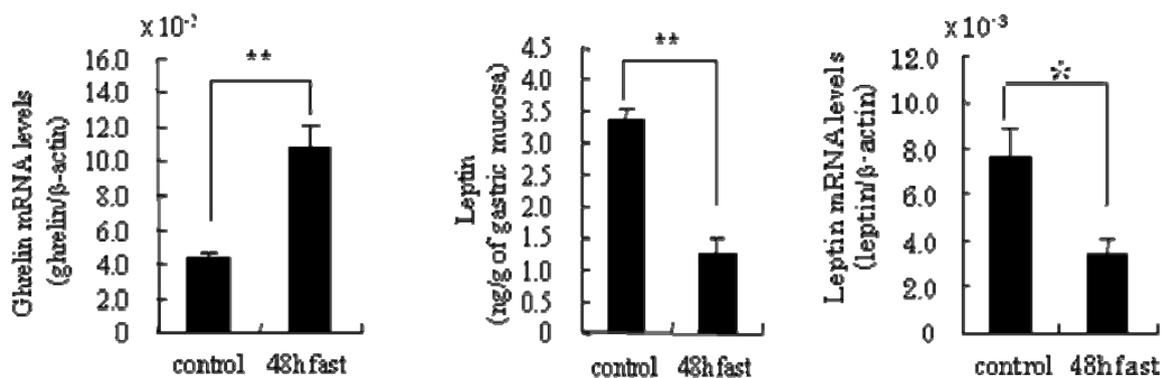


図 2 絶食による胃グレリン、レプチン mRNA 発現とレプチン産生変化

さらにレプチンのグレリン発現に対する直接作用を検討したところ、レプチン処理により細切胃組織およびエストロゲン前処理胃単離細胞におけるグレリン mRNA 発現は濃度依存性に抑制された。また、ラット胃の二重染色によりレプチン細胞 (主細胞に共存) とグレリン細胞は近傍しており、グレリン細胞はレプチン細胞に取り囲まれるように存在していることが明らかとなった。また RT-PCR 法により雄ラット胃では 2 種類のレプチン受容体アイソフォーム ob-Ra および ob-Rb が発現していること明らかになった。一方、レプチン受容体の欠損により肥満を呈する zucker (fa/fa) ラットではレプチンによるグレリン mRNA 発現抑制が起こらなかった。これらの結果は絶食時における胃グレリン発現量の上昇は、抑制的に作用している胃レプチンの減少により惹起されることを強く示唆している。

以上より、ラット胃グレリン発現はグレリン細胞の近傍に存在する壁細胞と主細胞から分泌されるエストロゲンとレプチンにより拮抗的に調節されることが示唆された。

Sakata I. et.al. J. Endocrinol., 2002, 174:464-71

Matsubara M. et.al. Peptides, 2004, 25:289-97

Sakata I. et.al. J. Endocrinol., 2006, 190:749-57