

氏 名（本籍）	うつ 内	み 海	あつし 厚
学 位 の 種 類	博	士	（ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第	1 1 4 5	号
学位授与年月日	平 成	5 年	3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当		
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学研究科 （博士課程）内科学系専攻		
学 位 論 文 題 目	The interaction between GHRH and the other hypothalamic releasing hormones on GH secretion in patients with acromegaly. （末端肥大症のGH分泌動態におけるGHRHと他の視床下部ホルモンの相互作用について）		
	（主 査）		
論 文 審 査 委 員	教授 阿 部 圭 志	教授 豊 田 隆 謙	
	教授 西 山 明 徳		

論文内容要旨

末端肥大症では、TRH、LHRH および CRH に対し、GH の奇異の分泌反応が見られることが知られているが、その機序の詳細は不明である。一方、ラット等の下垂体培養系において、AC 系と PLC 系の同時賦活が GH の分泌増強をもたらすこともよく知られるようになった (“Cross Talk”)。著者は、末端肥大症患者に、GHRH と他の視床下部ホルモンの同時投与を行なって GH 分泌増強の有無を検討した。さらに、腫瘍組織やラット下垂体前葉細胞の初代単層培養系を用い、Cross Talk に関連した若干の検討を行なった。

【対象と方法】

1. in vivo studies

20例の活動性末端肥大症患者（男性13例，女性7例，31～71歳）を対象とし，一晚の絶食後安静臥床とし，TRH500 μg ，LHRH100 μg ，CRH100 μg ，GHRH100 μg を各々単独で，または GHRH と他の薬剤との併用で静注し，-30分から120分間に15～30分間隔で計8回採血し，ホルモン測定に供した。

2. in vitro studies

TRH・GHRH 反応例の1例から手術にて摘出された腫瘍組織，および，生理的に TRH に対し GH の反応を示すラットの下垂体前葉組織を，細切した後酵素処理して単離し，抗生剤・FCS 含有 MEM に浮遊し，37°C，5% CO₂-95% O₂ 下で3日間初代単層培養した後，下記の各種薬剤を含む MEM に交換した。

i) 腫瘍組織：TRH の GHRH 刺激性および forskolin 刺激性 GH 分泌に与える影響。①対照，②10⁻⁷M TRH，③10⁻⁷M GHRH，④10⁻⁵M forskolin，⑤TRH+GHRH，⑥TRH+forskolin。(24h)

ii) ラット下垂体細胞：(a)TRH+GHRH の併用投与が単独投与への反応を上回る条件の検討。①対照，②GHRH10⁻⁹～10⁻⁷M，③TRH10⁻⁸～10⁻⁷M，④TRH10⁻⁸M+GHRH10⁻⁹～10⁻⁷M，⑤GHRH10⁻⁸M+TRH10⁻⁸～10⁻⁷M。(2h) (b)0.5×10⁶MTPA24h前処置の TRH+forskolin に対する GH 分泌反応に与える影響。①対照，②10⁻⁷MTPA，③10⁻⁷M TRH，④10⁻⁵M forskolin，⑤TRH+forskolin：TPA 前処置群/無処置群 (2h)

3. アッセイおよび統計処理

ヒト GH 測定は in vivo は RIA (ダイナボット，in vitro は IRMA (第1))にて，またラット GH は NIH より提供された RIA キットにて測定した。データは Mean±SEM で表示し，統計処

理には無作為化検定法を用いた。

【結 果】

生理変動幅（基礎値の+30%）を越える+50%をもって反応側として場合，GHRH 反応例95%（19例/20例），TRH 反応例85%（17/20），CRH 反応例58%（10/17）であった。17例のTRH・GHRH反応例において，TRHとGHRHの同時投与に対するGH反応は，反応量をAUC from basalで評価した場合，各々の単独投与に対する反応およびその算術和を，それぞれ $p<0.01$ ， $p<0.05$ で有意に上回った。このような増強効果は2例のTRH無反応例では見られなかったが，術後GH基礎値，IGF-I値が低下ないし正常化したTRH・GHRH反応例では術後も残存していた。併用投与への反応が単独投与への反応を有意に上回るというGH分泌反応増強現象は，各々6例のLHRH・GHRH反応例，CRH・GHRH反応例でも認められた（全て $p<0.05$ ）。

2. in vitro studies

i) ヒト腫瘍組織において，TRHはGHRHのみならず，AC系を直接刺激するforskolinのGH分泌能をも増強した。

ii) ラット下垂体前葉細胞において，GHRH 10^{-8} M+TRH 10^{-8} ~ 10^{-7} M含有MEMと2hインキュベーションした場合に，各々単独への反応を有意に上回った（ $p<0.05$ ）。また，TRH+forskolinによるGH分泌増強はTPA前処置により明らかに抑制されたが，forskolin，TRHへの反応も有意に抑制され（ $p<0.05$ ），TPAへの反応は変化がなかった。

【考 察】

末端肥大症において，奇異的GH刺激因子TRH，LHRH，CRHとGHRHの同時投与はいずれも有意にGH分泌を増強することが明らかになった。GHRHはAC系を介して作用すると考えられ，他の視床下部ホルモンはこれとは異なったPLC系等の他の系を介して腫瘍組織に作用している可能性が示された。（ラット下垂体細胞でのTPA前処置の効果はPKC生成低下を介したのではなくGHプールの枯渇によると考えられた）。かかる相互作用の存在は末端肥大症の病態を把える上できわめて興味深いものと思われた。

審査結果の要旨

末端肥大症では、視床下部ホルモンに対して GH の奇異的分泌反応が見られることが知られているが、これらの視床下部ホルモンと GHRH との GH 分泌に対する相互作用に関しては殆ど検討がなされていない。

本研究は活動性末端肥大症患者に GHRH と他の視床下部ホルモン (TRH, LHRH, CRH) を同時に静脈内投与して GH 分泌の増強の有無を検討すると同時に、末端肥大症患者の腫瘍組織やラット下垂体の前葉細胞の初代単層培養系を用いて、GH 分泌に関する視床下部ホルモンの相互作用を検討すると同時に、さらに forskolin や TPA を用いて、視床下部ホルモンの相互作用機序に関するアデニレートシクラーゼやホスホリパーゼ C の関与も検討したものである。

この研究から、活動性末端肥大症では GHRH 反応例が95%、TRH 反応例が85%、CRH 反応例が59%、LHRH 反応例が50%の症例に見られることや、TRH・GHRH 反応例においては TRH と GHRH の同時投与に対する GH 反応量は各々単独投与に対する反応およびその総和を有意に上回ることが明らかにされた。他方、このような GH 分泌反応増強現象は TRH 無反応例では見られなかった。同様に、LHRH と GHRH、CRH と GHRH の同時投与による GH 反応の増強が、LHRH・GHRH 反応例や CRH・GHRH 反応例では認められることが明らかにされた。

末端肥大症腫瘍組織を用いた研究では、TRH は GHRH による GH 分泌を増強するだけでなく、forskolin による GH 分泌を増加することも明らかにされた。また、ラット下垂体前葉細胞を用いた研究では、TRH や forskolin による GH 分泌増強は TPA 前処置により有意に抑制されることが明らかにされた。

以上、本研究では①末端肥大症の *in vivo* の検討で TRH、CRH、LHRH と GHRH の同時投与で GH 分泌増強が見られる事を確認し、初めて明らかにした ② *in vitro* の検討で上記 TRH と GHRH による相加的現象が TRH によるアデニレートシクラーゼ系とは異なった機序を介する系の賦活によりもたらされることを明らかにした。③モデル動物としてラットを用いた実験で TPA による前処置は、従来言われていたようなプロテインキナーゼ C のダウンレギュレーションではなく、ホルモンプールの枯渇により上記の GH 分泌増強効果を抑制した知見を初めて得た。

以上から本研究は、学位の授与に値するものと思われる。