ラットの視床下部一下垂体系に対する γ -Oryzanolの影響

獨協医科大学 内分泌内科

(主任: 下田 新一教授)

家 入 蒼生夫, 加 瀬 知 男, 橋 上 好 久
小 堀 博 文, 中 村 勤, 下 田 新 一The Effects of Gamma-Oryzanol
on the Hypothalamo-Pituitary Axis in the RatTamio IEIRI, Norio KASE, Yoshihisa HASHIGAMI,
Hirobumi KOBORI, Tsutomu NAKAMURA and Shin-Ichi SHIMODADepartment of Endocrinology, Internal Medicine,
Dokkyo University School of Medicine,
Mibu, Tochigi 321-02

The effects of gamma oryzanol (γ -OZ), a ferulic acid triterpene alcohol, on the synthesis and release of the growth hormone (GH) and prolactin (PRL) *in vitro* and turnover rates of hypothalamic catecholamines were investigated. A single subcutaneous injection of 20mg/kg of γ -OZ suppressed GH synthesis and PRL release 1 hour after the injection. γ -OZ increased medial basal hypothalamic (MBH) dopamine (DA) content, and the DA content was decreased by a treatment of α -methyl-p-tyrosine (α MpT), a tyrosine hydroxylase inhibitor, indicating increased synthesis and release of DA in MBH by γ -OZ. γ -OZ did not alter norepinephrine (NE) content in MBH, while the NE content was significantly decreased, indicating unchanged synthesis and increased release of NE in MBH by γ -OZ. These results may explain the previous data concerning the changes in serum levels of GH and PRL by γ -OZ and also suggest that γ -OZ can affect the synthesis and/or release of at least two hypothalamic neurotransmitters, DA and NE, resulting in the alterations of anterior pituitary hormone synthesis and/or release.

緒 言

土屋, 金子らにより1953年, 米ヌカ油, 米胚芽油中より抽出された γ -Oryzanol (γ -OZ)¹⁹⁾は, 自律神経調節作用があるとされ, 早くから自律神経失調症, 更年期障害, ストレス潰瘍などに臨床的に用いられている一方^{5) 8) 9) 10) 11) 14)}, 基礎的な作用機構の解明も進められている^{1) 17) 20)}。足高ら¹⁾は, ラットにおける γ -OZによる成長促進作用や間脳機能調節作用を指摘し, 間脳のdopamine (DA), norepinephrine (NE)含量の増加を報告した。

山内ら²⁰⁾は, γ -OZのラット血中下垂体ホルモンレベルに対する影響を検討し, γ -OZが, LHレ

ペルを著明に抑制, プロラクチン (PRL) を比較的弱く抑制したが, 成長ホルモン (GH) 及び甲状腺刺激ホルモン (TSH) に対しては影響しなかったと報告した。

以上のように, γ -OZ の視床下部-下垂体系に対する作用には注目すべきものがあるので, 我々は, Ieiri, Yamamoto^{6) 7) 20)} の *in vitro* の系を用いてラット GH と PRL の合成機能, 分泌機能に対する γ -OZ の影響を検討し, 更に, 下垂体レベルでの変化の機構を明らかにする目的で, 視床下部カテコールアミン代謝回転率に対する影響も検討した。

材料と方法

Wistar 系の雄ラットを購入後, 室温 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) 及び照明 (明: 暗=12時間: 12時間) の自動調節された飼育室に少くも 2 週間はおき, 体重 300~400 g の時, 実験に用いた。 γ -OZ は, カネボウ薬品株式会社より提供された lot No. 30191 をゴマ油 (半井化学) に溶解して用いた。

GH, PRL の合成機能, 分泌機能

18匹のラットを 3 群に分け, 第 1 群は, 対照 (C) としてゴマ油 1 ml/kg を皮下注射し, 3 匹を 1 時間後, 残りを 2 時間後に断頭屠殺した。第 2 群, 第 3 群は, γ -OZ を 20 mg/kg 皮下注射後, 1 時間 (1 h), 2 時間後 (2 h) にそれぞれ断頭にて屠殺した。直ちに下垂体前葉を取り出し, 0.2 ml の ^{14}C -leucine (0.2 μCi) と glucose (180 mg/dl) を含む Krebs-Ringer-Bicarbonate buffer の中で, 3 時間 incubate し, 下垂体前葉と incubation medium とを別々にポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動を行い, GH と PRL を分離し, それぞれの radioactivity を測定した。下垂体前葉中の radioactivity を “p”, medium 中の radioactivity を “m” とすると (p+m)/ 体重が合成機能の指標であり, m/(p+m) が分泌機能の指標である²⁰⁾。

Fig. 1. Sagittal section of the rat brain showing medial basal hypothalamus (MBH) (indicated by solid line, mean weight was $13.4 \pm 0.7\text{mg}$). ARC; nucleus arcuatus, CA; commissura anterior, CO; chiasma opticum, DMH; n. dorsomedialis, FX; fornix, MB; mammillary body, PH; n. posterior hypothalami, POA; area preoptica, PVH; n. paraventricularis, RE; n. reuniens thalami, SC; n. suprachiasmaticus, VMH; n. ventromedialis hypothalami.

視床下部カテコールアミン代謝率

21匹のラットを4群に分け, 第1群6匹には, 断頭前60分にゴマ油を1 ml/kg 皮下注射し, 45分前に生食を2 ml/kg 腹腔内注射した。第2群5匹には, 60分前に γ -OZ 20 mg/kg を, 45分前に生食を, 第3群5匹には, 60分前にゴマ油, 45分前に tyrosine hydroxylase の inhibitor である DL- α -methyl-p-tyrosine methyl ester-HCl (α MpT) (Sigma Co.) の250 mg/kg を腹腔内に注射した。第4群5匹には, 60分前に γ -OZ, 45分前に α MpT をそれぞれ投与した。すべてのラットについて, 断頭後直ちに視床下部底部の弓状核, 正中隆起を含む基底部 (MBH) (図1) の平均重量 13.4 ± 0.7 mg (平均 $\pm$ 標準誤差) を剪刀で切り出し, 0.4N の perchloric acid で homogenize し, 上清の DA, 及び NE を測定した。測定は, ^3H -S-Adenosyl methionine とラット肝より Nikodejevic ら¹⁶⁾ の方法で抽出した catechol-o-methyl-transferase を用いて, Ben-Jonathan, Porter ら²⁾ の変法による radioenzymatic method により行った。 α MpT による組織中のカテコールアミンの減少を代謝回転率の指標とした³⁾。

有意差の検定は, Analysis of variance と Newman-Keuls test を用い, 適用できる場合 Students' t test を用い, $p < 0.05$ の場合有意と判定した。

Fig. 2. Effects of gamma-oryzanol (γ -OZ) on the synthesis and release of growth hormone (GH). C; control (one or 2 hours after the subcutaneous injection of sesame oil (1ml/kg)), 1h; one hour after the subcutaneous injection of γ -OZ (20mg/kg), 2h, 2 hours after the injection, a; statistical significant difference between C and 1h at $p < 0.05$.

Fig. 3. Effects of γ -OZ on the synthesis and release of prolactin (PRL). Abbreviations were the same as in Fig. 2.

Fig. 4. Effects of γ -OZ on the turnover of dopamine (DA) in medial basal hypothalamus (MBH). SAL; 0.9% NaCl, α MpT; α -methyl-p-tyrosine, a, b indicate statistically significant differences from SAL-Oil or γ -OZ-SAL at the level of $p < 0.05$ or $p < 0.01$.

Fig. 5. Effects of γ -OZ on the turnover of norepinephrine (NE) in MBH. Abbreviations were the same as in Fig. 4.

結 果

図 2 に γ -OZ (20 mg/kg 皮下注) の GH 合成, 分泌両機能に対する影響を示す。GH の合成機能は, 注射後 1 時間 (1 h) で有意に亢進し, 2 時間後 (2 h) には対照 (C) のレベルにまで下降した。分泌機能は, 1 時間後に低下の傾向にあったが有意ではなかった。

図 3 に γ -OZ の PRL 合成, 分泌両機能に対する影響を示す。PRL 合成機能は γ -OZ により変化しなかったが, 分泌機能は, 投与後 1 時間で有意に抑制され, 2 時間後には, 対照のレベルにまで戻った。

図 4 に γ -OZ の視床下部 MBH における DA 代謝に対する影響を示す。 α MpT による MBH 内の DA 含量の減少は, ゴマ油投与群間では有意の変化なく, γ -OZ 投与群間で有意であった。更に, γ -OZ 一生食投与群の DA 含量がゴマ油一生食投与群のそれより有意に増加していた。

図 5 に γ -OZ の MBH, NE 代謝に対する影響を示す。 γ -OZ 投与群において MBH の NE 含量が α MpT 投与により有意に減少していた。 γ -OZ のみでは対照にくらべ, NE 含量の有意な変動はみられなかった。

考 案

γ -OZ 20 mg/kg 皮下注射により, 1 時間後に GH 合成機能は, 有意に高まり, 2 時間後には, 元のレベルまでほぼ戻った。同時にみた分泌機能は, 1 時間後に抑制傾向であったが有意ではなかった (図 2)。このことから γ -OZ には, ラット下垂体前葉の GH 合成機能を刺激し, 分泌機能については, むしろ抑制する作用のあることが示唆される。山内ら²¹⁾は, 正常雄ラットや卵巢摘除ラットに, γ -OZ を投与し, 血中 GH 濃度を測定したが, 有意の変動を見出すことはできなかったと報告した。本研究の結果から, 血中濃度の変化がおこらなかったのは, 下垂体レベルでの合成機能は, 高まってはいるが, 血中濃度を上昇させるほど分泌機能が高まっていないと考えられる。しかし, *in vivo* での GH 分泌パターンは, 約 3 時間の周期をもつ pulsatile secretion であるとされ¹⁸⁾, 今回の我々の *in vitro* での下垂体機能の変化の結果は, GH の pulsatile secretion の面からの検討が必要であると考えられる。

PRL の合成機能は、20 mg/kg の γ -OZ により有意の変化を示さなかったが、分泌機能は、注射後1時間で有意に抑制され、2時間後には元のレベルへ戻った(図3)。前述の山内ら²¹⁾は、卵巢摘去ラットに γ -OZ を6日間連続投与を行って、血中 PRL の有意の低下をみたと報告している。我々は、20 mg/kg の1回投与で PRL 分泌機能の一過性の抑制をみた。

α MpT による MBH 内の DA 含量の減少が、 γ -OZ の投与により大きくなったことから、 γ -OZ により MBH 内 DA 代謝回転率が上昇したことが考えられる。また γ -OZ のみで MBH 内 DA 含量の増加がみられたことは、足高ら¹⁾の報告を確認すると共に、 γ -OZ は、MBH 内 DA の合成、放出共に刺激していることが示唆される。また同じ部位における NE 代謝回転率も γ -OZ により上昇していることが考えられるが(図5)、 γ -OZ のみを投与した場合、MBH 内の NE 含量が変化しなかったことから、 γ -OZ は、NE 合成には変化を与えないことが考えられる。

ラット GH、PRL に対する DA、NE を含めた脳内 neurotransmitters の影響は、複雑で、お互いに作用しあっていると考えられ、詳細は、なお不明といわざるを得ない¹⁵⁾。DA、や NE の促進剤、拮抗剤、合成阻害剤などを用いた神経薬理学的研究から、一般的に、NE は、GH に対し促進的に働いていることが示されている⁴⁾¹³⁾。一方 PRL に対しては、DA が抑制的に働くことが示されている¹²⁾。

本研究で、 γ -OZ が視床下部 MBH において、DA 代謝、NE 代謝に対して共に促進的に作用することが示されたが、他の neurotransmitter 又は putative neurotransmitters 例えば、セロトニン、アセチルコリン、GABA、Endorphins 等々影響を及ぼすことが考えられる物質が多数視床下部及びその周辺に存在するので¹³⁾、本研究で示された γ -OZ による視床下部アミン代謝の変化と下垂体前葉での GH、PRL の合成、分泌両機能の変化や、GH、PRL 以外のホルモンに対する γ -OZ の影響について報告された結果¹⁷⁾²¹⁾などを直接結びつけて説明することは現在のところ困難であると考えられる。

結 語

本研究の結果から、 γ -OZ は、少くも DA、NE という2つの視床下部 neurotransmitter の代謝回転率に変化を及ぼし、直接あるいは他の neurotransmitter との相互作用の総合的な結果として視床下部 GRH、GIH、PRH、PIH などの放出ホルモン、抑制ホルモンに影響を及ぼし、下垂体 GH 合成機能の亢進、PRL 分泌機能の抑制をきたしたものと考えられる。

稿を終わるにあたり、本研究に使用した γ -Oryzanol を提供したカネボウ薬品株式会社に深謝します。また、篠原和代、今井治枝両女氏の種々の援助、ならびに獨協医大、内分泌内科教室員諸氏の種々の助言に深謝するものです。

本論文の要旨は、第54回日本内分泌学会秋季大会において発表した。

文 献

- 1) 足高義雄, 倉智敬一, 本郷二郎, 広田肇造, 宮田 順: γ -oryzanol の雌性性機能並びに視床下部に及ぼす作用に関する基礎的研究。産科と婦人科, 35: 1572-1578, 1968.
- 2) Ben-Jonathan, N. and Porter, J.C.: A sensitive radioenzymatic assays for the dopamine, norepinephrine and epinephrine in plasma and tissue, Endocrinology, 98: 1497-1507, 1976.
- 3) Brodie, B.B., Costa, E., Dlabac, A., Neff, N.H. and Smookler, H.H.: Application of

- steady state kinetics to the estimation of synthesis rate and turnover time of tissue catecholamines, J. Pharm. Exp. Ther., 154: 493—498, 1966.
- 4) Durand, D., Martin, J.B. and Brazeau, P.: Evidence for a role of α -adrenergic mechanisms in regulation of episodic growth hormone secretion in the rat, Endocrinology, 100: 722—728, 1977.
- 5) 市川 宝: 更年期不定愁訴婦人に対する γ -OZ の投与—投与前後のホルモン環境の変化を中心にして, 新薬と臨床, 23: 40—57, 1974.
- 6) Ieiri, T., Akikusa, Y. and Yamamoto, K.: Synthesis and release of prolactin and growth hormone *in vitro* during the estrous cycle of the rat, Endocrinology, 89: 1533—1537, 1971.
- 7) Ieiri, T.: Effects of thyroidectomy and triiodothyronine (T_3) on the synthesis and release of growth hormone and prolactin, Japan J. Physiol., 21: 551—562, 1971.
- 8) 石浜淳美, 伊藤禎二: 諸種薬剤の下垂体分泌細胞におよぼす影響(3), γ -oryzanol と下垂体前葉細胞, 産婦人科の実際, 13: 625—627, 1964.
- 9) 板谷公和, 清水城右: γ -oryzanol の研究 (第 1 報) 抗ストレス潰瘍作用について, 日薬理誌, 72: 475—481, 1976.
- 10) 板谷公和, 清水城右, 石川宗義: γ -oryzanol の研究 (第 2 報) 抗潰瘍作用について, 日薬理誌, 72: 1001—1011, 1976.
- 11) 楠田雅彦, 豊田 明, 納富康正, 福嶋恒彦, 立山浩道: 婦人科領域における自律神経障害および排卵障害に対する γ -oryzanol の応用, 産婦人科の実際, 14: 587—592, 1965.
- 12) Macheod, R.M.: Regulation of prolactin secretion, 169—194, Ed. by Martini, L. and Ganong, W.F., Frontiers in neuroendocrinology Vol 4, Raven Press, 1976.
- 13) Martin, J.B.: Brain regulation of growth hormone secretion, 129—168, Ed. by Martini, L. and Ganong, W.F., Frontiers in neuroendocrinology Vol 4, Raven Press, 1976.
- 14) 三宅清平, 瀬崎信明, 平林光司: γ -oryzanol の経口投与—臨床治験例, 産婦人科の実際, 12: 147—150, 1963.
- 15) Müller, E.E., Nisticò, G. and Scapagnini, U.: Brain neurotransmitters and the regulation of anterior pituitary function, 220—323, Ed. by Müller, E.E., Nisticò, G. and Scapagnini, U., Neurotransmitters and anterior pituitary function, Academic Press, 1977.
- 16) Nikodejevic, B.S., Senoh, B.S., Daly, J.W. and Creveling, C.R.: Catechol-o-methyltransferase II; a new class of inhibitors of catechol-o-methyltransferase; 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzoic acid and related compounds, J. Pharm. Exp. Ther., 174: 83—95, 1970.
- 17) 下村洋之助, 丸田 栄, 大島喜八, 森 昌朋, 福田 均, 小林 功: γ -oryzanol の TSH 分泌機構への影響, 医学のあゆみ, 108: 555—557, 1979.
- 18) Tannenbaum, G.S. and Martin, J.B.: Evidence for an endogenous ultradian rhythm governing growth hormone secretion in the rat, Endocrinology, 98: 562—570, 1976.
- 19) 土屋知太郎, 金子良平: 本邦産油脂類の吸収スペクトルについて (第 2 報), 工業化学雑誌, 56: 295—297, 1953.
- 20) Yamamoto, K.: Biological factors controlling the synthesis and release of adenohipophysial hormones, 329—360, Ed. by Yagi, K. and Yoshida, S.: Neuroendocrine control, University of Tokyo Press, Tokyo, 1973.
- 21) 山内治郎, 高原二郎, 畝木東陽子, 薬師寺涉, 中島雄作, 三好正規, 大藤 眞: ラット下垂体ホルモン分泌に及ぼす γ -oryzanol の影響, 日本内分泌会誌, 56: 1130—1139, 1980.

(受付日: 57. 4. 12)