

Gamma-aminobutyric acid (GABA) 及び その代謝産物の下垂体前葉ホルモン 分泌調節における役割に関する研究

第 一 報

GABA 及び Gamma-hydroxybutyric acid (GHB) の ラット視床下部ホルモン及び下垂体前葉ホルモン分泌に及ぼす影響

岡山大学医学部第三内科（主任：太田善介教授）

柚 木 昌

（昭和57年5月18日受稿）

Key words: GABA, GHB, ラット, ソマトスタチン,
GH, PRL, LH

緒 言

最近の神経生化学的進歩により、脳内アミン、アミノ酸をはじめ、脳内に存在することが明らかになっている種々のポリペプチドが、神経伝達物質、又は神経修飾物質として作用していることが明らかにされてきている。特に内分泌においては、これら種々の物質が中枢神経系において、下垂体ホルモン分泌調節を司る視床下部ホルモンの分泌に影響を及ぼしていることが推定されている。しかし現在なおその詳細な機構については明らかになっていない。今回、私は gamma-aminobutyric acid (GABA)¹⁾ 及びその関連物質の視床下部ホルモン及び下垂体ホルモン分泌に及ぼす役割について実験的研究を行った。

対 象 と 方 法

Sprague-Dawley 雄ラット（日本クレア）体重180—220g を下記の実験に使用した。また飼料はラット標準飼料（オリエンタル酵母工業）を用い、自由に摂取せしめた。

実験Ⅰ：ラットにウレタン（150mg/kg体重）を腹腔内投与することにより麻酔し、ウレタン

投与30分後に生理食塩水に溶解したGABA（第一化学製）50 μ g/10 μ l または500 μ g/10 μ l をラット右側脳室に、定位脳装置を用いて注入した。GABA 投与15分後に断頭屠殺し、血液は軀幹断端より採取した。血液は遠心沈澱後、血清を分離し、下垂体ホルモンの測定まで -20°C に凍結保存した。また、断頭後直ちに開頭、脳を取り出し、視床下部の組織を摘出、アセトン・ドライアイスで凍結した。凍結した組織は、酸・エタノール（0.1N 酢酸：エタノール＝1：20）中でガラスホモゲナイザーにてホモゲナイズし、遠沈後上清を N_2 ガス下で乾燥させ視床下部ホルモンの測定まで -20°C に保存した。

実験Ⅱ：ペントバルビタール（35mg/kg体重）を腹腔内投与後、実験Ⅰと同様にGABA を投与し、15分後に断頭屠殺し、実験Ⅰと同様、血液及び視床下部組織を採取し、処理を行った。

実験Ⅲ：ウレタン麻酔を行った後ラットの腹腔内に amino-oxy acetic acid (AOAA) (Eastman-Kodak Co.) 5mg/0.5ml または 20mg/0.5ml を投与し60分後に断頭屠殺し、実験Ⅰと同様に血液及び視床下部組織の処理を行った。

実験Ⅳ：ウレタン麻酔下ラットを用いて、ウ

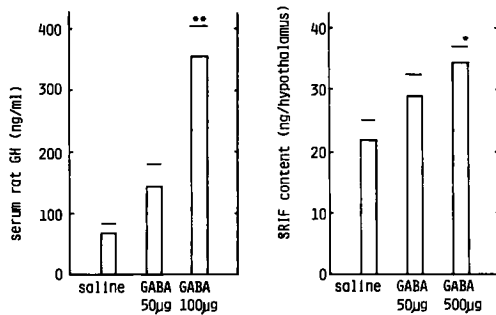


Fig. 1 Effects of intraventricular GABA injection on serum GH and hypothalamic SRIF in pentobarbital anesthetized rats. Columns and bars represent mean $\pm$ SEM. *, $p < 0.05$ vs. saline, **, $p < 0.01$ vs. saline

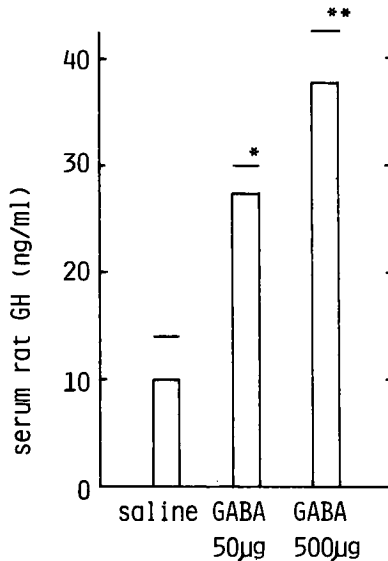


Fig. 2 Effect of intraventricular GABA injection on serum GH in urethane anesthetized rats. *, $p < 0.05$ vs. saline, **, $p < 0.01$ vs. saline

レタン投与後30分目に生理食塩水又は L-Dopa (20mg/0.5ml) を腹腔内に投与し、更に30分後に gamma-hydroxybutyric acid (GHB) 125 mg/0.5ml を腹腔内に投与し、15分後に断頭屠殺し、実験 I と同様に処理を行った。

実験 V：ペントバルビタール麻酔下ラットを用いて実験 IV と同様の実験を行った。

なお血清中の成長ホルモン (GH)、黄体ホルモ

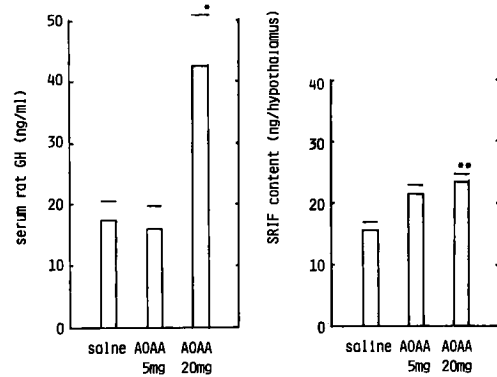


Fig. 3 Effects of AOAA on serum GH and hypothalamic SRIF in urethane anesthetized rats. *, $p < 0.05$ vs. saline, **, $p < 0.01$ vs. saline

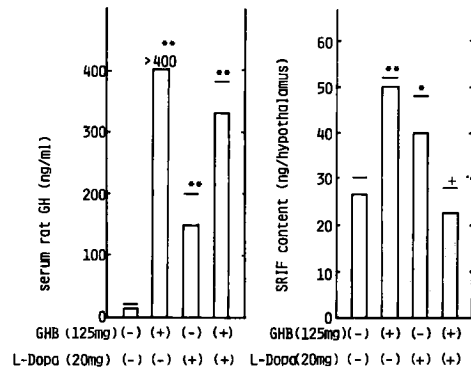


Fig. 4 Effects of GHB on serum GH and hypothalamic SRIF and effects of L-Dopa on the GHB-induced increase in serum GH and hypothalamic SRIF in urethane anesthetized rat.

*, $p < 0.05$ vs. control, **, $p < 0.01$ vs. control, +, $p < 0.05$ vs. GHB alone

ン (LH) 及びプロラクチン (PRL) は、NIA-MDD より提供されたそれぞれの radioimmunoassay kit により測定した。また、視床下部中の成長ホルモン放出抑制因子 (somatotropin release inhibiting factor (SRIF)) は、有村章教授より提供を受けた抗体を用い、有村教授の方法により測定した²⁾。

結 果

I. 成長ホルモン (GH) 及び視床下部中 SRIF 濃度 (図 1, 2, 3, 4, 5)

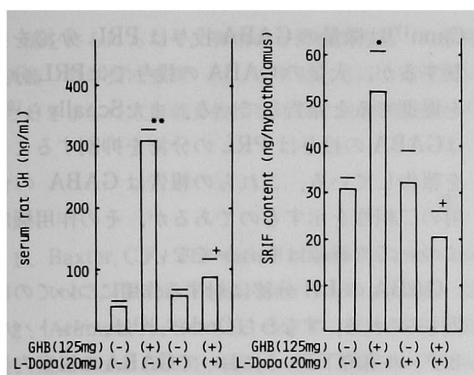


Fig. 5 Effects of GHB on serum GH and hypothalamic SRIF and effects of L-Dopa on the GHB-induced increase in serum GH and hypothalamic SRIF in pentobarbital anesthetized rats.

*, $p < 0.05$ vs. control, **, $p < 0.01$ vs. control, +, $p < 0.05$ vs. GHB alone

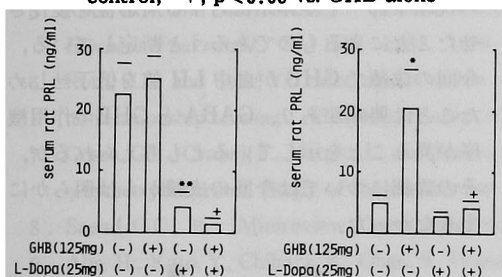


Fig. 6

Fig. 7

Fig. 6 Effects of GHB or/and L-Dopa on serum PRL in urethane anesthetized rats.

*, $p < 0.05$ vs. control, +, $p < 0.05$ vs. GHB alone.

Fig. 7 Effects of GHB or/and L-Dopa on serum PRL in pentobarbital anesthetized rats.

**, $p < 0.01$ vs. control, +, $p < 0.01$ vs. GHB alone

GABA の脳室内投与により、ウレタン麻酔時とペントバルビタール麻酔時ともに血清 GH 値は容量反応的に増加がみとめられた。また、視床下部中 SRIF 濃度も同様に、GABA の投与により増加が認められた。

GABA transaminase の blocker の一つである AOAA³⁾ の投与においても、血清 GH 値の上昇と共に視床下部 SRIF 濃度の増加が認められた。

更に GHB⁴⁻⁸⁾ の投与においても GABA, AOAA 投与時と同様に、血清 GH 値の上昇とともに視床下部 SRIF 含量の増加が認められた。

一方 dopamine の前駆体である L-Dopa の投

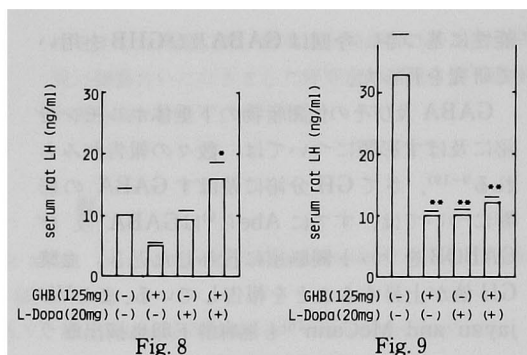


Fig. 8

Fig. 9

Fig. 8 Effects of GHB or/and L-Dopa on serum LH in urethane anesthetized rats.

*, $p < 0.05$ vs. GHB alone

Fig. 9 Effects on GHB or/and L-Dopa on serum LH in pentobarbital anesthetized rats.

**, $p < 0.01$ vs. control

与は、GHB による血清 GH 値の上昇と視床下部 SRIF 含量の増加を有意に抑制した。

2. 血清プロラクチン (PRL) 値に及ぼす影響 (図 6, 7)

ウレタン麻酔下ラットにおいては GHB 投与後血清 PRL 値は増加が認められた。しかしペントバルビタール麻酔下においては GHB の投与時には血清 PRL 値の増加は認められなかった。一方、L-Dopa の前投与はウレタン麻酔下における GHB 投与による血清 PRL 値の増加は完全に抑制された。

3. 血清 LH 値に及ぼす影響 (図 8, 9)

ウレタン麻酔下では GHB による血清 LH 値は低下傾向を示すが、L-Dopa 前処置によりこの低下作用は抑制された。一方、ペントバルビタール麻酔下では GHB 投与後血清 LH 値は有意に抑制されるが、ウレタン麻酔下と異り、その抑制作用は L-Dopa 前処置によっては影響を受けなかった。

考 按

まず GABA と GHB との関係についてであるが、GHB は GABA の生理的代謝産物の一つであることが報告されている。³H-GABA をラット脳室内に投与すると急速に脳内³H-GHB 濃度が上昇することが報告されており²¹⁾、GABA の作用の一部が GHB に変換されることにより発現される可能性も示唆されている。こうした可

能性に基づき、今回は GABA 及び GHB を用いて研究を行った。

GABA 及びその代謝産物の下垂体ホルモン分泌に及ぼす影響については、数々の報告がみられる⁹⁻¹⁹⁾。さて GH 分泌に及ぼす GABA の影響については、すでに Abe ら⁹⁾は GABA 及び GABOB をラット側脳室に投与したとき、血漿 GH 値が上昇することを報告している。また Vijayan and McCann¹⁶⁾も無麻酔下卵巣摘出雌ラットの脳室内に GABA を投与したとき、血漿 GH が容量反応的に増加することを明らかにしている。同時に彼等¹⁸⁾は dopamine の antagonist の一つである pimozide²⁰⁾の前投与を行っても、GABA による GH 分泌促進作用は抑制されなかったことから、GABA による GH 分泌の作用機序には dopamine 機構は関与していない可能性が強いとしている。

一方、黒質線条体系においては GABA neuron は dopamine neuron を抑制することが知られており、著者が今回行った GHB によるラット GH 分泌促進作用が、L-Dopa の前処置で抑制されたことより、GABA 及び GHB による GH 分泌促進作用は dopamine 機構の抑制を介して発現されている可能性があり、少なくとも一部は、視床下部の SRIF 分泌の抑制にもとづくことが推察される。GABA の GH 分泌に関する dopamine 機構の関与については今後の検討が必要と思われる。

PRL 分泌に対する GABA の影響についても種々の報告がある。

GABA の脳室内投与は PRL 分泌を促進するとの報告^{11), 13)}と、GABA の投与は PRL 分泌を抑制するとの報告^{10), 15), 17)}がみられる。今回もちいた GHB の投与ではウレタン麻酔下ラットにおいては、血清 PRL 値の上昇がみられた。この分泌促進は PRL 放出抑制因子 (PIF) と考えられている dopamine の前駆物質である L-Dopa により有意に抑制されたのは当然と考えられる。一方ペントバルビタール麻酔下では GHB により PRL 分泌促進がみられなかったが、その理由については不明である。Mioduszecki ら¹¹⁾、Ondo ら¹³⁾は GABA 投与によりラット血中 PRL 分泌促進作用を報告しているが、Vijayan and Mc-

Cann¹⁷⁾は微量の GABA 投与は PRL 分泌を抑制するが、大量の GABA の投与では PRL 分泌を促進すると報告している。また Schally ら¹⁰⁾は GABA の投与は PRL の分泌を抑制することを報告している。これらの報告は GABA の作用の二相性を示すものであるが、その作用機序についての詳細は明らかでない。

GABA の LH 分泌に対する作用についての報告もみられる。すなわち Ondo ら¹³⁾は、ペントバルビタール麻酔下ラットにおいて GABA の脳室内投与は LH 分泌を増加させることを示している。しかしその後、彼らは無麻酔ラットにおいては GABA の投与では LH の分泌促進がみられないことを報告し、麻酔下で GABA による LH 分泌の促進がみられたのはペントバルビタールが GABA の視床下部一下垂体系に対する反応性を变化させたことによるものであろうと断定している。今回の成績で GHB が血中 LH 値を低下せしめたことは興味があり、GABA と GHB の作用機序が異なることを示しているとも考えられるが、その詳細については今回の成績からは明らかに出来なかった。

結 語

麻酔下ラットにおいて GABA、AOAA、及び GHB 投与時の血清 GH、PRL、LH 値及び視床下部 SRIF 含量の変化について検討し以下の成績を得た。

1) GABA 投与後、血清 GH 値及び視床下部 SRIF 含量は共に増加した。AOAA 投与時にも血清 GH 値と視床下部 SRIF 含量は増加した。GHB 単独投与時も前二者と同様の傾向を示し、L-Dopa 投与により血清 GH、視床下部 SRIF 含量の増加は有意に抑制された。これらの成績は、GABA 及び GHB には GH 分泌促進作用があり、その作用機序として dopamine 機構の抑制に基づく可能性が推定された。

2) GHB 投与により、血清 PRL 値はウレタン麻酔下では増加した。しかし一方ペントバルビタール麻酔下においては、GHB 投与では変化は認められなかった。

3) GHB 投与により、LH 分泌は低下がみとめられた。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜った恩師、
大藤 眞学長に感謝いたしますとともに、御校閲い
ただきました太田善介教授ならびに直接御指導いた

だきました高原二郎、橋本浩三両講師に、また本研
究に御協力いただきました研究室の諸兄に厚く感謝
の意を表わします。

文 献

1. Baxter, C.F., The nature of gamma-aminobutyric acid, In *Handbook of Neurochemistry*, ed. A. Lajtha, vol. 3, Plenum Press, New York, pp. 229—353, 1970.
2. Arimura, A., Sato, H., Coy, D. H. and Schally, A.V.: Radioimmunoassay for GH-release inhibiting hormone' (38631). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 148, 784—789, 1975.
3. Green, A.R., Tordoff, A.F.C. and Bloomfield, M.R.: Elevation of brain GABA concentrations with amino-oxyacetic acid; Effect on the hyperactivity syndrome produced by increased 5-hydroxytryptamine synthesis in rats. *J. Neural. Transm.* 39, 103—112, 1976.
4. Roth, R.H. and Giarman, N.J.: Conversion *in vivo* of γ -aminobutyric to γ -hydroxybutyric acid in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 18, 247—250, 1969.
5. Roth, R.H. and Giarman, N.J.: Natural occurrence of gamma-hydroxybutyrate in mammalian brain. *Biochem. Pharmacol.* 19, 1087—1093, 1970.
6. Roth, R.H. and Suhr, Y.: Mechanism of the γ -hydroxybutyrate induced increase in brain dopamine and its relationship to sleep. *Biochem. Pharmacol.* 19, 3001—3012, 1970.
7. Gessa, G.L., Crabai, F., Vargiu, L. and Spano, P.F.: Selective increase of brain dopamine induced by γ -hydroxybutyrate: Study of the mechanism of action. *J. Neurochem.* 15, 337—381, 1968.
8. Snead, O.C., III.: Minireview; Gamma-hydroxybutyrate. *Life Sci.* 20, 1937—1944, 1977.
9. Abe, H., Kato, Y., Chihara, K., Ohgo, S., Iwasaki, Y. and Imura, H.: Growth hormone release by gamma-aminobutyric acid (GABA) and gamma-amino- β -hydroxybutyric acid (GABOB) in the rat. *Endocrinol. Jpn.* 24, 229—231, 1977.
10. Schally, A.V., Redding, T.W., Arimura, A., Dupout, A. and Linthicum, G.L.: Isolation of gamma-aminobutyric acid from pig hypothalami and demonstration of the prolactin releasing-inhibiting activity (PIF) *in vivo* and *in vitro*. *Endocrinology* 100, 861—691, 1977.
11. Mioduszewski, R., Grandison, L. and Meites, J.: Stimulation of prolactin release in the rat by GABA (39139). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151, 44—46, 1976.
12. Beattie, C.W., Gluckman, M.I. and Corbin, A.: A comparison of γ -butyrolactone and pimozide on serum gonadotropins and ovulation in the rat (39498). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 153, 147—150, 1976.
13. Pass, K.A. and Ondo, J.G.: The effects of gamma-aminobutyric acid on prolactin and gonadotropin secretion in the unanesthetized rat. *Endocrinology* 100, 1437—1442, 1977.
14. Rivier, C. and Vale, W.: Effects of γ -aminobutyric acid and histamine on prolactin secretion in the rat. *Endocrinology* 101, 506—511, 1977.
15. Locatelli, V., Cocchi, D., Racagni, G., Cattabeni, F. and Maggi, A.: Prolactin-inhibiting activity of gamma-aminobutyric acid-mimetic drugs in the male rat. *Brain Res.* 145, 173—179, 1978.
16. Vijayan, E. and McCann, S.M.: Effects of intraventricular injection gamma-aminobutyric acid (GABA) on plasma growth hormone and thyrotropin in conscious ovariectomized rat. *Brain Res.* 103, 1888—1893, 1978.
17. Vijayan, E. and McCann, S.M.: The effects of intraventricular injection of gamma-aminobutyric acid (GABA) on prolactin and gonadotropin release in conscious female rats. *Brain Res.* 155, 35—43,

1978.

18. Vijayan, E. and McCann, S.M.: Blockade of dopamine (DP) receptors with pimozide and pituitary hormone release in response to intraventricular injection of gamma-aminobutyric acid (GABA) in conscious ovariectomized rats. *Brain Res.* 162, 69—76, 1979.
19. 柚木 昌, 高原二郎, 薬師寺渉, 山根行雄, 山内治郎, 大藤信子, 畝木東陽子, 大藤 眞, 細木秀美, 大本堯史, 水川帰一郎: γ -amino- β -hydroxybutyric acid (GABOB) のヒト下垂体ホルモン分泌に及ぼす影響, 現代医療. 10, 863—868, 1978.
20. Anden, N.F., Butchen, S.G., Corrod, H., Fuxe, K. and Ungerstedt, U.: Receptor activity and turnover of dopamine and noradrenaline after neuroleptics. *Eur. J. Pharmacol.* 11, 303—314, 1970.
21. Gold, B.I. and Roth, R.H.: Kinetics of *in vivo* conversion of γ -[^3H] aminobutyric acid to γ -[^3H] hydroxybutyric acid by rat brain. *J. Neurochem.* 28, 1069—1073, 1977.

**Studies of gamma-aminobutyric acid (GABA) and its metabolite on the
control mechanism of secretion of anterior pituitary hormones.**

**Part I : Effects of GABA and gamma-hydroxybutyric acid (GHB) on
contents of hypothalamic hormone and secretion of anterior
pituitary hormones in rats.**

Sho YUNOKI

Third Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Z. Ota)

Effects of gamma-aminobutyric acid (GABA), aminooxy acetic acid (AOAA), a GABA transaminase inhibitor, and gamma-hydroxybutyric acid (GHB) on the release of serum growth hormone (GH), prolactin (PRL), luteinizing hormone (LH) and hypothalamic somatotropin release inhibiting hormone (SRIF) content were investigated in urethane or pentobarbital anesthetized Sprague-Dawley male rats.

Intraventricular injection of GABA caused a dose-related increase in serum GH and hypothalamic SRIF. In another study, intraperitoneal administration of AOAA produced a significant increase in both serum GH and hypothalamic SRIF. Furthermore, levels of serum GH and hypothalamic SRIF elevated significantly after intraperitoneal GHB administration. Pretreatment with L-DoPA diminished GHB induced serum GH increase and hypothalamic SRIF content. These results showed that GABA and GHB stimulated GH secretion accompanied by increased hypothalamic SRIF. GHB administration caused a significant increase in serum PRL in urethane-anesthetized rats but not in pentobarbital anesthetized rats. Pretreatment with L-DoPA completely inhibited the GHB-induced serum PRL increase in urethane anesthetized rats. Intraperitoneal administration of GHB caused a decrease in serum LH. Preadministration with L-DoPA inhibited GHB induced decrease of serum LH in urethane but not in pentobarbital anesthetized rats. Thus, the GH release induced by GABA or GHB may be partly ascribed to the inhibition of hypothalamic SRIF release. GHB-induced GH release might be mediated by inhibition of dopaminergic mechanism because pretreatment with L-DoPA inhibited GH release after GHB administration. However the mechanism of the GHB-induced serum PRL and LH releases was not clarified in this investigation.