

Studies on Biological Activities of Growth Hormone I . Growth Hormone-Dependent and Independent Changes in Plasma Somatomedin-C levels during Growth

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8199

成長ホルモンの生物活性に関する研究

I. 成長期における血漿ソマトメジンCの 成長ホルモン依存性および非依存性変動

金沢大学医学部小児科学講座 (主任: 谷口 昂教授)

清水 眞

(平成2年5月17日受付)

ソマトメジンC (somatomedin-C, SM-C) は成長ホルモン (growth hormone, GH) 依存性の成長因子として知られる。年令依存性に上昇する血漿 SM-C レベルの調節因子について、種々の原因により成長障害を来した83名の小児を対象に検討を行った。すなわち、下垂体性小人症23名につき GH 依存性変動を、体質性小人症20名につき甲状腺ホルモンと蛋白同化ホルモンの影響を、ターナー症候群9名、性腺機能低下症2名、思春期早発症2名、ライディヒ細胞腫瘍1名について性腺ホルモンの影響を、神経性食思不振症1名、インスリン依存型糖尿病 (insulin dependent diabetes mellitus, IDDM) 25名で栄養状態の影響をそれぞれ検討した。血漿 SM-C 測定はラジオイムノアッセイキット (radioimmunoassay, RIA) を用いた。正常対照として2才から16才までの正常小児について横断的検討を行った。GH 治療中の下垂体性小人症では年令に応じて緩徐な血漿 SM-C の上昇が見られたが、思春期では速やかに顕著な上昇を示し、以後低下傾向を認めた。これに対し、ゴナドトロピン欠損を伴う症例では SM-C の上昇は見られなかった。GH 治療中のターナー症候群では思春期前の症例は思春期の症例に比べ顕著な SM-C 上昇を示した。対照群に比べ、性腺機能低下症では SM-C レベルは低値を取り、性腺ホルモン過剰状態では高値を呈した。神経性食思不振症においては体重変化に平行した SM-C 値の変動が見られた。IDDM 患児の64%に SM-C の低下が見られた。3才から14才までの体質性低身長の小児に1年間にわたりスタノゾロールとサイロキシン投与を行い、各年令において平均8 cm/年の成長促進効果を認めしたが、6才以下では SM-C の上昇はほとんど見られず、10才以後では急速で顕著な上昇が見られた。以上の結果は GH が SM-C 産生の第一義的調節因子であり、年令依存性上昇に性ステロイドが関与するがそれ以外にも細胞のエネルギー産性能、年令的成熟状態が関与することを示すものである。

Key words somatomedin-C/ insulin-like growth factor I, pituitary dwarfism, constitutional delayed growth, sex steroids

1957年 Salmon と Daughaday は血清中に成長ホルモン (growth hormone, GH) の骨に対する作用を仲介する成長因子が存在することを報告し "Sulfation factor" と名づけた¹⁾。その後この成長因子は蛋白合成²⁾、コラーゲン合成³⁾、RNA⁴⁾、DNA⁵⁾合成をも促進す

ることが認められ、ソマトメジン (somatomedin, SM) と改称され⁶⁾、化学的性質の差に基づいて A, B, C の三つに分類された⁶⁻⁷⁾。一方血清中にはインスリン抗体によって中和されないインスリン様作用を示す物質があることが Froesch らによって報告され、

Abbreviations: EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; FSH, follicle stimulating hormone; GH, growth hormone; HbA_{1c}, hemoglobin A_{1c}; IDDM, insulin dependent diabetes mellitus; IGF, insulin-like growth factor; LH, luteinizing hormone; LH-RH, luteinizing hormone-releasing hormone; NSILA-S, non-suppressible insulin-like activity soluble; RIA, radioimmunoassay; SM, somatomedin

non-suppressible insulin-like activity soluble (NSILA-S) と呼ばれていた⁹⁾. 1978年そのアミノ酸配列が明らかにされ、インスリンとの一次構造の類似性から insulin-like growth factor (IGF) I, II と改名された¹⁰⁾. 一方 SM-A, C のアミノ酸配列も明らかになり SM-C は IGF-I と同一であること¹¹⁾, SM-A はその脱アミノ型であること¹²⁾が判明した.

以上の経緯から SM-C は GH 依存性に産生される成長因子であり、種々の組織で成長促進作用を発揮し、下垂体 GH 分泌とフィードバック調節系を形成していることが確立された. その産生には GH 以外に性ホルモン^{13)~22)}, 胎盤ホルモン²³⁾²⁴⁾, 甲状腺ホルモン²⁵⁾²⁶⁾, インスリン^{27)~30)}, プロラクチン³¹⁾³²⁾, 栄養状態^{33)~36)}, 年齢^{37)~41)}などの多くの因子が関与することが指摘されている. しかし特定の生理的, 病的状態におけるこれら調節因子と GH の相互関係は未だ明らかでない. また従来より SM-C の測定には bioassay, protein binding assay, radioreceptor assay, radioimmunoassay (RIA) などの様々な測定法が用いられてきたため, その特異性に関しては多くの問題があった. 近年 RIA 法がようやく一般化されるに至ったので⁴²⁾, 臨床面で種々の病態における変動を検討することが可能となった. そこで今回, 小児の成長発育過程および成長障害を来す疾患につき血漿 SM-C の変動を測定し, 種々の生理的, 病的状態における GH 依存性ならびに非依存性変化を検討した.

対象および方法

1. 対象

年齢2~16才の正常小児63例(男子38名, 女子25名), および種々の病因により成長障害を来した小児83例を対象とした. 患児は各疾患固有の病態により5群に分類した.

1. GH 欠損群

下垂体性小人症24例を含む. 下垂体性小人症の診断は厚生省診断基準に基づき, 身長が同性, 同年令の〔標準値-2標準偏差〕以下, 年間成長率4.5cm以下, 骨年齢/暦年齢比80%以下で二種類以上の GH 分泌刺激試験を施行し GH 頂値5ng/ml以下に該当するものを選んだ.

2. GH 正常低身長群

身長は同性, 同年令の〔標準値-2標準偏差〕以下, 骨年齢/暦年齢比80%以下であるが, GH 分泌試験で異常なく, 器質性疾患を伴わない体質性成長遅滞および両親のいずれかに低身長があり, 骨年齢遅滞を伴わない家族性低身長の20例が含まれる.

3. 性ホルモン欠損群

同年令の〔標準値-2標準偏差〕以下の低身長女子で染色体検査により診断確定したターナー症候群9例(45X 2例, 45X/46Xi (Xq) 5例, 46X, Xp- 1例, 45X/47XXX 1例)および思春期に到るも第二次性徴の発現なく, luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) 負荷試験で luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH) 欠損が証明された特発性ゴナドトロピン欠損症2例である. ターナー症候群8例の平均身長は-3.0標準偏差(-2.2~-4.3標準偏差), 骨年齢/暦年齢比は88%(75~99%)で全例血中エストラジオール(E₂)の低値が認められたが核型と成長障害の程度とは無関係であった.

4. 性ホルモン過剰群

乳児期に塩喪失で診断され, 現在副腎皮質ホルモン補充療法中の先天性副腎過形成, 21水酸化酸素欠損症女児1例, 8才以前に第二次性徴の発現を見, LH-RH 試験で LH, FSH 反応が思春期レベルに相当した特発性思春期早発症女児2例, および+2.7標準偏差の高身長と骨年齢の促進(骨年齢/暦年齢比140%)を呈し, 病理組織診断で確診された睾丸ライディヒ細胞腫瘍1例を含めた.

5. 栄養障害群

食思不振と30%の体重減少を認めた神経性食思不振症12才女子例, およびインスリン補充療法中のインスリン依存性糖尿病(insulin dependent diabetes mellitus, IDDM)25例を含めた.

II. 方法

1. 正常小児63例では年齢による SM-C の変動を検討し, 思春期遅発症における変動と比較した.

2. GH 欠損群では GH 治療前, 治療中, 治療中止後の変動を測定し, GH 依存性変化を測定した. 同時に LH 欠損を伴う症例と GH 単独欠損例を比較することによって加齢に伴う性ホルモンの関与を検討した.

3. GH 正常低身長群ではサイロキシシン(25 μ g/日)と蛋白合成ホルモン(スタノゾロール, 1mg/日)を6~12カ月間投与し成長促進を誘導したときの SM-C の変動を2カ月間隔で測定し, 甲状腺ホルモンと蛋白同化ホルモンの影響を検討した.

4. 性ホルモン欠損または過剰群では両者の差を比較することによって, 性ホルモンの関与を検討した. さらにターナー症候群に0.5~1.0IU/kg/週の GH を1年間投与し, 経時的に SM-C を測定することによって性ホルモン欠損下における GH の影響を検討した. 同時に SM-C と身長の伸び率の関係をみた.

5. 栄養障害群では神経性食思不振症の治療経過を体重減少期 (Stage 1, S₁), 体重維持期 (Stage 2, S₂), 体重回復期 (Stage 3, S₃) に分け, SM-C の変化とカロリー摂取量との関係を検討した. また糖尿病治療中の患児では身長伸び率と SM-C の関係, コントロール指標としての hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) と SM-C の関係を調べ, 末梢組織における糖利用と SM-C の関連性を検討した.

III. 測定

SM-C の測定には, 市販の Somatomedin-C Radioimmunoassay KIT (Nichols Institute Diagnostics 米国) を用いた. 本法は, ¹²⁵I をトレーサーとし, B・F 分離剤として第二抗体を用いる RIA である.

1. 検体

静脈より ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 加採血したのち, すみやかに遠心分離を行い, その上清を検体として用い, 測定まで -20°C で凍結保存を行った.

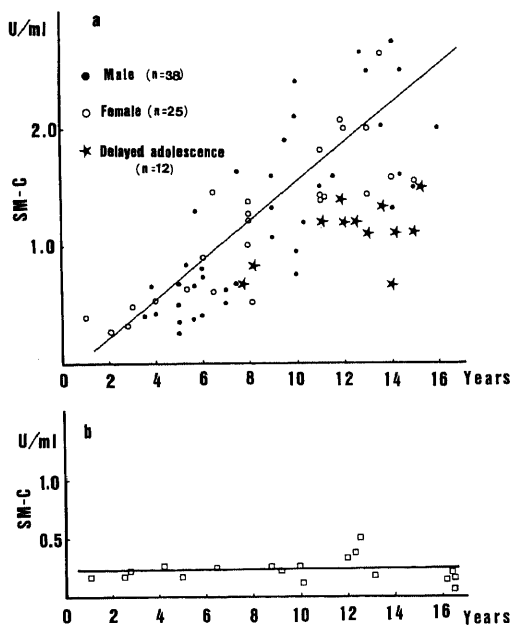


Fig. 1-a. Age-related change in plasma SM-C level in normal children and delayed adolescence. (●), male; (○), female; (★), delayed adolescence. Line, median line as age matched normal subjects.

Fig. 1-b. Plasma SM-C in 18 patients with GH deficiency before therapy as a function of age.

2. 測定

測定は直接法で行った. まずリン酸緩衝液で, 標準 SM-C と被検血漿を 20 倍に希釈しておき, それぞれ 50 μl に, 緩衝剤 250 μl および抗ヒト SM-C ウサギ血清 100 μl を加え室温で 1 時間孵置した後, ¹²⁵I で標識した SM-C 100 μl を加え 4°C で 16~24 時間孵置した. 次に, 第二抗体として抗ウサギ IgG ヤギ血清 50 μl を加え 1 時間孵置し, さらに沈澱安定剤として正常ウサギ血清 20 μl を加え 1 時間孵置した. 最後に冷却遠心分離して上清を吸引除去することにより B・F 分離を行い, 沈澱部分の放射能をウエル型シンチエーションカウンターで測定した. B/B₀% を算出し, 同時に作成した標準曲線より検体中の SM-C 濃度を求めた. 同一検体を 10 回の測定内変動係数は 10% 以下であった. 測定範囲は 7~145 mU/ml である.

なお, 測定は二重測定で行い平均値をもって算出した.

IV. 統計学的処理

得られた数値はすべて平均値 ± 標準誤差 (mean ± S. E. M) で示した. 相関分析は最小二乗法により, 二群間の平均値の差の検定には Student t 検定を用い, 多群間の平均値の差の検定には一元配置分散分析後 Scheffé 検定によって有意差の検定を行った. なお, 危険率 5% 以下を統計学的に有意差ありとした.

成 績

1. 正常小児と思春期遅発症における年齢依存的 SM-C 値変化

正常身長の男子 38 名, 女子 25 名, 下垂体機能正常で骨年齢の遅延を認めた思春期遅発症 12 名の年齢による血漿 SM-C 値の推移を示した (図 1-a). 年齢に依存して SM-C 濃度は漸増する. しかし, 男女間の性差はみられなかった. これに対して思春期遅発症では思春期の同年令正常児に比し低値であったが, その遅れはほぼ骨年齢遅れに一致していた.

2. GH 依存性の SM-C 値変化

診断確定時における GH 欠損患者 18 名の血漿 SM-C 値を年齢別に示した (図 1-b). 正常児と異なり年齢には関係なく 0.24 ± 0.04 U/ml と全例で著しい低値が認められた. GH が血漿 SM-C 濃度におよぼす影響を検討するため, GH 欠損症 24 例について, GH 治療中の SM-C 濃度の推移を示した (図 2). 全体的な傾向として, GH 治療により SM-C 濃度は上昇し, GH が SM-C 分泌調節に本質的なかわりをもつことが示される. GH 投与によって得られる SM-C 上昇にも, 年齢依存性があり, 10 才以後により顕著な上昇が

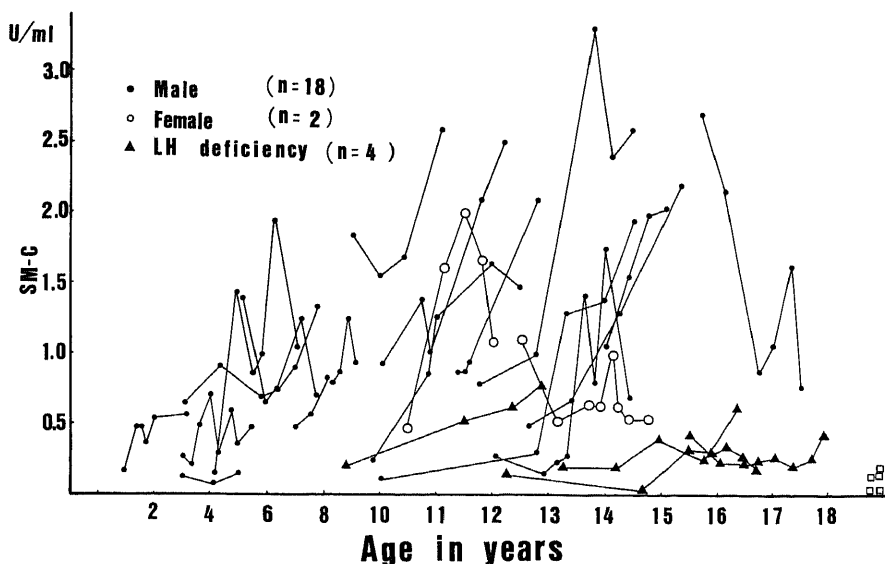


Fig. 2. Longitudinal changes in SM-C during GH therapy for pituitary dwarfism. (●), male; (○), female; (□), combined deficiency of LH.

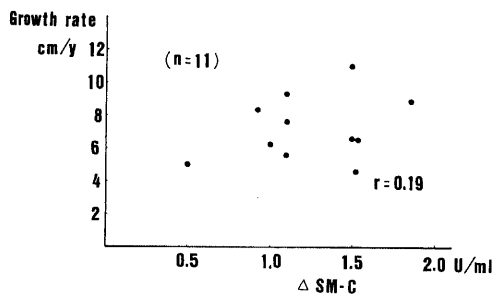


Fig. 3. Correlation between height gain and plasma SM-C level during GH therapy for pituitary dwarfism. ($r=0.19$) Δ SM-C, differences of serum SM-C between before and after GH therapy.

みられた。しかし GH と LH 合併欠損例では思春期に相当する SM-C の上昇は見られなかった。一方、すでに GH 投与を終了している GH 欠損患者群はいずれも低値を示し、GH 投与によって得られた SM-C 上昇が可逆的なものであり、GH 投与中止によって速やかに低下することが示された。さらに GH 治療中、10才以後に急速な SM-C の上昇を認めた11例についてその時期に一致して成長のスパイクが起こっているか否かを検討したが相関係数は $r=0.19$ で両者には相関は認められなかった (図3)。

3. 性ホルモンと SM-C の関係

SM-C の思春期における上昇に性ホルモンが関与す

るか否かを検討するために、性ホルモン高値を示す性早熟症、ライディヒ細胞腫、先天性副腎過形成、逆に性ホルモン低値ないしは欠損状態となるターナー症候群、ゴナドトロピン欠損症における SM-C 値を検討した (図4)。性ホルモンのレベルの高い性早熟症、ライディヒ細胞腫、先天性副腎過形成では年齢相当レベルより高値であるのに対し、性ホルモンの欠損があるターナー症候群、ゴナドトロピン欠損症では低値を示した。このことは、思春期の SM-C 上昇に性ホルモンが関与することを示している。

性ホルモン、GH、患者の年齢、この3者の関係を更に検討するために、GH 治療中のターナー症候群9例について SM-C の変動を検討した。治療開始前では2群間に差は見られなかったが、治療開始後、患者の年齢によって GH 投与による SM-C 値の変動に差が見られたため、12才未満の群と12才以上の群にわけて表示した (図5)。両群共に SM-C 上昇は見られたが、治療開始1年後では、12才未満の群はその増加率の平均が3.3倍であったのに対し12才以上の群では2.2倍と低い傾向が見られた。 ($p<0.01$) この成績も、思春期における SM-C 上昇に性ホルモンが関与することを示している。身長伸び率と SM-C は正の相関関係が認められた ($r=0.80, p<0.01$)。

4. 栄養状態が SM-C に及ぼす影響

神経性食思不振症の12才の女兒の入院中の体重変化を上段に、SM-C の変化を下段に示した (図6)。S-1,

S-2, S-3 はそれぞれ体重減少期, 維持期, 体重増加期を表すが, SM-C 値は, S-1 期にはごく低値を示し, S-2 期で上昇, S-3 期では体重増加に平行したすみやかな上昇が観察された. このことから, 血漿 SM-C は, 全身の栄養状態に影響を受けると共に, 栄養状態の指標として有用なパラメーターになるものと思われた.

図7にインシュリン依存型糖尿病 (IDDM) 患者における年齢別の SM-C 値を示した. 25例中16例 (65%) が標準値を下回った. SM-C と, 身長伸び率との間には, 一定の相関が認められなかった. また, コントロールの指標である HbA_{1c} と SM-C の間にも相関は認められなかった.

5. 甲状腺ホルモンと蛋白同化ホルモンによる SM-C 刺激効果

体質性成長遅延に対して T₄ と Stanozolol で治療を試みた際の, 治療中における SM-C の変化を暦年令により3群に分けて示した (図8). 12ヶ月間の身長の伸び率は6才以下 8.3±1.7cm/年, 6~10才 8.8±2.6cm/年, 10才以上 8.8±1.1cm/年と各群で差がないにもかかわらず, 6才以下の群では SM-C 上昇は平均+

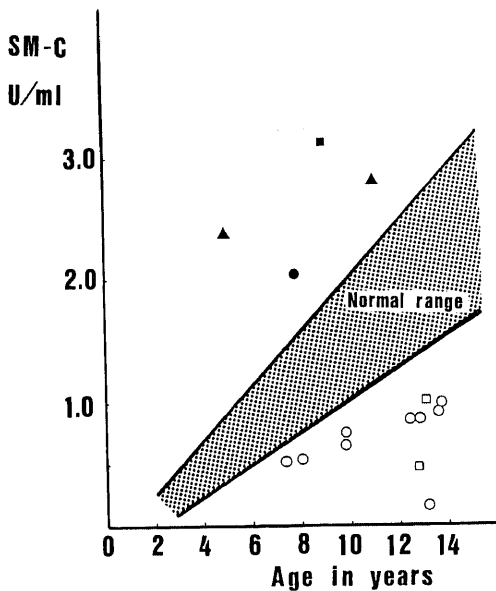


Fig. 4. Plasma SM-C level in patients with gonadal disorders as a function of age. (O), Turner's syndrome; (□), hypogonadism; (▲), precocious puberty; (●), Leydig cell tumor; (■), congenital adrenal hyperplasia with 21 hydroxylase deficiency. Shaded area, normal range.

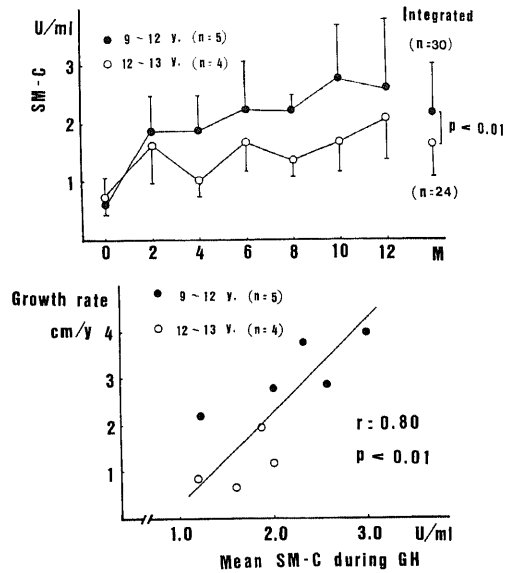


Fig. 5. Upper panel: Comparison of changes in SM-C level in young and old age groups of Turner's syndrome treated with GH. Horizontal bar shows the duration of treatment term. (●), 9~12 years of age; (○), 12~13 years of age. Lower panel: Correlation between height gain and mean SM-C level during GH therapy.

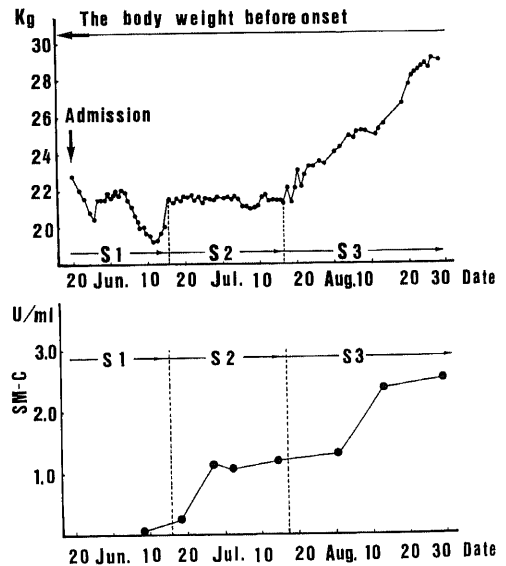


Fig. 6. Changes in body weight (upper panel) and SM-C (lower panel) in a patient with anorexia nervosa aged 12 years. S-1, stage of weight loss; S-2, stage of maintaining weight; S-3, stage of weight gain.

0.11U/ml でごくわずかであったが、6~10才の群では緩やかな上昇を示し、平均の SM-C 上昇は +0.73 U/ml であった。10才以上の群では速やかで顕著な上昇 (+1.56U/ml) が見られた。各症例別の SM-C 上昇

と暦年令の関係を一括して図9に示す。同一条件による刺激にもかかわらず血中 SM-C の上昇は10才以降に顕著であり明らかな年令差が認められた。

考 察

最近の知見によれば SM-C は数多くの生物学的活性を有し、DNA 合成、RNA 合成、蛋白合成、プロテオグリカン合成、コラーゲン合成⁴³⁾、軟骨細胞、骨芽細胞増殖、コロニー形成刺激作用⁴⁴⁾、アルカリフォスファターゼ活性誘導作用、脂肪細胞におけるグルコー

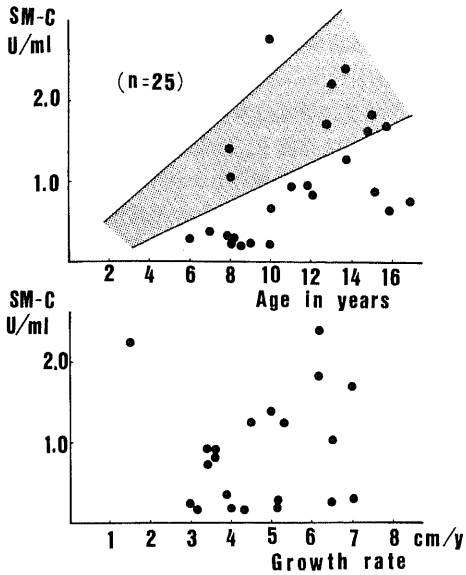


Fig. 7. Plasma SM-C level in patients with IDDM as a function of age (upper panel) and correlation between SM-C and growth rate (lower panel). Shaded area: normal range.

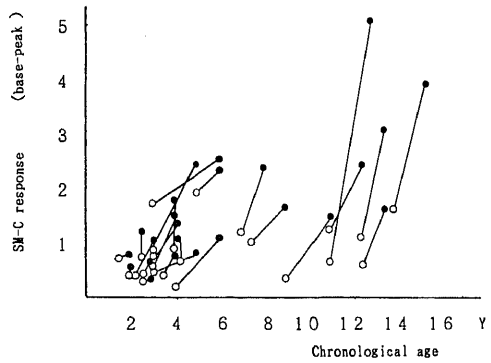


Fig. 9. The basal (○) and peak (●) SM-C level during the thyroxine-stanozolol treatment in individual patient with constitutional delayed growth.

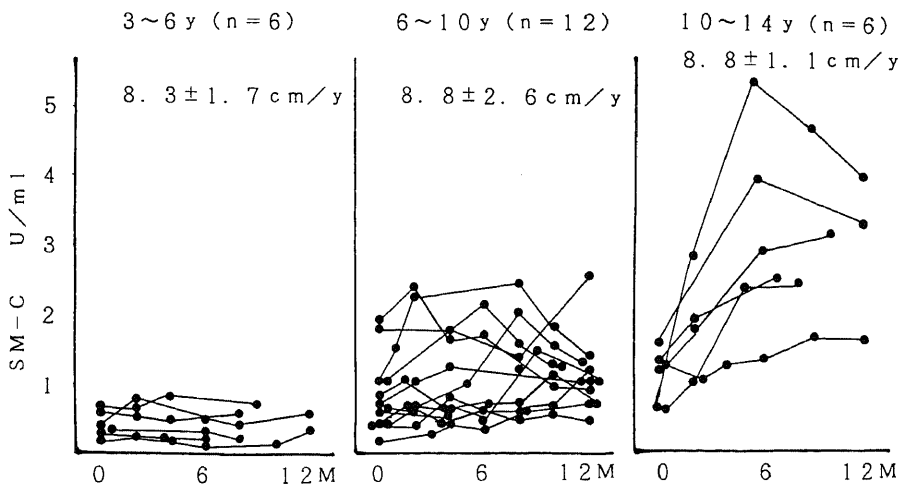


Fig. 8. Changes in plasma SM-C level during the treatment with thyroxine (25 μ g/day) and stanozolol (1mg/day) for 12 months in children with constitutional delayed growth aged 3-6 years (left panel), 6-10 years (middle panel), and 10-14 years (right panel). Growth velocity is indicated in each panel.

ス取り込み, ロイシン取り込みの促進, 筋組織におけるアミノ酸取り込み, 糖輸送促進などが明らかにされている。更に細胞の増殖, 分化においても筋原細胞における筋管の形成やクレアチニンフォスフォキナーゼ, アセチルコリンエステラーゼ活性誘導作用⁴⁵⁾⁴⁶⁾, 胎児肝におけるグリコーゲン合成促進作用などが報告されている⁴⁷⁾。

末梢血中に存在する SM-C の90%以上は肝臓由来と考えられており, 従来から灌流肝や肝の切片標本を用いてインスリン, サイロキシン, コルチゾール, エストロゲン, プロラクチン, 胎盤性ラクトゲン, などの SM-C 産生におよぼす影響が検討されてきた^{48)~50)}。肝における SM-C 産生が GH により調節されていることはこれまでの多くの知見から明らかである。下垂体摘出ラットや下垂体性小人症では血漿 SM-C 濃度は低値を示し, GH 投与により増加する。また培養肝細胞や灌流肝においても GH により SM-C 分泌が促進される⁵⁰⁾。さらに GH は肝臓での SM-C mRNA を著明に増加させる⁵⁰⁾。我々の症例でも図 1-a, b に示したように正常対照群では加齢に伴い SM-C は次第に増加し, GH 欠損群では治療前の SM-C は年令にかかわらず一様に低値であった。また, GH 治療によって SM-C はすみやかに上昇し, 治療中止後に再び低下する変動が認められた(図 2)。この推移は GH が SM-C 産生に中心的役割を果たすことを示している。従って臨床的見地から血漿 SM-C 値は 4~5 才以降において GH 分泌不全の指標として有用であると考えられる。

図 2 における GH 欠損群の GH 治療による SM-C 上昇を年令的に検討すると, SM-C 上昇は10才以降に顕著であり, 正常対照群と同様に思春期の数年前からその産生が増加する傾向が認められた。またゴナドトロピン欠損例ではこの思春期性増加が認められなかった。このことは年令依存性上昇の一因として性ホルモンが関与していることを示唆する。事実, ①性ホルモン欠損群で SM-C は低値であり, 過剰群では高値を示したこと(図 4), ②思春期遅発症では暦年令より骨年令に一致した年令推移を示したこと, ③ターナー症候群に対する GH 投与中, 年長児の SM-C 上昇が不良であったこと(図 5)はいづれも思春期における性ホルモン上昇が SM-C 産生に促進的効果を有することを支持する。しかし① SM-C の上昇が思春期発来にやや先行して10才以降に起こること, ②エストロゲンはむしろ骨端線閉鎖作用が強く, 下垂体機能正常な男子にエストロゲンを投与すると血漿 SM-C を低下させること⁵⁰⁾, ③ GH 分泌正常な低身長群にアン

ドロゲン作用のあるスタノゾロールを投与すると年長児で SM-C の増加が認められたことを考え合わせると, 性腺由来のテストステロン, エストロゲンよりむしろ副腎性アンドロゲンの役割が生理的にはより重要と考えられる。

一方, 性ホルモンは下垂体に作用して GH 分泌の脈波振幅を增高し, GH 分泌を促進することが知られている⁵⁰⁾。また思春期早発症に LH-RH アゴニストを投与すると GH 分泌の低下に伴って SM-C の低下が観察される²⁰⁾ので, 性ホルモンの骨成長促進作用は直接的に骨に働くのみならず, 下垂体 GH 分泌の促進を介して SM-C 産生を促す機序もあると考えられる。性腺ホルモンを欠くターナー症候群の年長児では過剰量の GH 投与にもかかわらず SM-C の上昇が不良であること(図 5), ゴナドトロピン欠損を伴う下垂体性小人症で GH 治療によっても思春期性 SM-C の上昇がみられないこと(図 2)からみて, 生理的な状態では GH と性ホルモンは相加的に作用して思春期の SM-C 産生を促進するものと考えられる⁵⁰⁾。

以上より思春期における SM-C 上昇に性ホルモンが関与することは確実であるが, それのみで年令依存性変動をすべて説明することはできない。図 8 に示したように甲状腺ホルモンと蛋白同化ホルモンによって成長促進を誘導しても年少児では血漿 SM-C 値は上昇しなかった。従来からも成長率と SM-C 値は一致しないことが指摘されており, 成長速度の最も早い乳幼児期の SM-C 値は低く, 我々の症例でも成長率と SM-C 値の間に相関関係は認められなかった(図 9)。ラットでは胎仔期から幼仔期の成長には IGF-II が関与し, IGF-I はそれ以後の成長に関与するとされる⁵⁰⁾。しかし, ヒトでは IGF-II から IGF-I への年令的推移は未だ証明されていない。血中レベルと成長率が相関しない理由として, 血中では SM-C はその結合蛋白と結合して存在し⁵⁰⁾, それ自体ホルモン作用を発揮しないので, むしろ局所における SM-C の autocrine ないし paracrine な作用が重要と考えられる。事実, 多数の細胞, 組織培養系で SM-C の産生が証明されており, 頭蓋骨⁶⁰⁾, 臍⁶¹⁾, 繊維芽細胞⁶²⁾, 胎児筋原細胞⁶³⁾, セルトリー細胞⁶⁴⁾, 顆粒膜細胞⁶⁵⁾⁶⁶⁾で SM-C の産生が認められる。また SM-C mRNA はヒト胎児肝の旁洞細胞, 軟骨の軟骨膜, 角膜被膜, 結合組織間葉細胞で発現している⁶⁷⁾⁶⁸⁾。これら細胞レベルでの SM-C 産生は当然細胞のエネルギー代謝や増殖能と密接な関連があると推定される。未熟児, 新生児では血中 SM-C は低値であるが尿中には小児の 4~5 倍の SM-C が排泄されており, その産生能は高いとみ

なされる⁶⁹⁾。従って血中レベルのみから SM-C 産生を判断することはできない。

カロリー摂取量が極端に低い神経性食思不振症では体重の変動と SM-C 値には明らかな平行関係が認められた(図 6)。本症においては下垂体 GH 分泌は正常または亢進しているため、SM-C の変動は GH に依存せず、細胞のエネルギー代謝を反映していると見なされる。またインスリン治療中の糖尿病患者でも HbA_{1c} 値からみて良好なコントロール状態にあるにもかかわらず SM-C は正常対照より低値を示した(図 7)。ストレプトゾトシンによる糖尿病ラットでは血漿 SM-C は糖尿病発症とともに低下し、この変化は肝細胞膜の GH 結合能と平行していることが報告されている^{28)~30)70)}。しかし低下した SM-C はインスリン投与によって正常化するが、GH では回復せず、その成長障害は合成 IGF-I の投与により正常化する⁷¹⁾と報告されている。このことより糖尿病における成長障害の一因は SM-C 産生能の異常が関与しており、その成因にインスリン欠乏、即ち細胞のグルコース利用能の低下があることを示している。細胞レベルでの SM-C 産生の調節機序および年令の成熟過程の詳細については今後の検討によらねばならないが、同一の外因性 SM-C 産生刺激に対する反応性が年令により異なることは細胞レベルでの分化増殖能の変化が基礎にあると推定される。

結 論

1. 血漿 SM-C は生理的に年令依存性変化を示す。
2. SM-C は GH 欠損症で年令にかかわらず低値を取り、GH はその産生に不可欠である。また、臨床的に GH 欠損症の有力な診断、治療の指標となる。
3. 思春期における生理的 SM-C 上昇には GH と性ホルモンの両者が必要である。
4. SM-C は低栄養状態で低値をとりコントロール良好な IDDM 患児でも低下傾向が認められ、栄養状態のよい指標となる。
5. 蛋白同化ホルモンと甲状腺ホルモンによる外因性の SM-C 刺激効果に対して、体細胞側の反応が年齢より異なることが示された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました谷口昂教授に深謝致します。また終始直接御指導、御鞭撻頂いた佐藤 保助教授はじめ、研究に御協力頂きました小児科内分泌グループならびに教室員の皆様に感謝致します。本論文の要論は第19回国際小児科学会(パリ)で発表した。

文 献

- 1) Salmon, W. D. & Daughaday, W. H.: A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J. Lab. Clin. Med.*, **49**, 825-836 (1957).
- 2) Salmon, W. D., Duvall, M. R. & Thompson, E. Y.: Stimulation by insulin in vitro of incorporation of (³⁵S) sulfate and (¹⁴C) leucine into protein-polysaccharide complexes, (³H) uridine into RNA, and (³H) thymidine into DNA of costal cartilage from hypophysectomized rats. *Endocrinology*, **82**, 493-499 (1968).
- 3) Daughaday, W. H. & Mariz, I. K.: Conversion of proline-U-C¹⁴ to labeled hydroxyproline by rat cartilage in vitro: Effect of hypophysectomy, growth hormone, and cortisol. *J. Lab. Clin. Med.*, **59**, 741-752 (1962).
- 4) Daughaday, W. H.: Somatomedin: Proposed designation for sulphation factor. *Nature*, **235**, 107-107 (1972).
- 5) Hall, K.: Quantative determination of the sulfation factor activity in human serum. *Acta Endocrinol.*, **63**, 338-350 (1970).
- 6) Uthne, K.: Human somatomedins purification and some studies on their biological actions. *Acta Endocrinol. Suppl.*, **175**, 1-35 (1973).
- 7) Van Wyk, J. J., Underwood, L. E., Hintz, R. L., Clemmons, D. R., Voina, S. J. & Weaver R. P.: The somatomedins: A family of insulinlike hormones under growth hormone control. *Recent Prog. Horm. Res.*, **30**, 259-318 (1974).
- 8) Froesch, E. R., Burgi, H., Muller, W. A., Humbel, R. E., Jakob, A. & Lambart, A.: Nonsuppressible insulinlike activity of human serum: Purification, physicochemical and biological properties and its relation to total serum ILA. *Recent Prog. Horm. Res.*, **23**, 565-616 (1967).
- 9) Rinderknecht, E. & Humbel, R.: The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J. Biol. Chem.*, **253**, 2769-2776 (1978).
- 10) Rinderknecht, E. & Humbel, R.: Primary structure of human insulin-like growth factor II. *FEBS Lett.*, **89**, 283-286 (1978).
- 11) Klapper, D. G., Svoboda, M. E. & Van

- Wyk, J. J.: Sequence analysis of somatomedin-C: Confirmation of identity with insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, **112**, 2215-2217 (1983).
- 12) Enberg, G., Carlquist, M., Jornvall, H. & Hall, K.: The characterization of somatomedin A, isolated by microcomputer-controlled chromatography, reveals an apparent identity to insulin-like growth factor I. *Eur. J. Biochem.*, **143**, 117-124 (1984).
- 13) Cassorla, F. G., Skerda, M. C., Valk, I. M., Hung, W., Cutler, G. B. & Loriaux, D. L.: The effects of sex steroids on ulnar growth during adolescence. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **58**, 717-720 (1984).
- 14) Ross, J. L., Cassorla, F. G., Skerda, M. C., Valk, I. M., Loriaux, D. L. & Cutler, Jr., G. B.: A preliminary study of the effect of estrogen dose on growth in Turner's syndrome. *N. Engl. J. Med.*, **309**, 1104-1106, (1983).
- 15) Blizzard, R. M., Thompson, R. G., Baghdassarian, A., Kowarski, A., Migeon, C. J. & Rodriguez, A.: The interrelationship of steroids, growth hormone, and other hormones on pubertal growth. In Grumbach, M. M., Graye, G. D. & Mayer, F. E. (eds.), *The Control of the Onset of Puberty*, 1st ed., p342-366, John Wiley & Sons, New York, 1974.
- 16) Bierich, J. R.: Investigations of the genesis of the pubertal growth spurt. *Monatsschr. Kinderheilkd.*, **129**, 393-399 (1981).
- 17) Prader, A. & Zachmann, M.: Treatment of excessively tall girls and boys with sex hormones. *Pediatrics, Suppl.*, **62**, 1202-1210 (1978).
- 18) Bierich, J. R.: Estrogen treatment of girls with constitutional tall stature. *Pediatrics, Suppl.*, **62**, 1196-1201 (1978).
- 19) Caruso-Nicoletti, M., Cassorla, F., Skerda, M., Ross, J. L., Loriaux, D. L. & Cutler, G. B.: Short term, low dose estradiol accelerates ulnar growth in boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **61**, 896-898 (1985).
- 20) Parker, M. W., Johanson, A. J., Rogol, A. D., Kaiser, D. L. & Blizzard, R. M.: Effect of testosterone on somatomedin-C concentrations in prepubertal boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **58**, 87-90 (1984).
- 21) Harris, D. A., Van Vliet, G., Egli, C. A., Grumbach, M. M., Kaplan, S. L., Styne, D. M. & Vainsel, M.: Somatomedin-C in normal puberty and in true precocious puberty before and after treatment with a potent luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **61**, 152-159 (1985).
- 22) Kogawa, M., Takano, K., Asakawa, K., Hizuka, N., Tsushima, T. & Shizume, K.: Insulin stimulation of somatomedin A production in monolayer cultures of rat hepatocytes. *Acta Endocrinol.*, **103**, 385-390 (1983).
- 23) Furlanetto, R. W., Underwood L. E., Van Wyk, J. J. & Handwerker, S.: Serum immunoreactive somatomedin-C is elevated late in pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **47**, 695-698 (1978).
- 24) Hall, K., Enberg, G., Hellem, E., Lundin, G., Ottoson-Seeberger, A., Sara, V., Trygstad, O. & Ofverholm, U.: Somatomedin levels in pregnancy: Longitudinal study in healthy subjects and patients with growth hormone deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **59**, 587-594 (1984).
- 25) Valcavi, R., Dieguez, C., Preece, M., Taylor, A., Portioli, I. & Scanlon, M. F.: Effect of thyroxine replacement therapy on plasma insulin-like growth factor I levels and growth hormone responses to growth hormone releasing factor in hypothyroid patients. *Clin. Endocrinol.*, **27**, 85-90 (1987).
- 26) Takano, K., Hasumi, Y., Hizuka, N., Kogawa, M., Tsushima, T. & Shizume, K.: Effect of thyroid hormone on the serum level of somatomedin A. *Endocrinol. Jpn.*, **27**, 643-652 (1980).
- 27) Tamborlane, W. V., Hintz, R. L., Bergman, M., Genel, M., Felig, P. & Sherwin, R. S.: Insulin-infusion-pump treatment of diabetes. *N. Engl. J. Med.*, **305**, 303-307 (1981).
- 28) Takano, K., Hizuka, H., Shizume, K., Hasumi, Y., Kogawa, M. & Tsushima, T.: Effect of insulin and nutrition on serum levels of somatomedin A in the rat. *Endocrinology*, **107**, 1614-1619 (1980).
- 29) Takano, K., Hizuka, N., Kawai, K. & Shizume, K.: Effect of growth hormone and

- nutrition on the level of somatomedin A in the rat. *Acta Endocrinol.*, **87**, 485-494 (1978).
- 30) **Hall, K., Takano, K. & Fryklund, L.**: Radioreceptor assay for somatomedin A. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **39**, 973-976 (1974).
- 31) **Clemmons, D. R., Underwood, L. E., Ridgway, E. C., Kliman, B. & Van Wyk, J. J.**: Hyperprolactinemia is associated with increased immunoreactive somatomedin C in hypopituitarism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **52**, 731-735 (1981).
- 32) **Murphy, L. J. & Friesen, H. G.**: Differential effects of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the ovariectomized hypophysectomized rat. *Endocrinology*, **122**, 325-332 (1988).
- 33) **Phillips, L. S. & Young, H. S.**: Nutrition and somatomedin. I.: Effect of fasting and refeeding on serum somatomedin activity and cartilage growth activity in rats. *Endocrinology*, **99**, 304-314 (1976).
- 34) **Takano, K., Hizuka, N., Kawai, K. & Shizume K.**: Effect of growth hormone and nutrition on the level of somatomedin A in the rat. *Acta Endocrinol.*, **87**, 485-494 (1978).
- 35) **Clemmons, D. R., Klibanski, A., Underwood, L. E., McArthur, J. W., Ridgway, E. C., Beitins, I. Z. & Van Wyk, J. J.**: Reduction of plasma immunoreactive somatomedin C during fasting in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **53**, 1247-1250 (1981).
- 36) **Merimee, T. J., Zapf, J. & Froesch, E. R.**: Insulin-like growth factors in the fed and fasted states. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **55**, 999-1002 (1982).
- 37) **Furlanetto, R. W., Underwood, L. E., Van Wyk, J. & D'Ercole, A. J.**: Estimation of somatomedin-C level in normals and patients with pituitary disease by radioimmunoassay. *J. Clin. Invest.*, **60**, 648-657 (1977).
- 38) 肥塚直美, 高野加寿恵, 鎮目和夫, 福山幸夫: Somatomedin-C RIA キットによる血漿 somatomedin-C の測定. *ホルモンと臨床*, **32**, 463-466 (1984).
- 39) **Luna, A. M., Wilson, D. M., Wibbelsman, C. J., Brown, R. C., Nagashima, R. J., Hintz, R. L. & Rosenfeld, R. G.**: Somatomedins in adolescence: A cross-sectional study of the effect of puberty on plasma insulin-like growth factor I and II levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **57**, 268-271 (1983).
- 40) **Rosenfeld, R. I., Furlanetto, R. & Bock, D.**: Relationship of somatomedin-C concentrations to pubertal changes. *J. Pediatr.*, **103**, 723-728 (1983).
- 41) **Hizuka, N., Takano, K., Shizume, K. & Kawai, K.**: Serum somatomedin A in growth retarded children. *Acta. Endocrinol.*, **88**, 625-632 (1978).
- 42) **D'Ercole, A. J.**: Commentary: Use of RIA for somatomedin-C estimation. *J. Pediatr.*, **99**, 735-736 (1981).
- 43) **Zapf, J., Schoenle, E. & Froesch, R.**: Insulin-like growth factors I and II: Some biological actions and receptor binding characteristics of two purified constituents of nonsuppressible insulin-like activity of human serum. *Eur. J. Biochem.*, **87**, 285-296 (1978).
- 44) **Lindahl, A., Isgaard, J., Carlsson, L. & Lsaksson, O. G. P.**: Differential effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on colony formation of epiphyseal chondrocytes in suspension culture in rats of different ages. *Endocrinology*, **121**, 1061-1069 (1987).
- 45) **Schmid, C., Steiner, T. & Froesch, E. R.**: Preferential enhancement of myeloblast differentiation by insulin-like growth factors (IGF I & II) in primary cultures of chicken embryonic cells. *FEBS Lett*, **161**, 117-121 (1983).
- 46) **Ewton, D. Z. & Florini, J. R.**: Effect of the somatomedins and insulin on myeloblast differentiation in vitro. *Dev. Biol.*, **86**, 31-39 (1981).
- 47) **Freemark, M., D'Ercole, A. J. & Handwerker, S.**: Somatomedin-C stimulates glycogen synthesis in fetal rat hepatocytes. *Endocrinology*, **116**, 2578-2582 (1985).
- 48) **Schalch, D. S., Heinrich, U. E., Draznin, B., Jonson, C. J. & Miller, L. L.**: Role of the liver in regulating somatomedin activity: Hormonal effect on the synthesis and release of insulin-like growth factor and its carrier protein by the isolated perfused rat liver. *Endocrinology*, **104**, 1143-1151 (1979).
- 49) **Shapiro, B., Waligora, K., & Pimstone,**

- B. L.: Somatomedin release from isolated perfused livers of protein malnourished and normal rats in response to growth hormone and insulin. In Gopodarowicz, D. (ed.), *Somatomedin & Growth*, 1st ed., p329-334, Academic press, London, 1979.
- 50) **Vassilopoulou-Sellin, R., Phillips, L. S. & Reichard, L. A.:** Nutrition and somatomedin. IV. Regulation of somatomedin activity by the perfused rat liver. *Endocrinology*, **106**, 260-267 (1980).
- 51) **Kogawa, M., Takano, K., Hizuka, N., Asakawa, K. & Shizume, K.:** Effect of GH and insulin on the generation of somatomedin by perfused rat liver. *Endocrinol. Jpn.*, **29**, 141-147 (1982).
- 52) **Sledge, C. B.:** Growth hormone and articular cartilage. *Fed. Proc.*, **32**, 1503-1505 (1973).
- 53) **Scott, C. D., Martin, J. L. & Baxter, R. C.:** Rat hepatocyte insulin-like growth factor I and binding protein: Effect of growth hormone in vitro and in vivo. *Endocrinology*, **116**, 1102-1107 (1985).
- 54) **Adashi, E. Y., Resnick, C. E., Hernandez, E. R., Svoboda, M. E. & Van Wyk, J. J.:** In vivo regulation of granulosa cell somatomedin-C/insulin-like growth factor I receptors. *Endocrinology*, **122**, 1383-1389 (1988).
- 55) **Wiedemann, E., Schwartz, E. & Frantz A. G.:** Acute and chronic estrogen effects upon serum somatomedin activity, growth hormone, and prolactin in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **42**, 942-952 (1976).
- 56) **Parker, M. W., Johanson, A. J., Rogol, A. D., Kaiser, D. L. & Blizzard, R. M.:** Effect of testosterone on somatomedin-C concentrations in prepubertal boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **58**, 87-90 (1984).
- 57) **Rosenfield, R. L. & Furlanetto, R.:** Physiologic testosterone or estradiol induction of puberty increases plasma somatomedin-C. *J. Pediatr.*, **107**, 415-417 (1985).
- 58) **Moses, A. C., Nissley, S. P., Short, P. A., Rechler, M. M., White, R. M., Knight, A. B. & Higa, O. G.:** Increased levels of multiplication-stimulating activity, an insulin-like growth factor, in fetal rat serum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 3649-3653 (1980).
- 59) **Hintz, R. L.:** Synthesis and circulating forms of the somatomedins. *Endocrinol. Jpn., Suppl. I*, **34**, 107-114 (1987).
- 60) **Canalis, E., McCarthy, T. & Centrella, M.:** Isolation and characterization of insulin-like growth factor I (somatomedin-C) from cultures of fetal rat calvariae. *Endocrinology*, **122**, 22-27 (1988).
- 61) **Swenne, I., Hill, D. J., Strain, A. J. & Milner, D. G.:** Growth hormone regulation of somatomedin C/insulin-like growth factor I production and DNA replication in fetal rat islets in tissue culture. *Diabetes*, **36**, 288-294 (1987).
- 62) **Clemmons, D. A., Underwood, L. E. & Van Wyk, J. J.:** Hormonal control of immunoreactive somatomedin production by cultured human fibroblasts. *J. Clin. Invest.*, **67**, 10-19 (1981).
- 63) **Adams, S. O., Nissley, S. P., Greenstein, L. A., Yang, Y. W. H. & Rechler, M. M.:** Synthesis of multiplication-stimulating activity (rat insulin-like growth factor II) by rat embryo fibroblasts. *Endocrinology*, **122**, 979-987 (1983).
- 64) **Hill, D. J., Crace, C. J., Nissley, S. P., Morrell, D., Holder, A. T. & Milner, R. D. G.:** Fetal rat myoblasts release both rat somatomedin-C (SM-C)/insulin-like growth factor I (IGF I) and multiplication-stimulating activity in vitro: Partial characterization and biological activity of myoblast-derived SM-C/IGF I. *Endocrinology*, **117**, 2061-2072 (1985).
- 65) **Smith, E. P., Svoboda, M. E., Van Wyk, J. J., Kierszenbaum, A. L. & Tres, L. L.:** Partial characterization of a somatomedin-like peptide from the medium of cultured rat sertoli cells. *Endocrinology*, **120**, 186-193 (1987).
- 66) **Hammond, J. M., Baranao, L. S., Skaleris, D., Knight, A. B., Romanus, J. A. & Rechler, M. M.:** Production of insulin-like growth factors by ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, **117**, 2553-2555 (1985).
- 67) **Han, V. K. M., D'Ercole, A. J. & Lund, P. K.:** Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus. *Science*, **236**, 193-197 (1987).
- 68) **Han, V. K. M., Lund, P. K., Lee, D. C. &**

D'Ercole, A. J.: Expression of somatomedin/insulin-like growth factor messenger ribonucleic acid in the human fetus: Identification, characterization, and tissue distribution. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **66**, 422-429 (1988).

69) Quattrin, T., Albini, C. H., Cara, J. F., Vandlen, R. L., Mills, B. J. & MacGillivray, M. H.: Quantitation of urinary somatomedin-C and growth hormone in preterm and fullterm infants and normal children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **66**, 792-797 (1988).

70) Baxster, R. C., Brown, A. S. & Turtle, J. R.: Association between serum insulin, serum somatomedin and liver receptors for human growth hormone in streptozotocin diabetes. *Horm. Metab. Res.*, **12**, 377-381 (1980).

71) Scheiwiller, E., Guler, H. P., Merryweather, J., Scandella, C., Maerki, J., Zapf, J. & Froesch, E. R.: Growth restoration of insulin-deficient diabetic rats by recombinant human insulin-like growth factor I. *Nature*, **323**, 169-171 (1986).

Studies on Biological Activities of Growth Hormone I. Growth Hormone-Dependent and Independent Changes in Plasma Somatomedin-C levels during Growth Makoto Shimizu, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med. Soc.*, **99**, 504—516 (1990)

Key words somatomedin-C/insulin-like growth factor I, pituitary dwarfism, constitutional delayed growth, sex steroids

Abstract

The factors creating changes in the plasma somatomedin-C (SM-C) levels were analyzed longitudinally during the course of treatment of 83 children with various growth disorders, including 23 with pituitary dwarfism, 20 with constitutionally delayed growth, 9 with Turner's syndrome, 2 with hypogonadism, 2 with precocious puberty, 1 with congenital adrenal hyperplasia, 1 with Leydig cell tumor, 1 with anorexia nervosa, and 25 with insulin-dependent diabetes mellitus. The plasma SM-C was measured by commercial RIA kit. Cross-sectional values from 63 normal children aged 2 to 16 years served as controls. (1) During the course of growth hormone therapy for pituitary dwarfism, SM-C rose gradually with age and a sharp increase was observed prior to puberty, declining after 16 years of age. In contrast, those with gonadotropin deficiency had a low SM-C level throughout their treatment despite normal growth rate. There was no correlation between the pubertal rise in SM-C and growth rate. (2) In patients with Turner's syndrome receiving GH treatment; pubertal patients showed a significantly lower elevation of SM-C than the prepubertal patients. Children with hypogonadism also had a reduced SM-C, while those with hypogonadism (precocious puberty, CAH or Leydig cell tumor) had an increased SM-C level compared to the age matched controls. (3) In the patient with anorexia nervosa, the change in the SM-C level was closely paralleled to the change in her body weight. Of the 25 patients with IDDM, 16 (64%) had a reduced plasma SM-C. There was no correlation between SM-C, their growth rate or their HbA_{1c} concentration. (4) In 20 children with a CDG treated with daily dose of 1 mg stanozolol and 25 μ g thyroxine for 1 year, all exhibited an acceleration of growth velocity (mean, 8 cm/y), however the children below 6 years of age showed no appreciable rise in SM-C; those

aged 6-9 years had a gradual and moderate increase, whereas those aged 10-14 years showed a prompt and marked rise in SM-C. These results indicate that (1) GH plays a crucial role in SM-C production, (2) pubertal rise in plasma SM-C is in part dependent on sex steroids, and (3) cellular energy metabolism and aged-related cellular potency are involved in SM-C production in the tissues.