

グレリン：イヌにおける基礎と臨床

酪農学園大学 獣医学群 獣医保健看護学類

北澤 多喜雄

グレリンとは

下垂体からの成長ホルモン（GH）分泌が growth hormone releasing hormone（GHRH）により調節されていることは古くから知られていましたが、オピオイド系低分子ペプチドが異なる受容体に作用し GH 放出を誘起することがわかり、GH 放出促進因子（growth hormone secretagogue, GHS）と命名されました。GHS が作用する受容体は GHS-R とよばれ 1996 年にクローニングされましたが、内在性のリガンドが不明な orphan 受容体でした。グレリンは GHS-R の内因性リガンドとして 1999 年にラットの胃から発見された 28 個のアミノ酸からなるペプチドです。このペプチドの特徴として 3 位セリンのオクタン酸修飾があります（表 1、Kojima et al., 1999; Kojima and Kangawa, 2005）。生体ではグレリンの他に 3 位セリンが脂肪酸修飾を受けていないデスアシルグレリンも存在しています。当初、デスアシルグレリンは、グレリンから脂肪酸が取れた分解産物と考えられていましたが、近年、脂肪酸転移酵素が発見され、この酵素の発現がグレリンを生成・分泌する胃で高いことから、デスアシルグレリンはグレリンの前駆体と考えられるようになりました。血液中では、デスアシルグレリンの方がグレリンよりも 5~10 倍多く存在しています。現在、グレリンは魚類から哺乳動物まで広く脊椎動物に存在し（いずれの種でも胃粘膜に存在）、哺乳動物では N 末端の 1 位から 10 位までの構造（GSS (*n*-octanoyl) FLSPEHQ）は同一であり、進化の過程でも保存されてきたペプチドと考えられています（表 1）。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	相違
Human	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	R	V	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R	
Mouse	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	K	A	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R	2
Rat	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	K	A	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R	2
Dog	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	K	L	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R	2
Cat	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	K	V	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	P	A	K	L	Q	P	R	1
Pig	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	K	V	Q	Q	R	K	E	S	K	K	P	A	A	K	L	K	P	R	3
Sheep	G	S	S	F	L	S	P	E	H	Q	K	L	Q	-	R	K	E	P	K	K	P	S	G	R	L	K	P	R	7

表 1 各種哺乳動物で同定されているグレリンのアミノ酸構造
3 位のセリン(s、赤字)がオクタン酸(C8)による脂肪酸修飾を受けている。1-10 位までアミノ酸配列（四角で囲んである）は上記の動物では保存されている。ヒトグレリンとの構造の違いを青字で示し、その個数を末尾に示した（相違）。

グレリンの生理機能と創薬

グレリンは、GHS-R に結合し GH 分泌を促進する物質として発見されたため GH 放出作用が注目されていましたが、その後の研究により他の下垂体ホルモン（ACTH, プロラクチン）の分泌刺激作用、食欲刺激作用（摂

食量増加作用、現在末梢適用で食欲を刺激する唯一の活性物質)、心血管保護作用、生殖機能調節作用、外分泌・内分泌刺激作用、糖代謝調節作用、エネルギー代謝調節作用、消化管運動促進作用が報告され、多機能な消化管ペプチドであることが明らかになっています (図1)。グレリンの作用の多様性は、作用点となる GHS-R が種々の組織に発現していることに起因します。比較生物学的検討から糖代謝調節作用が全ての脊椎動物で共通に認められる作用として注目されています (Kaiya et al., 2013)。

グレリンの多彩な生理作用を基にし、グレリン関連物質で創薬ができないかという試みがあります。たとえば、GH 分泌促進作用は小人症や老化予防、摂食促進作用は拒食症や肥満、糖代謝調節作用は糖尿病、心血管系への作用は心筋梗塞や心不全、エネルギー代謝調節作用は消耗性疾患における低栄養状態 (カヘキシア)、消化管運動亢進作用は術後運動不全や糖尿病性胃麻痺の治療に有効ではないかと考えられています。グレリンはペプチドであるため生体への投与や血液中での安定性が創薬上の問題点となりますが、このような欠点を克服し、現在、非ペプチド性のグレリン受容体作動薬 (経口適用も可能、anamorelin, capromorelin, macimorelin など) が開発され、上記の適応を目指した臨床試験が進んでいます。

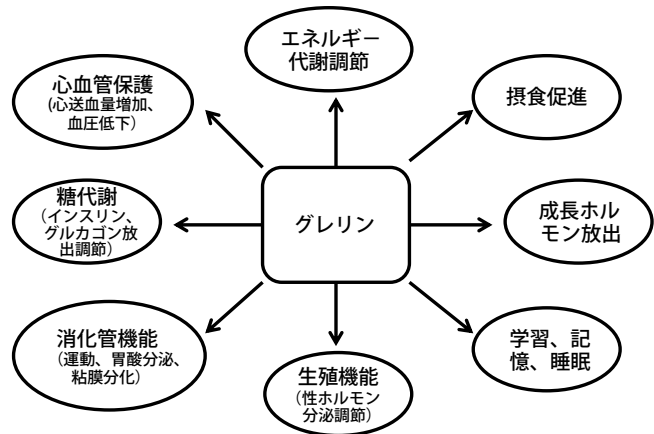


図1 グレリンは種々の生理作用を有する多機能ペプチドである。

イヌにおけるグレリン研究

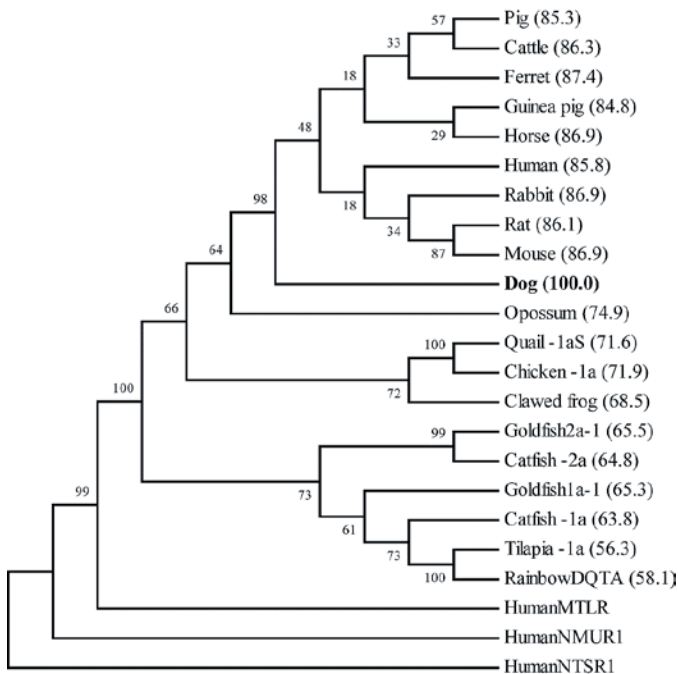


図2 イヌGHS-R1aの系統樹解析
イヌGHS-R1aの系統発生的な位置を解析するためにMEGA4のNJ法 (<http://www.megasoftware.net/>) を用いてGHS-R1aの系統樹を作成した。ヒトmotilin receptor (MTLR), neuromedinU receptor-1 (NMUR1), neurotensin receptor-1 (NTSR1) も近縁ペプチドの受容体として示した。分岐の数値はbootstrap値を、動物の横にある括弧内の数字はイヌGHS-R1aのアミノ酸配列を100とした時の相同性を示す (北澤ら, 2012)。

イヌにおけるグレリン関連の研究はそれほど多くはありません。PubMedでイヌ (canine or dog)、グレリンで検索した場合ヒットするのは69件で、イヌの代わりにラット (1837件)、ヒト (4716件) で検索した結果に比べて極端に少ないのが実情です (2015年2月末日現在)。イヌのグレリン構造はすでに明らかになっておりヒト型とは11位、12位のアミノ酸が異なっています (表1)。また作用点であるイヌGHS-R1aは系統樹解析で単独のクレードに分類されますが、他の哺乳動物との相同性は85%以上と高い値になっています (図2)。GHS-R1a mRNAはこれまでの種々の哺乳動物の報告に一致し下垂体や視床下部で発現が高いことが明らかになっています (北澤ら, 2012)。このことは、グレリンがイヌにおいてGH放出促進作用、摂食量増加作用を誘起することを支持する結果です。イヌでは、嗅球、小脳での発現が比較的高く、運動・平衡感覚や嗅覚などにグレリンが関与している可能性も示唆されます。同一のイヌ血漿サンプルでグレリンとデスアシルグレリンの濃度を測定した結

果から両者の比は1：6であることがわかっています。両者の比は、ラットやマウスでは1：10、ヒトでは1：6と報告されており、イヌにおける値はヒトと近似していました。また、経時的に血液中のグレリン濃度を測定すると空腹時にグレリン濃度が増加しましたが、食餌の摂取により濃度が低下することがわかりました。この低下に合わせてインスリン濃度や血糖も変化することから、イヌでも食欲や血糖の調節にグレリンが関与している可能性があります (Yokoyama et al., 2005; 北澤ら, 2012)。

興味深いことにグレリンがイヌ消化管運動に与える影響は他の哺乳動物とは全く異なっています。グレリンとGHS-R1aの構造が胃腸管でinterdigestive migrating contraction (IMC)を起こすモチリン、モチリン受容体と類似していたことから、グレリンの消化管運動亢進作用は発見当初から注目されていました。ラット、マウスやヒトにおいてグレリンにより消化管運動が亢進することがわかっています。また最近ではunksでグレリンとモチリンの消化管に対する作用に相乗効果が認められることが明らかになっています。しかし、イヌにおいては空腹期運動のPhase1 (運動静止期)に一致して血中グレリンの周期的な増加がおきること、Phase3 (収縮期)の発現時にはモチリンが増加するのにに対してグレリン濃度は低値を示すことがわかっています。また、IMCはグレリン適用により発現が抑制されました (図3)。これらのことから、グレリンはイヌの空腹期にモチリンとは異なる血中濃度変化をして消化管運動抑制に関与することがわかってきました (Ogawa et al., 2012)。グレリンはモチリン分泌に影響を与え消化管運動を抑制すると考えられていますが、グレリン分泌がどのように調節されているかなど不明な点が多く継続して研究が行われています。

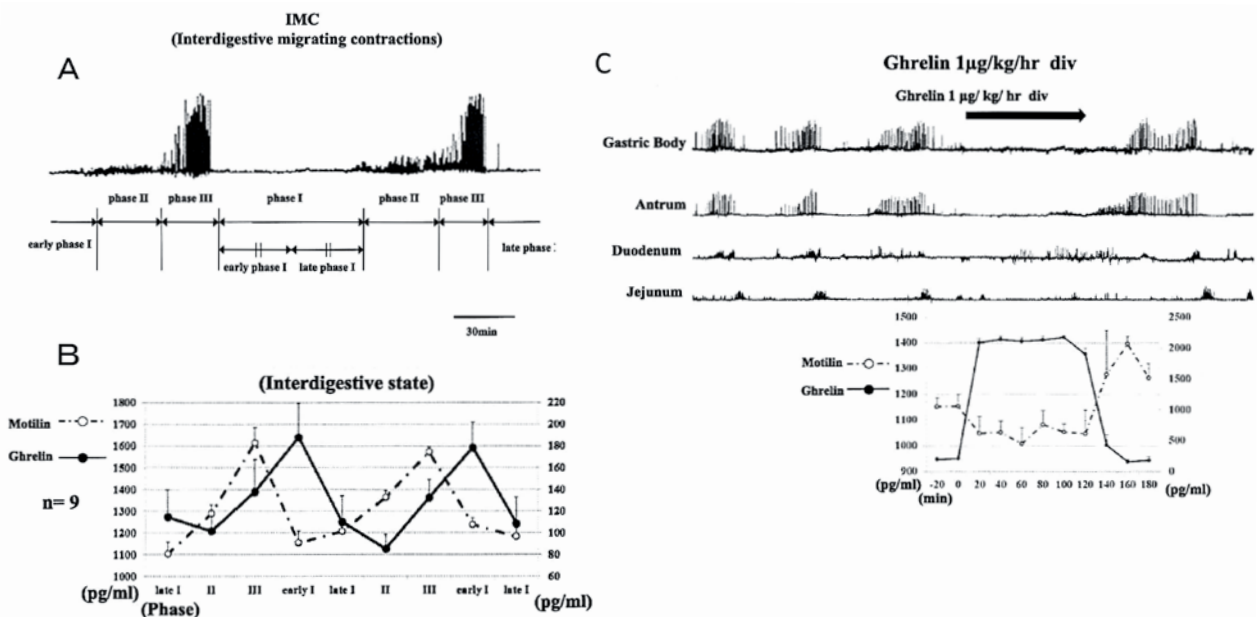


図3 イヌ空腹期におけるグレリン、モチリン動態と消化管運動におよぼすグレリン処置の影響
 A：空腹期にイヌ胃では空腹期収縮 (IMC) が認められる。IMCは4つ時期 (early phase 1, late phase 1, phase 2, phase 3) に分けられる。B：それぞれの時期でグレリンとモチリン濃度を測定し動態を比較した。モチリンはphase3 (運動期)で最大値を示した。一方、グレリンはphase1 (静止期)に最大値を示した。C：グレリンのinfusionはIMCの発現を抑制しphase 1を延長した。この時、モチリン濃度の増加が抑制された。(Ogawa et al., 2012より改変)

病態とグレリン

これまでのヒトを中心とした研究では、グレリンが神経性食欲不振症、肥満・糖尿病、消化管運動不全、過敏性腸症候群や消化器系の癌と関連することが明らかになっています (Pusztai et al., 2008; Jeffery et al., 2011)。ただ癌との関連性については、癌により濃度が増加する場合、低下する場合が知られており一致した見解は得られていません。癌による悪液質では血液中グレリン濃度が低下し、これが食事量の低下、QOLの低下につな

がっています。最近、ある種の漢方薬が内因性グレリンを放出して食欲不振を改善し癌患者のQOLの改善に役立つという報告があり注目されています (Ohnishi and Takeda, 2015)。グレリンと肥満の関連では、肥満症では血液中のグレリン濃度が増加しこれにより食事量が増加し肥満を増悪すること、肥満患者に行われる胃部分切除は胃のグレリン産生細胞の一部を取り除くことにより血中グレリン濃度が低下し食事量が減り減量効果を発揮することがわかっています。

一方、イヌにおいても肥満イヌで血中グレリン濃度が上昇する (Yokoyama et al., 2005)、起炎刺激によりグレリン濃度が増加する (Yilmaz et al., 2008) という報告があります。それゆえ、内分泌疾患や炎症でグレリン動態が変化する可能性があります。筆者は、酪農学園大学の附属動物病院に来院した疾病イヌの血中のグレリン、デスアシルグレリン濃度を網羅的に測定し、疾患によりグレリン濃度が増加するかを検討しました (北澤ら、2012)。その結果、検討した疾患 (多中心型リンパ腫、消化器型リンパ腫、炎症性腸疾患、リンパ管拡張症、甲状腺機能低下症、クッシング病、アジソン病) の内、消化器型リンパ腫、クッシング病でグレリン濃度が減少する傾向が見られました。また、興味深いことに、疾患イヌにおいて、殆どのケースでデスアシルグレリンとグレリンの比率 (正常では5-6) が上昇し、8-12になっていました。比率が上昇する原因としては、グレリン濃度の低下またはデスアシルグレリン濃度の上昇が考えられます。グレリンの合成に必要なオクタン酸の多くは食餌から供給されます。従って、病気により長期間な栄養状態の悪化により脂肪酸が低下し、デスアシルグレリンからグレリンへの合成が抑制され、比率の変化が起きた可能性が考えられます。この場合、グレリン濃度の変化は病気により引き起こされた二次的な変化となりますが、この比率は栄養状態の評価に用いることができるかもしれません。今回の解析では、イヌにおいてもある種の疾患で血中のグレリン濃度が増加する可能性が示唆されました。しかしながら、この変化が病気に直接起因する変化なのか、間接的な変化なのかも含め、イヌの病態とグレリンとの関係を明らかにするためには、種々の病気でグレリン濃度を測定していくことが必要です。

終わりに

近年注目されている生理活性ペプチドであるグレリンの基礎と臨床応用について概略を説明してきました。この物質が、イヌやネコでも代謝性疾患や癌など何らかの関連性がある可能性は高いと考えられます。多くの研究者 (獣医師) がこのペプチドに興味を持ち、基礎研究、応用研究が進むことを期待します。

参考文献

1. Jeffery P et al., 2011. Mol. Cell. Endocrinol. 340 : 35-43.
2. Kaiya H et al., 2013. Gen Comp Endocrinol. 181 : 187-191.
3. 北澤多喜雄ら、2012. J Rakuno Gakuen Univ. 36 : 295-310.
4. Kojima M et al., 1999. Nature 402 : 656-660.
5. Kojima M, Kangawa K. 2005. Physiol Rev. 85 : 495-522.
6. Ogawa A et al., 2012., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.302 : R233-241.
7. Ohnishi S, Takeda H. 2015. Front Pharmacol. 6:14.
8. Puzstai P et al., 2008. Diabetes Metab Res Rev. 24 : 343-352.
9. Yilmaz Z et al., 2008. Crit Care Med. 36 : 828-833.
10. Yokoyama M et al., 2005. Eur J Endocrinol. 152 : 155-160.