飢餓ラットにおけるGH分泌動態に関する研究

—ウレタン麻酔下での検討—

群馬大学医学部第1内科学教室

(主任: 小林節雄教授)

下山貞雄

Studies on Growth Hormone Secretion in Starved Rats under Urethane Anesthesia

Sadao SHIMOYAMA

The 1st Department of Internal Medicine,
School of Medicine, Gunma University,
Maebashi

(Director: Prof. Setsuo Kobayashi)

Adult male wistar rats averaging 200 g each were subjected to food removal for 1–6 days or fed ad libitum throughout (controls). Plasma GH levels and pituitary GH contents were measured by radioimmunoassay. The GH responses to intravenous injection of TRH (2.5 μ g/100 g B.W.), PGE₁ (5 μ g/100 g B.W.), LH-RH (1 μ g/100 g B.W.) and Chlorpromazine (CPZ, 100 μ g/100 g B.W.) were tested under urethane anesthesia.

Circulating GH levels were significantly increased by prolonged starvation, while pituitary GH contents progressively decreased with increased periods of starvation. In addition, following the TRH administration, plasma GH levels increased in starved rats compared to the control rats. A similar effect was also observed with PGE₁. In contrast, the administration of CPZ, which was reported to act at the hypothalamic level, failed to potentiate GH release in starved rats under urethane anesthesia.

These observations suggest an increased susceptibility of starved rats to urethane anesthesia with the administration of TRH and PGE₁ in the GH secretory mechanism. In addition, the fact that no further potentiation of GH release was observed by CPZ treatment may indicate an abnormality of the hypothalamic dopaminergic mechanism in starved animals.

諸 言

近年、成長ホルモン (GH) は単に成長促進作用だけでなく、蛋白同化や脂肪分解など多彩な代謝作用を有し、そのホルモン分泌は食物摂取量や運動状態をはじめ、各種ストレス等により影響を受け易いことが明らかになってきた^{10, 22)}。このようなGHの有する多彩な代謝面への影響については、

古くから多くの研究者の注目をあび、とりわけ生体の代謝過程の極限状態である飢餓時における GH 分泌動態に関する研究が盛んに行われてきたが、その成績は必らずしも一致しているとはいえないであろう。

まず、絶食と GH 注射後の代謝状態から、節食という条件がこのホルモンの分泌を高めるのではないかという Russel ら³⁰⁾の仮説が登場したが、やがて radioimmunoassay (RIA) の導入により血中 GH の測定が比較的容易となり、Roth ら²⁹⁾は、絶食にしたヒトの GH 分泌が増加することを見出した。

一方、古くから動物における検討も行われており、生物学的測定法による下垂体及び血中 GH 濃度は絶食により減少するという報告があいついでなされた^{10) 12) 20) 21) 23) 30)}。なかでも Meites ら²⁴⁾は、後にその原理を否定された depletion method¹³⁾を使用し、この GH 分泌の減少は視床下部における Growth Hormone-Releasing Factor (GH-RF) の合成及び分泌の減少により下垂体における GH の分泌及び合成が低下したものと解釈しており、急性飢餓時には、二次性の下垂体機能不全を惹起するものと報告した。一方 Friedman ら¹²⁾は、絶食の持続により下垂体 GH 含量が減少したことから下垂体における GH の分泌は合成を凌駕した結果であると推定している。従って RIA による GH 分泌動態に関する報告^{1) 4) 34) 40)}は必ずしも従来の生物学的測定法による結果の一致しないばかりか、RIA による結果の間でも生体における GH のきわめて変動し易いことや報告者による実験条件の違いにより、相反する結果を得ており、現在でもなお絶食の及ぼす GH 分泌機構への影響は、一定の見解が得られていないのが現状であろう。ごく最近、Campbell ら¹¹⁾は 7 日間の絶食状態が全ての下垂体前葉ホルモンの血中濃度を減少させると共に、合成 LH-RH と TRH を腹腔内に同時に、投与すると、GH を除く下垂体前葉ホルモンは有意に上昇することを見出しており下垂体ホルモン分泌の反応性は保たれていたことから、絶食状態によりまず障害を受ける場合は視床下部であると推定した。しかし彼らも指摘したごとく、GH のみが外因性 LH-RH 及び TRH の投与により何故減少するかについては明かではなかった。このような過去の実験成績を考慮に入れながら、著者はまず、くりかえし使用されるエーテル麻酔がラット血漿 GH を低下させる事実³⁹⁾に注目し、彼ら¹¹⁾の使用したエーテル麻酔にその矛盾の原因を求め、血中 GH 濃度を低く比較的安定化するために各種 GH 分泌促進物質の検定に用いられてきたウレタン麻酔下^{2) 3) 5) 16) 17) 18)}でラットを用いて絶食の及ぼす GH 分泌動態を再検討することが合目的と考え研究を行った。

更に本研究においては、下垂体に直接作用し GH 分泌を促進するといわれている TRH^{3) 19) 38)}及び prostaglandin E₁,^{15) 16) 41)}(PGE₁)や視床下部のカテコールアミンに作用し GH 分泌を促進すると報告されている chlorpromazine^{16) 17)}(CPZ)等を使用し絶食により引き起こされた GH 分泌機構を解明しようと試み、幾つかの新知見を得たので報告することにした。

実験方法

動物は体重 200 g 前後の wistar 系雄性ラットを用いた。実験開始約一週間前より、午前 7 時点燈午後 9 時消燈の人工照明及び室温 24 ± 2 °C の一定温度に自動制御された環境下で、ラットは固型食(オリエンタル社製)と水道水を自由に摂取し飼育された。

実験は、同一環境下で、絶食の期間により 1 日、4 日及び 6 日の各群 5 ~ 7 匹からなる各絶食群と非絶食群(対照群)に分けることから開始した。摂食時にはラット固型食を与え、実験期間を通じて各群には水を自由に与えた。

各種GH分泌刺激物質に対する反応性の検討は、原則として25%のウレタン (125mg/100g B.W) を腹腔内に投与し一時間後のいわゆるウレタン麻酔ラットを用いて行った。

GH分泌反応の検討は、ヘパリン加注射器により0.7ml採血の後に、体重100gあたり2.5 μ gの合成TRH (田辺製薬), 5.0 μ gのprostaglandin E₁ (PGE₁, 小野製薬), 1.0 μ gの合成LH-RH (田辺製薬), 100 μ gのchlorpromazine (CPZ, シオノギ製薬) をKatoら^{16) 17) 18)}の報告に準じて一側の頸静脈から投与し、他側の頸静脈より5分と15分ないし10分と20分後に採血した。

また各群の動物のヘマトクリット (Ht) や血漿蛋白量はウレタン投与60分後、血糖 (Beckmann-glucose analyzer 法) 値はウレタン投与60分及び120分後に、それぞれ測定された。

一方ウレタン麻酔と対比する意味でエーテル麻酔1分後に採血され、血漿GH濃度及び血糖値が測定された。

またウレタン投与120分後、一對の副腎及び下垂体前葉を摘出し、librar electrobalanceにより重量を測定した。下垂体前葉は1mlの生食水でhomogenizeし、2.5% bovine serum albuminを含むbarbital buffer (pH 8.6, μ 0.1)で100倍に希釈してGH測定まで-20°Cに凍結し保存した。

GHの測定と実験成績の分析

NIAMDDより供与されたラットGH測定キットを使用し、二抗体法によるRIAにより測定した。最低測定感度は4.0ng/mlで測定内及び測定間の変動は、いずれも11%以下であった。実験結果は、mean $\pm$ standard error of mean (S.E.M.)にて表現し、統計的処理は、Studentのt-testによった。

Table 1. Effect of restricted food intake on body and organ weights.

Treatment	Av BW(g)		Ht (%)	Serum prot. (g/100ml)	Adrenal wt		Pituitary wt	
	Initial	Final			mg	mg/100g BW	mg	mg/100g BW
6 days fasting	231.4 $\pm$ 9.7	169.2 $\pm$ 7.0	54.0 $\pm$ 2.0	6.4 $\pm$ 0.2	43.4 $\pm$ 1.1	25.5 $\pm$ 0.7	4.3 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.1
4 days fasting	230.7 $\pm$ 8.7	192.8 $\pm$ 6.7	53.8 $\pm$ 0.7	6.8 $\pm$ 0.2	45.3 $\pm$ 3.7	22.5 $\pm$ 2.4	4.4 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.1
1 day fasting	218.5 $\pm$ 3.8	217.8 $\pm$ 2.1	46.2 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 0.2	39.6 $\pm$ 3.1	16.6 $\pm$ 1.7	4.9 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.1
0 day fasting	231.4 $\pm$ 8.5	262.1 $\pm$ 6.7	45.0 $\pm$ 0.6	6.2 $\pm$ 0.2	32.2 $\pm$ 4.3	14.4 $\pm$ 1.8	6.3 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.1

実験結果

1. 絶食による体重、臓器重量、Ht及び血漿蛋白の変動

絶食による体重及び臓器重量の推移をTable. 1に示した。

絶食により動物の体重は絶食1日、4日、6日後には、それぞれ正常 (摂食) 対照群の90%、73%、60%まで減少した。

副腎重量は絶食期間の延長と共に絶対的にも、体重比に換算しても増加する傾向を示した。一方、下垂体重量は、絶食期間が持続するにつれ減少傾向が認められたが、体重比に換算すると、摂食対照群とほぼ同程度の重量を示した。

Ht値は、絶食の期間の延長と共に増加したが、血漿総蛋白は、絶食により有意の変動を示さなかった。

2. ウレタン麻酔の血糖値に及ぼす影響

ウレタン投与前後の血糖値の変化をFig. 1に示した。

Fig. 1. Changes in blood glucose levels after administration of urethane (125 mg/100 g. B.W. intraperitoneally). Blood glucose levels were shown by the following marks (Δ ; before urethane, $\circ$; 60 min. $\bullet$; 120 min after urethane). Each point represents the mean $\pm$ SEM of 6 animals. Statically significant vs 1 day fasting rats: * $p < 0.05$.

Fig. 2. Effect of starvation on pituitary GH concentration. With increasing period of fasting, pituitary GH levels fell progressively. The mean $\pm$ SEM of 6 animals is shown.

Fig. 3. Effect of light ether anesthesia on basal plasma GH levels in starved rats. Each point represents the mean $\pm$ SEM.

ウレタン麻酔前の血糖は摂食群の約110mg/dlに対し、各絶食群において80mg/dlから90mg/dlとやや低値を示した。摂食群における血糖値は、ウレタン麻酔後段階的に上昇し、ウレタン投与後1時間で約180mg/dl、2時間後には300mg/dlであった。一方、絶食群の血糖の変動も2、4、6日の各絶食群で同じ様なパターンが認められたが、いずれも摂食対照ラットより低い傾向を示した。また1日絶食群では、ウレタン投与後も前値と同様の値を示し、ほぼ平坦なパターンであった。

3. 絶食の下垂体GH含量に及ぼす影響

下垂体GH含量は、Fig. 2に示したように絶食の1日後すでに減少傾向を示し、6日間の絶食群の下垂体GH含量($\mu\text{g/pit.}$)は、摂食対照群の約40%まで減少した。下垂体GH濃度($\mu\text{g/mg.pit. wt.}$)も同様の傾向を示した。

4. 絶食のエーテル麻酔下での血漿GHに及ぼす影響

エーテル麻酔開始1分後の動物の血漿GH濃度は絶食により、いずれも対照群に比較して減少する傾向であったが、統計的には有意な変動ではなかった (Fig. 3, $P > 0.05$)。

5. 合成TRH投与前後における下垂体GH分泌能に及ぼす絶食の影響 (Fig. 4)

ウレタン投与後の血漿GHレベルは、1日及び4日絶食群で対照群に比較して有意な変動ではなかったが、6日絶食群では、明らかに $11.6 \pm 4.0 \text{ ng/ml}$ で上昇を認めた。

一方TRH ($2.5 \mu\text{g}/100 \text{ g B.W}$) 静注後の血漿GHレベルは、対照群においては殆んど血漿GHの増加を示さなかったのに反し、各絶食群においては、有意の血漿GHの増加を認めた。絶食群の血漿GH反応の頂値はいずれも5分後にあり、15分後には減少する傾向が認められた。TRH投与5分後の血漿GH (ng/ml) は、対照群 4.9 ± 4.9 に対し、絶食1日群 22.0 ± 7.4 、絶食4日群 49.3 ± 14.4 、絶食6日群 125.1 ± 19.2 であり、絶食日数の増加と共に有意に上昇した。

Fig. 4. Effect of starvation on TRH induced GH release in urethane anesthetized rats. The mean $\pm$ SEM is shown. Significant vs fed controls: * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001.

Fig. 5. Effect of starvation on PGE₁ induced GH release in urethane anesthetized rats. The mean $\pm$ SEM is shown. Significant vs fed controls: * p <0.05, ** p <0.005, *** p <0.001. Significant vs 0 time: # p <0.05, (## p <0.005, ### p <0.001.

6. PGE_1 による下垂体GH分泌能に及ぼす絶食の影響 (Fig. 5)

本実験条件下でも1日及び4日絶食群の血漿GH濃度は対照群に比し上昇し、6日絶食群では、 $62.0 \pm 14.8 \text{ ng/ml}$ と著大な増加を示した。また PGE_1 ($5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, B. W.) の投与後の血漿GH反応は各群とも5分後に頂値を有し、4日及び6日間の絶食群では、 351.7 ± 65.9 , $529.1 \pm 79.0 \text{ ng/ml}$ の摂食対照群に対して著明な差異が認められた ($P < 0.001$)。しかし一日絶食群のGH反応は、摂食対照群とはほぼ同程度であった。

Fig. 6. Effect of starvation on LH-RH influenced GH release in urethane anesthetized rats. The mean $\pm$ SEM of 7 animals is shown. Statically significant vs fed controls: * $p < 0.05$.

Fig. 7. Effect of starvation on CPZ induced GH release in urethane anesthetized rats. Statically significant vs fed controls or 0 time: * $p < 0.05$, ** $p < 0.02$.

7. 合成 LH - RH による下垂体 GH 分泌能に及ぼす絶食の影響 (Fig. 6)

LH - RH (1 μ g/100 g, B.W.) 投与後の血漿 GH は絶食群において減少傾向を示したが、有意な変動ではなかった。

8. CPZ による GH 分泌能に及ぼす絶食の影響 (Fig. 7)

摂食対照群の血漿 GH の基礎分泌値は 8.3 ± 5.1 ng/ml で CPZ 投与20分後の血漿 GH は 33.1 ± 6.9 ng/ml と有意の増加が認められた ($P < 0.02$)。一方 CPZ 投与後の絶食群の血漿 GH 反応は、いずれも増加傾向を示したが、有意ではなかった。

考 察

GH が単に成長促進作用のみでなく、生体の物質代謝に密接に関与することから、各種代謝系の著名な変動が予想される飢餓状態における GH 分泌動態について多くの研究が行われてきたが、未だ不明の点も少なくないと思われる。こうした事情を背景として本研究において著者は、飢餓時におけるラット GH 分泌動態に関して幾つかの新知見を得たと考えられる。

本研究で明らかにし得た第一の点は、絶食の期間の延長と共に、ウレタン麻酔下における GH 基礎分泌値は増加する傾向を見出したことであろう。

ラットの GH 分泌に関しては、従来多くの報告があるが、その成績は必ずしも一致していない。また GH 分泌に関する向自律神経系薬剤の作用には、種属差がみられ、ラットとヒトでは全く逆の作用を示すことがあり^{2) 10) 17)}、ラットをヒトの実験モデルとして応用することに異論があるのも現状であろう。Christensson⁴⁾は、非蛋白食で飼育された無麻酔下のラット血漿 GH 値が蛋白食で飼育されたラットの場合より上昇していたと報告し、著者の絶食状態におけるラット血漿 GH 上昇の成績と類似した結果と考えられる。しかし絶食状態が生物学的測定法による血漿 GH 活性を低下させると報告した Meites ら^{10) 24)}の研究室の成績とは相反する結果である。更に最近 Campbell ら¹⁾は、7 日間の完全絶食状態は、全ての下垂体前葉ホルモンの血中濃度を著名に減少させ、なかでも GH は摂食対照群の約 56% も減少すると報告した。しかし著者の実験 (Fig. 3) で明らかなように彼ら¹⁾の使用したエーテル麻酔下では絶食ラットの GH レベルは増加せず、むしろ減少傾向さえ示している。従って、観察された飢餓ラットにおける GH 基礎分泌値の差異は、用いられた麻酔薬の差異に起因するものと考えられる。3 日間の絶食状態はヒト血漿 GH 濃度を増加させたという Roth ら²⁹⁾の報告を考えると、ラットをヒトの実験モデルとして飢餓実験に供する場合には、エーテル麻酔よりウレタン麻酔がより適当な実験条件を提供しているものと考えられるであろう。ウレタン麻酔は無処置の血中 GH レベルのばらつきを低く集約し、かつ麻酔深度が深いため、動物の採血を含む実験手技による各種ストレスを受けにくくすることから、GH-RF 活性物質の検定にも使用されている。

一般にウレタン麻酔下のラット GH 基礎分泌は、低値で安定しているとされている^{3) 5) 10) 17) 18) 41)}が、Kato ら¹⁷⁾は、Halász のナイフを使用して作られたいわゆる視床下部切断ラットにおいて、ウレタン麻酔下でも基礎 GH 値が上昇していたとし、更にカテコールアミンの生成阻害剤である α -met-hyl-p-tyrosine 投与で中枢神経系の dopamine 及び norepinephrine を低下させた^{7) 35)}ラットにおいても、ウレタン麻酔下のラット基礎 GH 値が上昇していたと報告¹⁷⁾した。これらの観察は、ウレタン麻酔下の絶食ラットの血漿 GH 上昇作用は、中枢神経と下垂体の間の機能的遮断によっても起り得ることを示唆する可能性を考えさせるようである。

本研究で見出した第 2 の点は絶食状態の延長と共に外因性 TRH や PGE₁ に対する血漿 GH 分泌反

応が亢進する事実であろう。

Kato¹⁸⁾は、一夜絶食のウレタン麻酔ラットにおいて、合成 TRH の静注は、血漿 GH を明らかに増加させることを見出し、TRH は下垂体に直接作用し GH の分泌に促進的に作用していると報告している。さらに彼ら³⁾は、視床下部破壊ラットの外因性 TRH による GH 分泌反応は、正常対照ラットの場合よりも高反応であることを示し、その理由として視床下部破壊により、視床下部に存する somatostatin によってもたらせられる GH 分泌の緊張性抑制がとりのぞかれた結果であろうと想定した。最近絶食ラットの視床下部内の somatostatin 含量は増加する⁴²⁾とも報告されており、絶食ラットの視床下部における somatostatin の合成や分泌の状態、ひいては下垂体に達する Somatostatin 量の検討が望まれる。更に絶食ラットで血漿 GH レベルの増加が認められたことは、somatostatin より GH-RF 優位な状態も否定できないであろう。

一方、飢餓ラットに TRH を使用し血漿 GH 値がむしろ低下したとする報告がある。

Campbell¹⁾は、7 日間の飢餓ラットにおいて、TRH と LH-RH を腹腔内に同時投与したところ、GH を除く他の下垂体前葉ホルモンの反応は、有意に増加したと報告している。彼らの実験のなかで、なぜ GH のみが抑制傾向になるのか、また著者の実験結果で TRH に GH がなぜ有意の増強反応を示したのか、その理由については、種々の実験条件の違いを考慮しなければならないであろう。

本研究では、絶食ラットに外因性 LH-RH を投与すると、血漿 GH レベルは統計的に有意ではないが低下する傾向があることから、LH-RH の GH 分泌抑制効果が TRH の GH 分泌刺激効果を妨げた可能性も否定できない。更に腹腔内に投与した TRH は pentobarbital の引き起こす GH 分泌を抑制する⁶⁾ことから、薬物の投与経路も問題となるであろう。また彼ら¹⁾の使用したエーテル麻酔の反復的操作は、先にも指摘したようにラット血漿 GH の低下をもたらすとされている³⁹⁾ことから、血漿 GH の不反応性は、TRH により引き起こされるはずの GH 分泌反応が惹起されなかったことも考え得るであろう。

本研究で第 3 に指摘すべき点は、ウレタン麻酔下における絶食ラットの脳内アミンの関与の可能性であろう。

従来多くの研究者が、GH の分泌動態をめぐり、脳内アミンを中心とした神経伝達物質の関与を論じてきた。ラットにおける GH の分泌は視床下部の dopaminergic 及び α -adrenergic な機構によって抑制されていると報告されている¹⁹⁾。エーテルは、視床下部内の norepinephrine 濃度を減少させ⁴³⁾、dopamine 合成を促進⁹⁾させる。それ故にエーテル麻酔下では、血漿 GH 濃度は低下ないし上昇が抑制されると解される (Fig. 3)。

一方、ウレタンの脳内アミンに及ぼす詳細な検討はないと思われる。しかし Reinert²⁾は、ウレタンの処置が血糖を著明に上昇させ、ラット視床下部及び副腎髄質の norepinephrine 含量を減少させること、さらにこの血糖上昇が reserpine 前処置により抑制されることを見出しており、交感神経系を介してのウレタンによる血糖上昇機序を想定している。

副腎重量は絶食の期間の延長と共に増加したがこれはストレスの反映とも考えられ¹⁾ウレタン麻酔で corticosterone の上昇する²⁶⁾こと、飢餓時において corticosterone は α -AMP を介した肝での糖新生を促進させるであろうとする Seitz³⁾の推定から、corticosterone による血糖上昇機序も否定できない。しかし、Kokka¹⁹⁾は、ラットにおいて GH と corticosterone の分泌は逆相関にあると報告しており、著者の観察した絶食の持続により GH 分泌の被刺激性が亢進していた事実から、

飢餓により上昇した corticosterone が、飢餓時の GH 分泌機構に及ぼす主因とするには、今後の検討を要するものと考えられる。

一方、摂食ラットにおけるウレタン投与後の血糖値の段階的な増加は、本質的には過去の報告と軌を一にするものであったが、この血糖値の変化は、視床下部及び副腎髄質内のカテコールアミン含量が持続せる飢餓状態により異常に上昇し分泌されることも否定できない。しかし、絶食日数の増加と共に TRH 及び PGE_1 に対する GH 分泌の被刺激性が亢進していたことは飢餓状態がもたらす血糖の変化は、1 日絶食群で変化なく、2, 4, 6 日絶食群では摂食群の中間で、またその順となっていない点、adrenergic な機構の変化が中心となり飢餓時の GH 分泌動態を修飾する要因と考えるのは早急であろう。

一方、単に飢餓時の脳内アミンの変化について、Friedman ら¹¹⁾ は脳内 norepinephrine 含量は変化しないが dopamine は増加すると述べているが、Shoemaker ら³³⁾ は、脳内 dopamine と norepinephrine は低栄養状態においてその蓄積は抑制されると報告している。脳内アミンの測定には、主に蛍光法が用いられ感度は良好であるが、その特異性に疑問がもたれ、かつ精製法が複雑で現状では、その測定結果は、必ずしも信頼しえず、それらが、このような相矛盾する報告をもたらしただけの一因とも考えられる。また一方組織内カテコールアミンの増減は必ずしも臓器の機能を反映するものとは限らないという報告⁴¹⁾ もされている。このような事情から、従来作用機構の明らかな薬物を投与し脳内アミン量を増加あるいは減少させ、視床下部ホルモンの分泌の変化から、アミンの役割を推測する方法が多く採用されている。

そこで、ウレタン麻酔絶食飢餓ラットにおける視床下部 level でのアミンの果たす役割を明確にする目的で、著者は視床下部に直接作用しカテコールアミン量を減少させ下垂体より GH 分泌を促すと考えられている CPZ^{21) 19) 17)} を用いた。CPZ は、摂食対照群において有意の GH 分泌刺激効果がみられたにもかかわらず (Fig. 7), TRH (Fig. 4) や PGE_1 (Fig. 5) の投与により認められた絶食群の著明でかつ過剰の GH 分泌を引き起こせ得なかったばかりでなく、CPZ による有意の GH 分泌刺激効果も認められなかった (Fig. 7)。このことは、CPZ は視床下部の dopaminergic な機構に拮抗することにより、GH 分泌を促進すると考えられている^{21) 17)} ことから、絶食ラットでは視床下部の dopamine の欠乏ないし dopamine receptor の不反応性が存在している可能性があるであろう。

従って、持続せる絶食状態とウレタン麻酔の組み合わせは、視床下部の dopaminergic な機構の変動を介して、血糖と血中 GH 濃度の上昇を引き起こしたとも考えられる。

本研究で第 4 に挙げるべき点は、絶食の持続とウレタン麻酔の組み合わせは外因性の GH 分泌刺激物質の力価検定に応用し得る可能性であろう。

本研究では過去の報告^{12) 20) 24)} と一致し、下垂体 GH 含量は絶食の持続と共に減少した。

Friedman ら¹²⁾ は、ヒトにおいて絶食により血漿 GH が上昇すること²⁹⁾ から、下垂体 GH 含量の減少は、下垂体レベルでの GH の分泌が合成を凌駕した結果であろうと推定している。従って著者の観察した絶食ウレタン麻酔ラットにおける血中 GH 濃度の上昇及び TRH や PGE_1 に対する被刺激性の亢進は Friedman らの推察するような状態に起因するとも考えられるが、本実験ではその可能性は検討していない。一方 Meites ら²⁴⁾ は depletion method を使用し、ラットにおける絶食状態では、視床下部レベルでの GH-RF の合成も分泌も減少し、その結果下垂体レベルでの GH の分泌及び合成は減少するであろうと報告した。一方、絶食ラットで GH-RF がどのような役割を果たして

いるかについては不明の点も少くない。従来ラットではカロリー制限により、視床下部内の TRH³²⁾, LH-RH²⁸⁾, FSH-RH²⁵⁾, GH-RF²⁴⁾ 含量が減少すると報告されているものの、GH-RF の測定法として重要な役割を果たしてきた depletion method は、現在の RIA 法による検討ではその原理そのものが否定されるに至り、この方法で検討された過去の成績は再吟味が必要であると考えられている⁸⁾。従って GH 分泌機構にあずかる脳内アミンや GH-RF 及び somatostatin の役割の解明には、ウレタン麻酔下の絶食ラットがよい実験系を提供してくれるであろう。

これらの観察から、絶食は視床下部の dopaminergic mechanism に影響を及ぼし、下垂体からの GH 分泌が引き出されやすい状態にし、絶食の持続とウレタン麻酔の組み合わせは、TRH 及び PGE₁ の様に直接下垂体に作用する様な外因性の刺激物質に対する下垂体 GH 分泌能の検定に、ひいては末だ化学構造式の決定をみない GH-RF の in vivo 測定法に応用する場合に、より適当な内部環境を提供し得るものと結論した。

最後にラットを絶食状態にすると GH 分泌を刺激するという本研究で得た知見は、ヒトの場合に妥当するものか考察するべきであろう。一般には外因性 TRH は GH 分泌を増加させないが、神経性食思不振症²³⁾ 及び絶食後の潰瘍性大腸炎の患者³⁷⁾ の低栄養状態では TRH は GH 分泌を増加させるといわれており、著者の得た実験結果と類似した現象とも考えられ、その機序の解明は興味ある今後に残された課題であろう。

総 括

体重200g前後の wistar 系雄ラットを摂食対照群及び1日、4日、6日の各絶食群に分け、ウレタン麻酔下で、各種 GH 分泌刺激物質を投与し、その反応性を検討した。

その結果、飢餓時におけるラット GH 分泌動態に関して以下の事実を明らかにした。

1. 用いられたラットの体重は絶食1日、4日、6日後、正常摂食対照群のそれぞれ90%、73%、60%に減少した。一方副腎重量は絶食の期間の延長と共に増加傾向を示した。下垂体重量は絶食により絶対値では減少したが体重比では著変なかった (Table. 1)。
2. ウレタン麻酔前、絶食群の血糖値は対照群より低下傾向を示し、ウレタン麻酔後、1日絶食群を除く各群で、血糖値の上昇が認められた (Fig. 1)。
3. 絶食群のウレタン麻酔下における血中 GH の基礎分泌値は、摂食対照群に比較して絶食1日では変化なく、絶食4日で増加 (Fig. 5, 6) ないし増加傾向 (Fig. 4, 7)、6日絶食群で増加した (Fig. 4, 5, 6, 7)。
4. 一方エーテル麻酔下では絶食による血中 GH の上昇は認められず、むしろ抑制傾向が認められた (Fig. 3)。
5. 下垂体 GH 含量は、絶食の期間が持続すると共に減少し、6日絶食群の下垂体 GH 含量 ($\mu\text{g/pit}$) は、摂食対照群の約40%であった (Fig. 2)。
6. ウレタン麻酔下で TRH の静注は、各絶食群において各々の基礎分泌値に対して有意の血漿 GH の上昇を認めたが、摂食対照群においては有意の血漿 GH の増加を認めなかった (Fig. 4)。血漿 GH の増加反応は、絶食日数の増加と共に段階的に上昇した。
7. ウレタン麻酔下で下垂体に直接作用を有するといわれる PGE₁ の静注は、各群とも各々の基礎分泌値に対して有意の血漿 GH 分泌促進が認められ、4日及び6日絶食群の反応は、摂食対照群に対して有意でかつ著明な反応性の亢進が認められた (Fig. 5)。

8. LH-RH の静注後、血漿 GH 濃度は、統計的に有意ではないが前値よりむしろ低下傾向を示した (Fig. 6)。

9. 視床下部に作用し、dopaminergic な機構に拮抗することにより、下垂体より GH 分泌を促すと考えられている CPZ の静注は、ウレタン麻酔下で摂食対照群において有意の GH 上昇をもたらしたが、絶食群においては有意の GH の変動を起こさなかった (Fig. 7)。

以上の観察により、絶食によるラット GH 分泌動態は、ウレタン麻酔下で下垂体より GH が放出され易い状態を惹起する結果、外因性 TRH や PGE_1 に対する被刺激性の亢進が認められた。また絶食ラットでは視床下部の dopaminergic な機構に拮抗するといわれる CPZ で有意の血漿 GH 増加が認められなかったことから、視床下部レベルで dopaminergic な機構の変動を介して、GH 分泌の上昇が発現することも考えられる。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲をいただいた小林節雄教授に深謝いたします。終始、研究の場を御提供下さり、さらに直接御指導下さった上原昭夫博士ならびに圀原昭夫講師に深甚なる謝意を表します。

なお、本論文の要旨の一部は、第50回日本内分泌学会総会 (1977年 5 月、福岡市) において発表した。

文 献

- 1) Campbell, G.A., Kurcz, M., Marshall, S. and Meites, J.: Effect of starvation in rats on serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, thyrotropin, growth hormone and prolactin: Response to LH-releasing hormone. *Endocrinology*, 100: 580-587, 1977.
- 2) Chihara, K., Kato, Y., Ohgo, S. and Imura, H.: Effect of drugs influencing brain catecholamines on GH release in rats with hypothalamic surgery. *Neuroendocrinology*, 18: 192-203, 1973.
- 3) Chihara, K., Kato, Y., Ohgo, S., Iwasaki, Y., Abe, H., Maeda, K. and Imura, H.: Stimulating and inhibiting effect of thyrotropin-releasing hormone on growth hormone release in rats. *Endocrinology*, 98: 1047-1053, 1976.
- 4) Christensson, P.I., Rerup, C., Seyer-Hansen, K. and Stenram, U.: Elevated serum growth hormone in protein-deprived rats, and decreased liver RNA after hypophysectomy. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. Bd.*, 356: 591-597, 1975.
- 5) Colu, R. and Martini, L.: Growth hormone release stimulated by extracts of stalk median eminence in adult male rats anesthetized with urethane. *J. Endocr.*, 51: 781-782, 1971.
- 6) Collu, R., Clermont, M.J., Letarte, J., Leboeuf, G. and Ducharme, J.R.: Inhibition of pentobarbital-induced release of growth hormone by thyrotropin releasing hormone. *Endocrine research communication*, 2 (2), 123-135, 1975.
- 7) Corrodi, H. and Hanson, L.C.F.: Central effect of an inhibitor of tyrosine hydroxylation. *Psychopharmacologia*, 10: 116-125, 1966.
- 8) Daughady, W.H., Peake, G.T., Machlin, L.J. and Meites, J. (eds.): Assay and chemistry, 151-160. Hypophysiotropic hormones of hypothalamus, The Williams & Wilkinsons, Co., Baltimore, 1970.
- 9) Diaz, P.M.S., Ngai, H. and Costa, E.: The effect of cyclopropane, halothane and diethyl ether on cerebral metabolism of serotonin in the rat.

- Anaesthesiology, 29: 959–963, 1968. 10) Dickerman, E., Négro-Vilar, A. and Meites, J.: Effect of starvation on plasma GH activity, pituitary GH and GH-RF levels in the rat. *Endocrinology*, 84: 814–819, 1969. 11) Friedman, E., Starr, N. and Gershon, S.: Catecholamine synthesis and the regulation of food intake in the rat. *Life sciences*, 12: 317–326, 1973. 12) Friedman, R.C. and Reichlin, S.: Growth hormone content of the pituitary gland of starved rats. *Endocrinology*, 76: 787–788, 1965. 13) Frohman, L.A. and Bernadis, L.L.: Growth hormone secretion in the rat: Metabolic clearans and secretion rates. *Endocrinology*, 86: 305–312, 1970. 14) Glick, S.M., Roth, J., Yallow, R.S. and Berson, S.A.: The regulation of growth hormone secretion. *Recent Progress in Hormone Research*, 21: 241–283, 1965. 15) Hertelendy, F.: Studies on growth hormone secretion II. Stimulation by prostaglandins in vitro. *Acta Endocrinology*, 68: 355–362, 1971. 16) Kato, Y., Dupre, J. and Beck, J.C.: Plasma growth hormone in the anesthetized rat: Effect of dybutyryl cyclic AMP, prostaglandin E₁, adrenergic agents, vasopressin, chlorpromazine, amphetamine and 1-dopa. *Endocrinology*, 93: 136–146, 1973. 17) Kato, Y., Chihara, K., Ohgo, S. and Imura, H. Effect of hypothalamic surgery and somatostatin on chlorpromazine-induced growth hormone release in rats. *Endocrinology*, 95: 1608–1613, 1974. 18) Kato, Y., Chihara, K., Maeda, K., Ohgo, S., Okanishi, Y. and Imura, H.: Plasma growth hormone responses to thyrotropin-releasing hormone in the urethane anesthetized rat. *Endocrinology*, 96: 1114–1118, 1975. 19) Kokka, N., Garcia, J.F., George, R. and Elliott, H.W.: Growth hormone and ACTH secretion: Evidence for an inverse relationship in rats. *Endocrinology*, 90: 735–743, 1972. 20) Krulich, L. and Mccann, S.M.: Influences of stress on growth hormone content of the pituitary of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med*, 122: 612–616, 1966. 21) Lee, M.O.: Relation of the anterior pituitary growth hormone to protein metabolism. *Res Publ Ass Res Ner Ment Dis*, 17: 193–221, 1936. 22) Liuzzi, A., Panerai, A.E., Chiodini, P.G., Secchi, C., Cocchi, D., Botalla, L., Silvestrini, F. and Müller, E.E.: Neuroendocrine control of growth hormone secretion: Experimental and clinical studies, 236–251. Ed. by Pecile, A. and Müller, E.E., Growth hormone and related peptides, American Elsevier Publishing Co., Inc., New York, 1976. 23) Maeda, K., Kato, Y., Yamaguchi, N., Chihara, K., Ohgo, S., Okanishi, Y., Yoshimoto, Y., Moridera, K., Kuromaru, S. and Imura, H.: Growth hormone release following thyrotropin-releasing hormone injection into patients with anorexia nervosa. *Acta Endocrinol (kbh)*, 81: 1–8, 1976. 24) Meites, J. and Fiel, N.J.: Effect of starvation on hypothalamic content of “somatotropin releasing factor” and pituitary growth hormone content. *Endocrinology*, 77: 455–460, 1965. 25) Negro-Vilar, A., Dickerman, E. and Meites, J.: Effect of starvation on hypothalamic FSH-RF and pituitary FSH in male rats. *Endocrinology*, 88: 1246–1249, 1971. 26) Ondo, J.G. and Kitay, J.I.: Effect of urethane on pituitary-adrenal function in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med*, 143: 894–898, 1973. 27) Reinert, H.: Urethane hyperglycemia and hypothalamic activation. *Nature*, 204: 889–891, 1964. 28) Root, A.W., Reiter,

- E.O., Duckett, G.E. and Sweetland, M.L.: Effect of short-term castration and starvation upon hypothalamic content of luteinizing hormone releasing hormone in adult male rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 150: 602–605, 1975.
- 29) Roth, J., Glick, S.M., Yalow, R.S. and Berson, S.A.: Hypoglycemia: A potent stimulus to secretion of growth hormone. *Science*, 31: 987–989, 1963.
- 30) Russel, J.A.: Effect of growth hormone on protein and carbohydrate metabolism. *Amer J Clin Nutr*, 5: 404–415, 1957.
- 31) Seitz, H.J., Kaiser, M., Krone, W. and Tarnowski, W.: Physiologic significance of glucocorticoids and insulin in the regulation of hepatic gluconeogenesis during starvation in rats. *Metabolism*, 25: 1545–1555, 1976.
- 32) Shambaugh, E.G. III. and Wilber, J.F.: The effect of caloric deprivation upon thyroid function in the neonatal rat. *Endocrinology*, 94: 1145–1149, 1974.
- 33) Shoemaker, W.J. and Wurtman, R.J.: Perinatal undernutrition: Accumulation of catecholamine rat brain. *Science*, 171: 1017–1019, 1971.
- 34) Sinha, Y.N., Wilkins, J., Selby, F. and Vanderlaan, W.P.: Pituitary and serum growth hormone during undernutrition and catch-up growth in young rats. *Endocrinology*, 92: 1768–1771, 1973.
- 35) Spector, S., Sjoerdsma, A. and Udenfried, S.: Blockade of endogenous norepinephrine synthesis by α -methyl-tyrosine, an inhibitor of tyrosine hydroxylase. *J Pharmacol exp Ther*, 147: 86–95, 1965.
- 36) Srebnik, H.H., Nelson, M.M. and Simpson, M.E.: Reduced growth hormone content in anterior pituitaries of rats on protein-free diets. *Proc Soc Exp Biol Med*, 101: 97–99, 1959.
- 37) 末松弘行, 江崎正博, 黒川順夫, 玉井 一, 青木宏之, 石橋慎一郎: TRH の下垂体ホルモン分泌作用に対する絶食 (低栄養状態) の影響, 日本内分泌誌, 53: 314, 1977。(第50回日本内分泌学会総会一般演抄録, 福岡)
- 38) Takahara, J., Arimura, A. and Schally, A.V.: Stimulation of prolactin and growth hormone release by TRH infused into a hypophysial portal vessel. *Proc Soc Exp Biol Med*, 146: 831–835, 1974.
- 39) Takahashi, K., Daughady, W.H. and Kipnis, D.M.: Regulation of immunoreactive growth hormone secretion in male rats. *Endocrinology*, 88: 909–917, 1971.
- 40) Trenkle, A.: Effect of starvation on pituitary and plasma growth hormone in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 135: 77–80, 1970.
- 41) 上原昭夫: 成長ホルモン分泌促進因子 (GH-RH) 測定法に関する研究—とくに測定感度上昇に対する検討及びプロスタグランディン E_1 の導入について—, 北関東医学, 27 (1): 27–40, 1977.
- 42) 畠木東陽子, 高原二郎, 大藤信子, 薬師寺渉, 細木秀美, 柚木 昌, 山根行雄, 景山甚郷, 大藤 真: 長期飢餓ラットの内分泌学的検討 (第5報) 日本内分泌誌, 53: 305, 1977。(第50回日本内分泌学会総会一般講演抄録, 福岡)
- 43) Vogt, M.: The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after the administration of drugs. *J Physiol [Lond]*, 123: 451–481, 1954.
- 44) 山田律爾: カテコールアミン: 新内分泌データブック, 下巻, ホルモンと臨床, 25: 996–997, 1977.