グレリンの大腸運動促進作用

平山 晴子¹⁾, 樺木 勝巳¹⁾, 椎名 貴彦²⁾, 志水 泰武²⁾

要約: グレリンとは、主に胃から分泌される、28 個のアミノ酸からなるペプチドホルモンである。他のホルモンにはないグレリンの特徴として、3 番目のセリン残基に脂肪酸による修飾を受けていることが挙げられる。この脂肪酸修飾がグレリン受容体を介した作用発現には必須である。生体内にはグレリンの脂肪酸修飾を持たない型も存在し、デスアシルグレリンと呼ばれるが、脂肪酸修飾を欠くというその構造上、グレリン受容体に対しては不活性型である。しかし近年では、デスアシルグレリンのグレリン受容体以外の経路を介する作用についても多数の報告がなされている。グレリンの作用としては、成長ホルモン分泌促進や、食欲亢進、エネルギー消費の抑制をはじめとし、循環器系への作用、消化器系への作用と、その作用は非常に多岐に渡る。グレリンの消化管運動に対する作用としては、胃や小腸、大腸の運動性を亢進させることなどがこれまでに報告されている。また、消化器疾患におけるグレリンの関与についてもさまざまな知見が報告されており、今後の研究の展開が期待されている。我々はこれまでに、*in vivo* の実験系を用い、グレリンの脊髄腰仙髄部の排便中枢を介する大腸運動への作用について研究してきた。本稿ではこの結果について、実験系も含め紹介する。

1. グレリンとは

グレリンとは、28 個のアミノ酸からなるペプチドホルモンである。グレリンは、従来リガンドが不明なオーファン受容体であった成長ホルモン分泌促進因子受容体（現在はグレリン受容体と呼ばれる）の内因性のリガンドとして、1999 年に発見された(1)。グレリンの作用については、これまでに多種多様な作用が報告

されている。成長ホルモン分泌促進や、食欲亢進、エネルギー代謝の抑制をはじめとし、循環器系への作用、消化器系への作用と、その作用は非常に多岐に渡る(2,3)。グレリンの主要な産生臓器は胃とされているが、その他、中枢神経系をはじめとする全身の各臓器においてもその発現が確認されている(4)。グレリンの特徴として、3 番目のアミノ酸であるセリンが、脂肪酸による修飾を受けていることが挙げられる。これは他のホルモンにない特徴であり、この脂肪酸による修飾が、グレリン受容体を介した作用発現には必須であると考えられている(1,5)。一方で、生体内には脂肪酸修飾を持たない型も存在し、デスアシルグレリンと呼ばれている。脂肪酸修飾を持たないというその構造上、デスアシルグレリンはグレリン受容体に対しては不活性型である。しかし近年、デスアシルグレリンはグレリン受容体を介さない経路による作用を持つとの報告も多数されている(6-8)。デスアシルグレリンの詳細な作用経路や、グレリンとデスアシルグレリン両者の関係など、まだ明らかになっていない事象も多い。

2. 消化管運動および消化器疾患におけるグレリンの関与

グレリンは主に胃で分泌されるホルモンである。すなわち、消化管の内容物に対応した即時的なホルモンの分泌応答が可能であると考えられ、これは消化管でホルモンを分泌するメリットのひとつであろうと推察される。実際に、グレリンの消化管に対する作用に関しては、これまでに多くの報告がなされている。例えば消化管の運動性に対する作用として、グレリンはラットにおいて胃の運動性を促進させることが報告され

キーワード: グレリン, 大腸運動, 消化器疾患

¹⁾ 岡山大学 自然生命科学研究支援センター 動物資源部門 (〒700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1)

²⁾ 岐阜大学大学院 連合獣医学研究科 獣医生理学研究室 (〒500-1193 岐阜市柳戸 1-1)

E-mail: haruko@okayama-u.ac.jp 原稿受領日: 2014 年 3 月 6 日, 依頼原稿

Title: Effect of ghrelin on colonic motility

Author: Haruko Hirayama, Katsumi Mominoki, Takahiko Shiina, Yasutake Shimizu

ている(9). またグレリンは、小腸においても胃と同様、その運動性を促進させる作用を持つ(10). 大腸に関しては胃や小腸ほどの報告数はないものの、グレリンがその運動性を亢進させることが明らかにされている(11).

さらにグレリンは、消化管の運動性変化などの生理的な作用を及ぼすのみならず、消化器疾患の病態とも関係があると考えられている。例えば、器質的な異常なしに胃もたれなどの症状が引き起こされる機能性胃腸症においては、その罹患患者の血漿中のグレリン濃度が上昇していることが報告されている(12). この現象は実験的にも確認され、機能性胃腸症の病態のひとつを反映させた病態モデルとして胃の排泄障害を実験的に誘発したラットにおいて、グレリンの血漿中濃度が上昇したことが報告された(13). またグレリンの大腸炎に対する治療効果も報告されている。2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) を用いることによりマウスに大腸炎を誘発し、炎症性腸疾患の疾患モデルとすることができ、この疾患モデルにおいてグレリンを投与すると、大腸の炎症が抑制され、下痢や体重減少などの臨床症状が寛解されるといった治療効果を示した(14). TNBS 誘発性の大腸炎に対するグレリンの治療効果は、ラットを用いても確かめられている(15). これらの例をはじめとし、消化器疾患におけるグレリンの動態、また消化器疾患に対するグレリンの治療効果については、臨床研究および報告、また病態モデルを用いた研究などから次々と明らかになってきている。グレリンの大腸運動における作用に話を戻すと、グレリンが脊髄腰仙髄部の排便中枢を作用点とし大腸運動を亢進させるという報告(11) がこれまでになされている。この報告を先行研究として、我々は、グレリンの脊髄における作用の詳細を解明することを目的とし、研究を行った(16). 本稿ではその内容について、実験系を含め紹介したい。

3. 中枢神経系を含めた消化管運動の評価方法

消化管は体外へと摘出して、口側から肛門側へその内容物を送り出すような動きが観察される。摘出した臓器であっても、口から肛門へ、という方向性を持った動きが可能であり、それは消化管の壁内に存在する消化管内在神経系の寄与によるものである。消化管内在神経系には、感覚神経、介在神経、および運動神経が備わっており、それぞれ、消化管内の情報の受容、統合、そして応答へ、という役割を果たしている。このように、消化管内在神経系は脳での情報処理に相当する機能を有し、消化管内容物に対する一連の応答を

惹起するために必要な神経系が備わっているため、消化管の壁内のみで、その運動制御を可能とする。

消化管の運動はこのように、直接的には壁内の内在神経系により制御されている。よって、消化管内在神経系による運動性の直接的な制御については、摘出した消化管、すなわち摘出標本を用いた実験系により解析が可能である。しかし一方で中枢神経系も、消化管の外から強弱をつける形で、消化管の運動性制御に関与している。例えば、便意を感じ排便が惹起されることや、また、ストレスによって消化管の機能異常が起こりうることがよく知られている。中枢神経系による消化管運動の制御機構を解析するためには、中枢神経系も含めた実験系、すなわち *in vivo* の実験系が必要となる。

消化管運動測定実験系のセッティング概要を図1に示した。我々は、麻酔下の動物の大腸にカニューレを留置する処置を施すことにより運動性を測定するという手法を用いている。実験にはラットを用い、 α クロラロースおよびケタミンの投与により安定した麻酔下に置く。ラットを開腹し、運動性測定をする大腸の部位の、口側と肛門側の端にそれぞれカニューレを挿入する。挿入したカニューレは生理食塩水で満たしたチューブに接続し、口側のチューブにはマリ奥特ボトルをつなぐことにより大腸の内圧を一定に保つ。肛門側のチューブには圧トランスデューサーを接続し、大腸内圧の変化を経時的に測定する。同時に、肛門側のチューブの端では、大腸内腔から輸送された液体の量を測定する。これら、大腸内圧変動の経時的な推移と、大腸の運動に伴い内腔から送り出される液量を併せて解析することにより、大腸の運動性の評価を行う。この実験系を組むことにより、中枢神経系による大腸運

図1 ラットを用いた *in vivo* 消化管運動測定実験系の概略図
麻酔下ラットの大腸内腔圧の経時的な変化、および大腸運動に伴い内腔から送り出される液量を経時的に測定することにより、大腸運動の評価を行う。

動制御機構の解析が可能となる。

4. 脊髄におけるグレリンの作用について

先行研究においては、非ペプチド性のグレリン受容体アゴニストを主に用いた実験により、グレリンが脊髄腰仙髄部の排便中枢を作用点とし大腸運動を亢進させることを明らかにした(11)。この報告においては、末梢投与によっても中枢に容易に移行するという性質を持つグレリン受容体アゴニストを用いていた(11)。よって、末梢投与（静脈内投与）および中枢投与（脊髄腔内投与）の、いずれの方法によってもアゴニストは作用点に到達していたと推察される。実際に、いずれの方法によってもアゴニストは大腸の運動性を亢進させた。しかし、生体内で産生および分泌されている内在性のグレリンが、実際にどのように脊髄の排便中枢に作用して大腸運動促進作用を惹起するのか、詳細なメカニズムは不明である。我々は、ペプチド性グレリンを用いた実験を行うことにより、内在性のグレリンがどのように脊髄で作用するのかを検討しようと試みた。

まず、脊髄で作用するグレリンの由来について、すなわち、どこで産生・分泌されたグレリンが脊髄に作用しているのかを検討した。グレリンは主に胃で産生されるホルモンであるため、胃で産生されたグレリンが血流を介し脊髄に到達し、作用していると考えのが順当であろう。その仮定に基づき、ペプチド性グレリンの静脈内投与を行った。しかし、投与したグレリンの量は過去に報告されている摂食亢進作用を惹起するに十分な量であったにも関わらず(17, 18)、グレリンの静脈内投与によって大腸運動に変化は認められなかった。従って、胃から血中に放出されたグレリンは、作用点とされている脊髄に到達できないことが推察された。そこで、グレリンを直接脊髄に投与したところ、大腸の運動性が激しく亢進した。よってこれらの結果より、胃で産生されたグレリンが脊髄で作用しているのではなく、脊髄局所でグレリンが産生され作用している可能性が示唆された。実際に、RT-PCR法によりグレリンおよびグレリン受容体の脊髄排便中枢（脊髄腰仙髄部）におけるmRNAの発現を確認している。この結果は、*in situ hybridization*による脊髄におけるグレリン受容体分布の報告とも一致し(19)、グレリンが脊髄排便中枢において産生され作用している、いわば脊髄伝達物質様の働きをする可能性が示唆された。

次に、グレリンの作用経路について検討した。大腸の外來性神経による運動性制御には、部位によって異なる神経が寄与している。これまでに述べた実験結果

は、遠位結腸から直腸までの部位の運動性を測定することにより得られたものである。近位結腸は主に迷走神経の支配を受けており、遠位結腸より直腸までは主に骨盤神経の支配を受けていることを利用し、実験を行った。前述の *in vivo* の実験系では、カニューレの挿入部位を変えることにより、消化管の随意の部位の運動性を測定することが可能となる。近位結腸、および、遠位結腸から直腸、という2ヵ所の運動性を同時に測定し、グレリンが大腸の各部位に及ぼす作用を比較した。グレリンの脊髄腔内投与によって、遠位結腸から直腸までの部位に激しく蠕動運動の亢進が誘発される一方で、近位結腸においては運動性の変化は観察されなかった。グレリンの投与により、骨盤神経からの支配を受けている遠位結腸から直腸までの部位に運動性の亢進が惹起されたことから、グレリンの作用は骨盤神経を介して発現していることが示された。さらに、骨盤神経を切断した個体を用いてグレリン投与時の応答を観察したところ、大腸運動の亢進は誘発されず、グレリンは骨盤神経を介して遠位結腸から直腸までの運動性を亢進させていることが明らかとなった。

5. グレリンの脂肪酸修飾の及ぼす影響

グレリンが、グレリン受容体を介して作用を発現するためには、脂肪酸により修飾を受けていることが必要である。そこで、前項で述べたグレリンの脊髄を介する大腸運動亢進作用においても、デスアシルグレリンの投与時の大腸運動を観察することにより、脂肪酸修飾が必須か否かを検討した。脂肪酸修飾を持たないデスアシルグレリンはグレリン受容体を介しての作用は持たないが、グレリン受容体以外の経路を介する作用が報告されており(6-8)、デスアシルグレリン自身の作用メカニズムについては未だ不明な点も多い。本研究において、デスアシルグレリンを脊髄腰仙髄部に投与したところ、投与前後で大腸の運動性に変化は認められなかった。よって、脊髄腰仙髄部における大腸運動亢進作用においても、グレリンの脂肪酸修飾は必須であることが示された。

デスアシルグレリンは単独では大腸運動に変化を及ぼさなかったが、グレリンの大腸運動促進作用に対し何らかの影響を及ぼす可能性は依然残されている。グレリンとデスアシルグレリンの相互作用についてはこれまでに、グレリンの食欲亢進作用において、グレリンの作用をデスアシルグレリンが抑制したという報告がなされている(20, 21)。脊髄におけるグレリンの大腸運動促進作用に関しても、グレリンとデスアシルグレリンの相互作用について検討した。グレリンの脊髄

腰仙髄部への投与により大腸運動の亢進を惹起した状態で、デスアシルグレリンを同部位へ投与すると、亢進していた大腸運動が一過性に抑制される様子が観察された。デスアシルグレリンは、単独の脊髄への投与では大腸運動に変化を及ぼさないものの、グレリンによって亢進された大腸運動を抑制することが示された。

6. 大腸内圧上昇による蠕動亢進とグレリンの関係

これまでに述べてきた脊髄におけるグレリンの大腸運動亢進作用だが、実際にこの作用が、どのような生体機能と関与しているのかはとても興味深い点である。我々が用いている消化管運動測定実験系では、口側に接続したマリOTTボトルの高さを変えることにより、消化管内腔にかかる圧力を変化させることが可能である。つまり、大腸内腔に糞塊等の内容物が貯留し内圧が上昇している状態を、人為的に作出することができる。実際に、遠位結腸から直腸までの部位の運動性測定時に内腔圧を上昇させると、蠕動運動の亢進が惹起される。ここでは、大腸蠕動運動が亢進する生理的な状況の例として大腸内腔圧上昇による蠕動運動亢進を用い、脊髄におけるグレリンの作用との関係を検討した。もし、グレリンの作用を不活性化した状態で内腔圧上昇による大腸の蠕動運動亢進が起こらなければ、グレリンの作用によってこの蠕動運動亢進が惹起されていることとなる。脊髄におけるグレリンの作用の不活性化には、この部位へのグレリンの単回投与により受容体の脱感作が引き起こされることを利用した。すなわち、一度脊髄腰仙髄部へ十分量のグレリンを投与すると、その後グレリンには応答しなくなるのである。大腸内腔圧上昇による蠕動運動亢進は、グレリン受容体を脱感作させた後も誘発された。よって、大腸内腔圧上昇による蠕動運動亢進は、脊髄排便中枢におけるグレリンの作用が寄与しているものではないことが示された。

7. まとめと今後

グレリンは、脊髄腰仙髄部の排便中枢に作用し、骨盤神経を經由して、遠位結腸から直腸までの運動性を亢進させる。グレリンの脂肪酸修飾を持たない型であるデスアシルグレリンは、単独では大腸運動に変化を及ぼさなかったが、グレリンの作用に対しては抑制的な働きを持つことが示唆された(図2)。また、大腸内腔圧上昇による蠕動運動亢進には、この脊髄におけるグレリンの作用が必須ではないことが示された。

このようにグレリンは脊髄を介して大腸運動促進作

図2 グレリンの脊髄を介する大腸運動促進作用のまとめ
グレリンは脊髄腰仙髄部の排便中枢に作用し、骨盤神経を經由して、大腸の運動性を亢進させる。グレリンの作用に対し、デスアシルグレリンは抑制的作用を持つことが示唆された。

用を発揮することが明らかになったが、実際にこの作用が生体内でどのような役割を果たしているのかは非常に興味深い点である。我々は、大腸の運動が亢進するという生理学的状況とグレリンとの関係として、大腸の内腔圧上昇による刺激に対する応答との関係を検討したが、グレリンの関与は否定された。しかし、大腸の蠕動運動亢進を惹起する生理的な状況は、内腔圧上昇のみではない。実験系の検討・構築を含め、今後明らかにしていきたいと考えている。

また、大腸の運動性が亢進するという状況は、消化器疾患の病態としても引き起こされる。本稿で紹介した脊髄を介するグレリンの作用メカニズムの過剰な応答や不活性化により、下痢や便秘といった病態が誘発され、消化器疾患の病態制御がなされている可能性も考えられる。大腸運動に異常をきたす疾患の病態発現に、グレリンの脊髄排便中枢を介する大腸運動促進作用がはたして関係するのか、もし関係するのであればその詳細がどのようなものか、という点に関しては非常に興味深く、我々は現在その解明に取り組んでいる。我々は中枢神経系の関与する消化器疾患として、過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome: IBS)に着目している。IBSは下痢や便秘などの消化器症状を主徴とし、日本では5~10人にひとりが罹患しているとも言われている。頻回の下痢や腹痛などの症状により日常生活に支障をきたす場合も多く、罹患率の高さとも相俟って社会的な問題となっている。IBSは消化管における器質的異常が基本的には認められない機能性疾患であり、消化器運動異常と知覚異常を主な病態とする。IBSの誘因として、ストレスや、消化管の感染や炎症など、種々なものが挙げられるが、病態は複雑でありその成因は必ずしも明確にはならない。それを反映してか、IBSの治療は対症療法が主流であり、治療法が完全に確立されているとは言えないのが現状である。

グレリンと IBS の関係についての報告は多くはないが, これまでに, IBS 患者のうち下痢を主な病態とするいわゆる下痢型 IBS 罹患患者において, 胃粘膜におけるグレリン陽性細胞数が増加した(22) などの報告がなされている. IBS 発症の引き金のひとつとしてストレスが挙げられるが, ストレス負荷時にグレリンの血中濃度が上昇するという報告がある(23, 24). 脊髄排便中枢におけるグレリンの大腸運動促進作用がどのような状況下で活性化されるのかについては未だ不明であるが, ストレスとの関係についても興味深いところである. 今後の検討により, 中枢神経系を介した大腸運動制御機構におけるグレリンの詳細な役割を明らかにし, IBS を含む消化器疾患の病態解明に寄与できればと考えている.

著者の利益相反: 開示すべき利益相反はない.

文 献

- 1) Kojima M, et al. *Nature*. 1999;402:656-660.
- 2) Kojima M, et al. *Physiol Rev*. 2005;85:495-522.
- 3) Soares JB, et al. *Peptides*. 2008;29:1255-1270.
- 4) Ueno H, et al. *Regul Pept*. 2005;126:11-19.
- 5) Bednarek MA, et al. *J Med Chem*. 2000;43:4370-4376.
- 6) Baldanzi G, et al. *J Cell Biol*. 2002;159:1029-1037.
- 7) Gauna C, et al. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;251:103-111.
- 8) Toshinai K, et al. *Endocrinology*. 2006;147:2306-2314.
- 9) Masuda Y, et al. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;276:905-908.
- 10) Fujino K, et al. *J Physiol*. 2003;550:227-240.
- 11) Shimizu Y, et al. *J Physiol*. 2006;576:329-338.
- 12) Nishizawa T, et al. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24:104-110.
- 13) Iwasaki E, et al. *Dig Dis Sci*. 2012;57:858-864.
- 14) Gonzalez-Rey E, et al. *Gastroenterology*. 2006;130:1707-1720.
- 15) Konturek PC, et al. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60:41-47.
- 16) Hirayama H, et al. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22:1124-1131.
- 17) Date Y, et al. *Endocrinology*. 2005;146:3518-3525.
- 18) Kobelt P, et al. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288:R751-R758.
- 19) Ferens DM, et al. *Neuroscience*. 2010;166:671-679.
- 20) Inhoff T, et al. *Peptides*. 2008;29:2159-2168.
- 21) Matsuda K, et al. *Peptides*. 2006;27:2321-2325.
- 22) El-Salhy M, et al. *Int J Mol Med*. 2009;23:703-707.
- 23) Kristensson E, et al. *Regul Pept*. 2006;134:114-117.
- 24) Ochi M, et al. *Life Sci*. 2008;82:862-868.