京都大学	博士（　医　　学）	氏　名	山田　豪
論文題目	Generation of Transgenic Mice Overexpressing a Ghrelin Analog （グレリンアナログ過剰産生トランスジェニックマウスの開発）		

（論文内容の要旨）

グレリンは 28 個のアミノ酸からなり、3 位のセリン残基がオクタン酸修飾される特徴的な構造を有するアシル化ペプチドであり、成長ホルモン(GH)分泌促進物質受容体（GHS-R）の内因性リガンドとして同定された。グレリンは静脈内投与により GH 分泌促進作用以外にも、摂食促進作用などを発揮することが知られている。一方、グレリンの生理作用や中長期的な薬理作用に関しては未だ不明な点が多く、それらを解明する為にグレリン過剰産生トランスジェニック（Tg）マウスの開発が試みられてきたが、単にグレリン mRNA を過剰発現させた遺伝子改変マウスでは、GHS-R への結合能を持たない脱アシル化グレリンが検出されるのみでグレリン作用の解明には無効であった。

本研究では、3 位のセリン残基をトリプトファンに置換することにより、アシル化修飾を必要とせずに GHS-R 活性化能を有するグレリンアナログ（Trp-グレリン）を過剰産生する Tg マウスを作製し、その解析を通じてグレリンの生理作用やグレリンアナログの長期的な薬理作用を検討した。ヒトの Serum-Amyloid-P プロモーターを用いて Trp-グレリン過剰発現 Tg マウスを開発したところ、その血中 Trp-グレリン濃度は 3437.8±571.6fmol/ml で、野生型マウス（WT）の血中グレリン濃度 40.5±10.2fmol/ml の約 85 倍であった。同時に並行して検討したマウスにおける Trp-グレリンの GH 分泌促進作用、摂食促進作用は、各々グレリンの 1/10、1/20 であった。生後 10 週齢までの解析では、Trp-グレリン Tg マウスは WT と比較して、１日摂餌量（Tg vs. WT：3.0±0.1 vs. 3.1±0.1g/日）、体重（Tg vs. WT：26.9±0.4 vs. 27.3±0.3g）、吻臀長（Tg vs. WT：9.8±0.1 vs. 9.9±0.1cm)などに有意差を示さず、また血清 GH・IGF-I 濃度、随時血糖、血清インスリン濃度等の内分泌学的検査所見においても有意差を示さなかった。その後１年間に渡って上記のパラメータを追跡したところ、1 年齢前後の Trp-グレリン Tg マウスの空腹時血糖は、WT に比較し高い傾向を示し（Tg vs. WT：87.7±6.1 vs. 73.1±6.2mg/dl, p=0.11）、腹腔内グルコース負荷試験（0.75g/kg)における血糖値の頂値は、Trp-グレリン Tg マウスにおいて有意な上昇を認めた（Tg vs. WT：266.9±16.7 vs. 221.1±15.4mg/dl)。また糖負荷に対するインスリン初期分泌は、Trp-グレリン Tg マウスにおいて抑制される傾向を示した（Tg vs. WT：2.62±0.43 vs. 3.86±0.66ng/ml, p=0.11)。更にインスリン負荷試験（レギュラーインスリン 1.5U/kg)における Trp-グレリン Tg マウスの血糖値は、前値の 93%までしか低下せず、71%までの低下を示した WT と比較し、インスリン感受性の有意な低下が観察された。しかし同時期の体重（Tg vs. WT：50.9±1.0 vs. 49.5±1.1g）、体脂肪率（Tg vs. WT：55.6±1.4 vs. 52.4±1.7%）、血清 GH 濃度（Tg vs. WT：11.2±1.7 vs 12.7±2.0ng/ml）などには、有意差を認めなかった。

以上、グレリンの生理作用と中長期的薬理作用を解明する目的で、アシル化修飾を必要としないグレリンアナログである Trp-グレリン過剰発現 Tg マウスを開発し、それらが加齢に伴い軽度ではあるが有意な耐糖能低下を呈することを明らかにした。この Trp-グレリン Tg マウスは、長期に渡るグレリンの作用を検討するのに適したモデルであり、更なる解析を進めている。

（論文審査の結果の要旨）

グレリンの発見以来、その生理作用や長期的な薬理作用を検討する目的で種々のグレリントランスジェニックマウス（Tg マウス）の開発が試みられてきたが、3 位のセリン残基がアシル化修飾されている構造上の特徴により、その開発は困難であった。

申請者は、グレリンの 3 位のセリン残基をトリプトファンに置換し、アシル化修飾無しでアゴニスト作用を有するグレリンアナログ（Trp-グレリン）を肝臓で過剰産生する Tg マウスを作製し、解析を行った。

Serum-Amyroid-P プロモーターを用いて作製された Trp-グレリン Tg マウスの血中 Trp-グレリン濃度は、野生型マウスの血中グレリン濃度の約 85 倍であった。また、並行して検討したマウスにおける Trp-グレリンの GH 分泌促進作用、摂食促進作用は、グレリンの各々1/10、1/20 であり、Trp-グレリン Tg マウスはグレリン作用の増加状態であることが確認された。

10 週令までの解析では Trp-グレリン Tg マウスは摂餌量、体重、吻臀長、血清 GH・IGF-I 濃度、血糖値、インスリン濃度、糖負荷試験及びインスリン負荷試験等において有意差を示さなかった。

52 週令前後の Trp-グレリン Tg マウスは、体重、体脂肪率、血清 GH・IGF-I 濃度等には有意差を示さなかったが、耐糖能やインスリン感受性が有意に低下した。このように、グレリンは成熟後の耐糖能低下やインスリン感受性を修飾する可能性が示唆された

以上の研究は、エネルギー調節や糖代謝におけるグレリンの生理作用の解明に貢献し、グレリンの臨床的意義の理解に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２２年１２月２４日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降