〔生化学　第79巻　第9号，pp. 853-867，2007〕

総　説

グレリンの構造と機能

児　島　将　康[1]，寒　川　賢　治[2]

グレリンはオーファン受容体GHS-R（growth hormone secretagogue receptor：成長ホルモン分泌促進因子受容体）の内因性リガンドとして，胃から発見されたペプチドホルモンである．グレリンの特徴的な構造は3番目のアミノ酸であるセリン残基の側鎖が，中鎖脂肪酸の*n*-オクタン酸の修飾を受けていることで，しかもこの修飾基がグレリンの活性発現に必須である．グレリンの生理作用として，下垂体からの成長ホルモン分泌促進作用と摂食亢進作用が知られている．グレリンは，末梢からの空腹シグナルを中枢に伝える唯一の液性因子であり，摂食抑制ホルモンのレプチンに拮抗するホルモンである．グレリンの多彩な生理作用を利用して，摂食障害や慢性消耗性疾患への治療応用が試みられている．

1. はじめに

近年，リガンド不明のオーファンGPCR（Gタンパク質共役型受容体：G-protein coupled receptor）発現細胞系を用いたアッセイ法によって，ノシセプチン／オーファニンFQ，オレキシン，メタスチンなどの新しい生理活性ペプチドが発見された[1]．このアッセイ法は，オーファンGPCRを発現させた培養細胞を構築し，組織からのペプチド抽出物を作用させ，セカンドメッセンジャーの変化を測定する方法である．ペプチド抽出物中に内因性リガンドが存在するなら，発現したオーファンGPCRが反応し，cAMPや細胞内カルシウムイオンなどのセカンドメッセンジャーが変化する．このアッセイ法を用いてクロマトグラフィーで展開したペプチドサンプルから，セカンドメッセンジャーを変化させる画分の精製を進め，新しい生理活性ペプチドを単離することができる．

[1] 久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門（〒839-0864 久留米市百年公園1-1）
[2] 国立循環器病センター（〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1）
Structure and function of ghrelin
[1]Masayasu Kojima（Molecular Genetics, Institute of Life Science, Kurume University, Hyakunen-kohen 1-1, Kurume, Fukuoka 839-0864, Japan）
[2]Kenji Kangawa（National Cardiovascular Center Research Insititute, Fujishirodai 5-7-1, Suita, Osaka 565-8565, Japan）

グレリンは，このような数多くあるオーファンGPCRの一つ，GHS-R（growth hormone secretagogue receptor，成長ホルモン分泌促進因子受容体）の内因性リガンドとして発見された[2]．多くの研究グループは脳，下垂体，視床下部などのGHS-Rが発現する組織から内因性リガンドを探していたが，いずれもうまくいかなかった．予想外にこの内因性リガンドは胃から発見され，“グレリン（ghrelin）”と命名された．グレリンは強力なGH分泌促進活性だけでなく，摂食亢進作用を示し，生体のエネルギー代謝調節に重要なホルモンである[3]．

本総説ではグレリンの発見に至る経緯，グレリンの構造と分布，最後にグレリンの生理作用について解説する．

2. GHSとその受容体GHS-Rの歴史

1976年に，C.Y. Bowers（チューレーン大学，ニューオーリンズ）らはオピオイドペプチドの誘導体の一つが，弱いGH分泌促進活性を持つことを見出した[4]．これが最初のGHSで，その構造はTyr-D-Trp-Gly-Phe-Met-NH_2であった．この最初のGHSは直接下垂体細胞に作用してGH分泌を刺激するが，そのGH分泌促進活性は非常に弱く*in vitro*でしか活性がなかった．その後改良を重ねて1984年に強力なGHSであるGHRP-6が合成された[5]．これは*in vitro*だけでなく，*in vivo*でも強いGH分泌促進活性を示したことから臨床応用への道が開かれた．さらに1993年にR.G. Smith（当時，メルク社）らによって最初の非ペプチド性のGHSであるL-692,429が開発され，次いでより

強力なL-163,191（MK-0677）が開発された[6,7]．これらの低分子化合物GHSは経口投与によっても十分なGH分泌促進活性を示し，臨床応用が期待されたが，その後，副作用などの問題から開発は中止された．

GHSの改良とともに，GHSの作用メカニズムも研究されてきた．下垂体からのGH分泌では視床下部GH-releasing hormone（GHRH）による分泌促進作用がよく知られていたが，GHSはGHRH受容体とは別の受容体に作用して，GH分泌を刺激することが明らかになった．GHRHはGHRH受容体に作用して，セカンドメッセンジャーのcAMP濃度を上昇させGH分泌を刺激するが，GHSはGHRHとは別の受容体に作用してセカンドメッセンジャーとして細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させてGH分泌を促進する[8,9]．

1996年になって発現クローニング法によってGHS-Rがクローニングされた[10]．アフリカツメガエル卵へmRNAを注入し，合成GHSのMK-0677による細胞内カルシウムイオン上昇活性をクラゲの蛍光タンパク質エクオリンを使ってモニターすることによって，GHS-RのcDNAクローンがブタの下垂体由来のmRNAから単離された．GHS-Rは予想通り典型的なGPCRで，下垂体，視床下部，海馬などに分布していることがわかった．GHS-Rの同定後，その内因性リガンドが存在することが確実となり，世界中で競ってリガンド探しが行われた．

3. グレリンの発見と構造決定

われわれはGHS-R発現細胞株を樹立し，細胞内カルシウムイオン濃度の上昇活性をモニターすることによって，GHS-Rの内因性リガンド探索を行った．いくつかの組織抽出物をスクリーニングした結果，非常に強い活性が予想外に胃で見つかった．

グレリンはラットの胃のペプチド抽出物から4段階のクロマトグラフィーを経て精製された．2回目のイオン交換クロマトグラフィーでは二つの活性ピークが見られ，それぞれグレリンとdes-Gln14-グレリンがHPLCによって最終精製された[2,11]．グレリンの名は，成長“grow”がインドヨーロッパ基語で“ghre”であることに由来し，さらにこの生理活性ペプチドに成長ホルモン分泌促進活性があることから，“GH”の“release”という意味も含まれている．ヒトおよびラットのグレリンはアミノ酸28残基のペプチドで，3番目のセリン残基の側鎖が脂肪酸のオクタン酸でアシル化修飾されており，しかもこの修飾基がグレリンの活性に必須である（**図1**）．このような脂肪酸で修飾された生理活性ペプチドはグレリン以外にない．

ラットの胃には第2のグレリン分子としてdes-Gln14-グレリンが存在する[11]．des-Gln14-グレリンは14番目のアミノ酸Gln（グルタミン）が欠けているだけで，グレリンと同じくオクタン酸で修飾を受けており，その生理活性の種類や強さはグレリンと同じである．des-Gln14-グレリンは，グレリン遺伝子で14番目のアミノ酸Glnのコドン CAGが，選択的スプライシングのシグナルとして使われることで産生される．このようにラットの胃ではグレリンとdes-Gln14-グレリンの2種類のグレリンペプチドが存在するが，含量としてはdes-Gln14-グレリンはグレリンの1/4程度である．その他にも存在量は少ないが，不飽和脂肪酸*n*-decenoyl（C10:1）基で修飾されたグレリンペプチドも存在する．

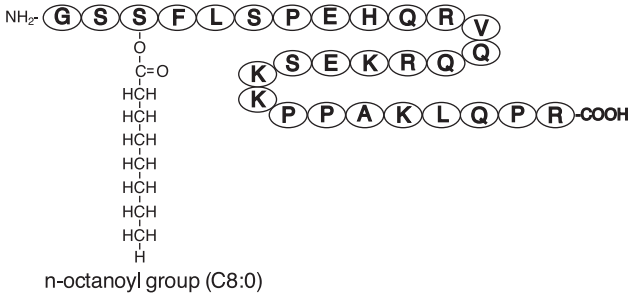

図1 ヒトグレリン（ghrelin）の構造模式図
ヒトのグレリンはアミノ酸28残基からなるペプチドで，3番目のセリンが脂肪酸の*n*-オクタン酸によって修飾を受けており，この修飾基は活性発現に必要である．この図では修飾基のオクタン酸は非常に大きな分子のように見えるが，例えばロイシンやイソロイシンには炭素原子が6個あることを考えると，オクタン酸はほぼアミノ酸1個くらいの大きさである．

ほ乳類のグレリンはヒト，サル，ラット，マウス，モンゴリアンジャービル，ウシ，ブタ，ヒツジ，イヌ，ネコなど多くの種で明らかになっている（**図2**）．ほ乳類のグレリンのアミノ酸配列は非常によく保存されていて，特に活性中心であるN末端側の部分については，N末端から10アミノ酸が同一である．しかもこれまで組織から精製されて構造が明らかにされたほ乳類グレリンは，オクタン酸によって修飾されたグレリンが主要な活性型である．

グレリンはほ乳類だけに存在するのではなく脊椎動物全般に存在しており，鳥類[12]，魚類[13,14]，両生類[15]，は虫類[16]のいくつかの動物種で構造が明らかになっている（図2）．ほ乳類以外の脊椎動物グレリンは，どの動物種でも胃（あるいはそれに相当する器官）で最も多く産生されており，ほ乳類グレリンと同じく活性型は中鎖脂肪酸で修飾されている．修飾に使われる脂肪酸はオクタン酸やデカン酸が多いが，その他の中鎖脂肪酸も使われている．また組織内で脂肪酸修飾基の種類や，アミノ酸残基の長さによって，複数の分子種で存在しているのが特徴である．

4. デスアシルグレリン

脂肪酸修飾を受けていないグレリンの分子型，デスアシルグレリン（アシル化のないグレリンという意味：以下特

に記載のないときには“グレリン”はオクタン酸で修飾されたグレリンを指す）も胃や血中にかなりの量で存在する[17]．血中ではデスアシルグレリンはグレリンよりも多い量が循環している．デスアシルグレリンは，プロセシングによるアシル基が付く前の状態と，産生されたグレリンからアシル基がはずれた状態の両方で存在すると考えられる．

デスアシルグレリンは，GHS受容体（以後グレリン受容体と記載）へは結合しないし，グレリンに見られるGH分泌促進活性はない．しかし最近，デスアシルグレリンに特異的な受容体の存在やデスアシルグレリン特有の生理作用を報告するものが見られる．

Baldanziらは心血管系にグレリン以外のデスアシルグレリン受容体の存在を示唆している[18]．心筋細胞の培養細胞株H9c2ではグレリン受容体の発現は見られないにもかかわらず，グレリンとデスアシルグレリンの両方ともが結合し，心筋細胞のアポトーシスを抑制する．

またグレリンとデスアシルグレリンの両方とも，骨格筋由来の筋芽細胞C2C12の増殖を抑制し，この細胞を分化誘導させ，細胞融合を起こし多核の筋管細胞（myotube）に変化させる[19]．C2C12細胞もグレリン受容体を発現していない．さらに，膵臓のβ細胞株であるHIT-T15やINS-1E細胞に対して，グレリンだけでなくデスアシルグレリンも細胞増殖を刺激し，栄養欠乏やIFN-γ/TNF-αによって誘導されるアポトーシスを抑制する[20]．その他，グレリンとデスアシルグレリンの両方とも，胎児皮膚の培養細胞や，副腎皮質腫瘍由来の細胞株の増殖を刺激すると報告されている[21～23]．

グレリンと同じく，デスアシルグレリンにも摂食亢進作用があるとの報告がある[24]．このデスアシルグレリンによる摂食亢進作用は，脳室内投与のときだけみられ，末梢投与では観察されない．またデスアシルグレリン投与により，視床下部では摂食中枢と考えられる視床下部外側野のオレキシン神経細胞が活性化されるのに対して，グレリン受容体が存在する視床下部弓状核のNPY（neuropeptide Y）神経細胞は活性化されない．またグレリンはオレキシンノックアウトマウスで摂食亢進作用を示すが，デスアシルグレリンはオレキシンノックアウトマウスでは摂食亢進作用を示さなかった．これらの結果から，デスアシルグレリンはオレキシン神経を活性化して摂食亢進作用を現すことが示唆された．

このようにデスアシルグレリンに特異的な，生理作用や受容体の存在について報告されている．しかしながら，ゲノムデータベース上ではグレリン受容体に似通った別のGPCRは見つからないことから，デスアシルグレリンはGPCRを介さない他の分子メカニズムで働いている可能性があり，今後の検討が必要である．

5.　グレリン遺伝子とグレリン前駆体の構造

ヒトのグレリン遺伝子は第3染色体の3p25–26に，またヒトのグレリン受容体遺伝子は同じく第3染色体の3q26–27に存在する[25]．

ヒトのグレリン遺伝子は五つのエキソンからなる[26,27]．5′側非翻訳領域をコードする短い第1エキソンはわずか20bpである．グレリン遺伝子には二つの異なる転写開始部位があり，開始ATGコドンから上流−80と−555である．これによって二種類のグレリンmRNAが生じる．−555から転写されるのが第1エキソンを含んだ五つのエキソンからなり，−80から転写されるのが第2エキソン以下の四つのエキソンからなるmRNAで，後者が主要なmRNAである．

28アミノ酸からなるグレリンは第2および第3エキソンにコードされている．ラットおよびマウスのグレリン遺伝子では，グレリンの14番目のアミノ酸GlnのコドンCAGが選択的スプライシングのシグナルとして使われ，2種類の成熟mRNAとなり，それぞれ構造の異なるグレリンペプチドをコードする[11]．一つは28アミノ酸の主な内在性分子型であるグレリンで，もう一つは先に記した14番目のGlnが欠けた27アミノ酸のdes-Gln-14グレリンである．

ほ乳類のグレリン前駆体のアミノ酸配列は非常によく保存されている．グレリンはシグナルペプチドの直後に存在し，C末端側のプロセシング配列はすべて同じである．ただしこのC末端側のプロセシング配列は通常，塩基性アミノ酸（Arg，Lys）が2個連続したdibasicなものだが，グレリンの場合はPro-Argがシグナルになっている．これは心房性ナトリウム利尿ペプチドのC末端プロセシングと同じシグナルである．このPro-Argを切断するプロテアーゼについては，プロホルモン変換酵素のうちPC1/3（prohormone convertase 1/3）であるといわれている[28]．

6.　グレリンのアシル化修飾酵素

グレリンの脂肪酸修飾を行う酵素はまだ不明である．ほ乳類，魚類，鳥類，両生類において，活性化のためにグレリンがオクタン酸あるいはデカン酸などの中鎖脂肪酸による修飾を受けていることを考えると，この酵素は中鎖脂肪酸を基質とする脂肪酸転移酵素だと考えられる．

われわれは中鎖脂肪酸あるいは中鎖脂肪酸のトリグリセリド体を摂取することによって，グレリンの総濃度（活性型グレリンとデスアシルグレリンの合計量）を変えることなしに，脂肪酸で修飾されたグレリン濃度が増えることを明らかにした[29]．炭素数6～10の中鎖脂肪酸を摂取させると，摂取した脂肪酸と同じ炭素数の脂肪酸で修飾されたグレリン濃度が胃で増加する．面白いことに自然界ではほと

図 2　脊椎動物グレリンのアミノ酸配列比較

グレリンは脊椎動物一般に存在して，N 末端の活性に必要な部分のアミノ酸配列が非常によく保存されている．特に 3 番目のアミノ酸は両生類を除いてセリン残基であり，この部位が脂肪酸（主として *n*-オクタン酸）によって修飾されている．両生類のグレリンは現在 2 種明らかになっており，3 番目のアミノ酸はどちらもトレオニンである．セリンとトレオニンはともに側鎖に OH 基を持つ同族のアミノ酸で，両生類グレリンのトレオニンも脂肪酸によって修飾されている．魚類のグレリンは C 末端がアミド構造になっているが，活性には関係ないようである．文献 3 より改変．

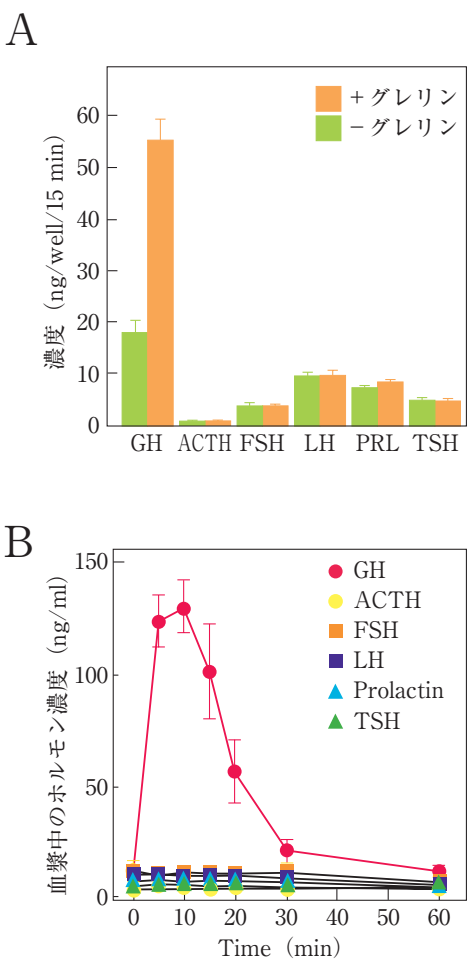

図 4　*in vitro* と *in vivo* におけるグレリンの下垂体ホルモン分泌に対する効果

A：*in vitro* の下垂体初代培養細胞へのグレリンの効果．グレリン添加後に培地中に分泌された下垂体ホルモン濃度を測定した．B：*in vivo* で麻酔下ラットにグレリンを静脈注射したときの血中ホルモンの動態．以上の結果からグレリンは GH 特異的な分泌促進ホルモンであることがわかる．

んど存在しない奇数の炭素数 7 の脂肪酸であるヘプタン酸を摂取させたときに，胃でヘプタン酸によって修飾されたグレリンが産生される．このことから摂取した中鎖脂肪酸は，グレリンの脂肪酸修飾に直接使われることが証明された．もちろん生体内で合成された内因性の中鎖脂肪酸が，通常はグレリン脂肪酸修飾の主な基質である．

ほ乳類の生体内にはいくつかの脂肪酸転移酵素の存在が知られているが，現在のところ中鎖脂肪酸を基質とするものは，脂肪酸の β 酸化で作用するカルニチンオクタノイルトランスフェラーゼだけである．またアミノ酸のセリン残基に脂肪酸を転移する酵素はほ乳類のスフィンゴ脂質の合成に関与するセリンパルミトイルトランスフェラーゼと，植物 *Arabidopsis thalian* のセリン *O*-アシルトランスフェラーゼがある．グレリンの脂肪酸転移酵素は，これらの脂肪酸転移酵素に部分的なホモロジーがあるかもしれない．グレリンの活性には脂肪酸修飾が必須であることから，このグレリンに働く中鎖脂肪酸転移酵素は，グレリンの活性調節に重要な役割をしていると考えられる．その分子的な同定が待たれるところである．

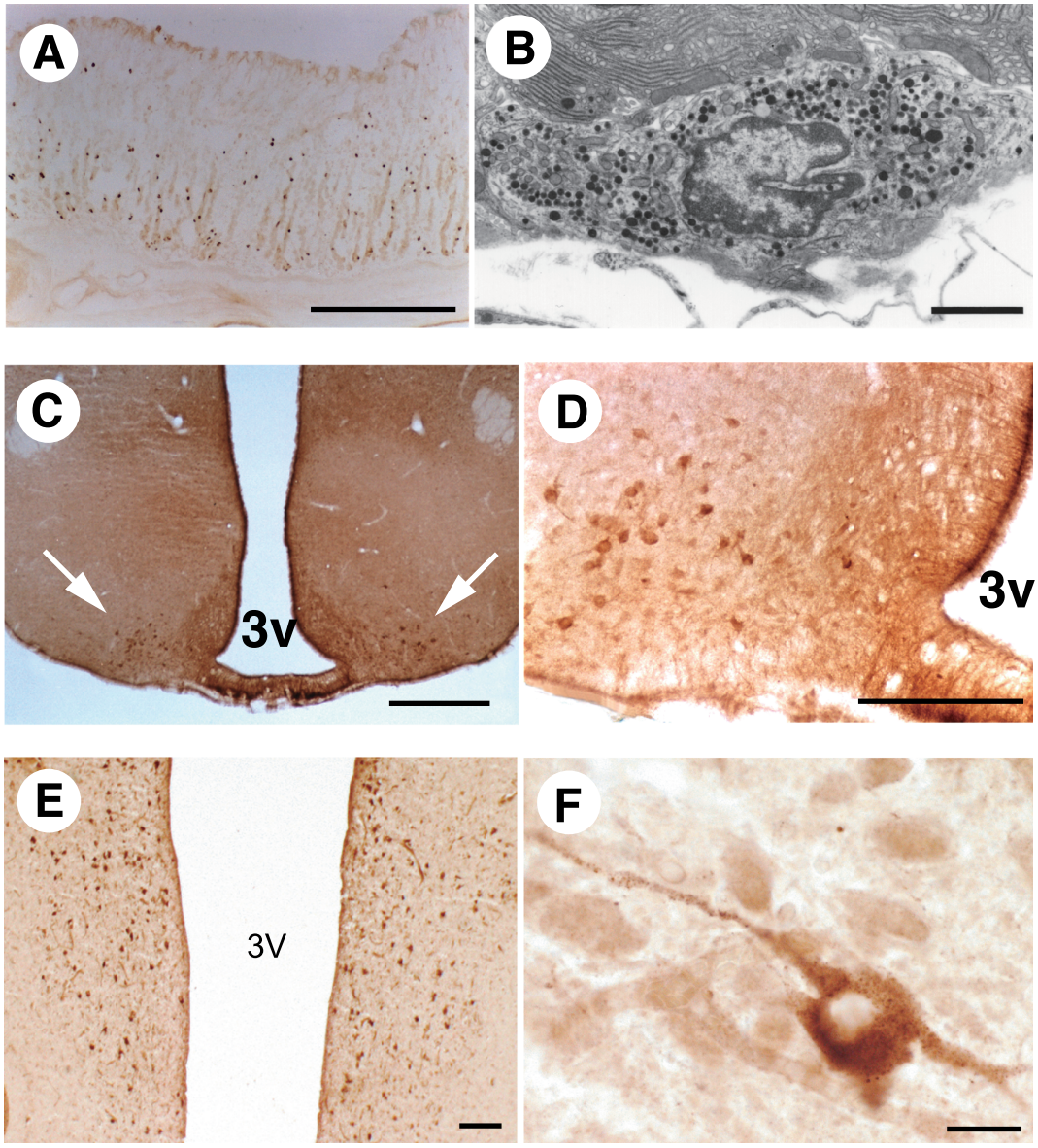

図3　胃と視床下部のグレリン細胞
A：胃のグレリン産生細胞．胃体部の粘膜下層にグレリン産生細胞がある．（bar：40μm）　B：グレリン産生細胞の電子顕微鏡写真．グレリン産生細胞は1950年代半ばより知られていたX/A-like細胞である．この細胞には膵臓のA細胞によく似た分泌顆粒が多数含まれている．（bar：500nm）　C：ラット視床下部のグレリン神経細胞．グレリン神経細胞は矢印で示した弓状核（arcuate nucleus）に存在する．（bar：500μm）　D：弓状核のグレリン神経細胞の拡大写真．（bar：200μm）　E：ブタ視床下部のグレリン神経細胞．ブタ脳にはラットやマウスに比べてグレリン神経細胞が多い．写真はブタ視床下部室傍核（paraventricular nucleus）のグレリン神経細胞．（bar：200μm）　F：グレリン神経細胞の拡大写真．（bar：20μm）
文献2，49，60より改変．

7.　グレリン受容体のファミリー

グレリン受容体（GHS-R）は7回膜貫通領域を持つ典型的なGPCRである．グレリン受容体遺伝子は二つのエキソンからなり，第1エキソンに第1から第5までの膜貫通領域が，第2エキソンには第6から第7膜貫通領域がある[10,30]．グレリン受容体遺伝子からは選択的スプライシングによって二つのmRNAが生じる．一つはGHS-R1aという7回膜貫通のGPCRで，グレリン受容体としてグレリンを結合しその生理作用を現す．これは最初の二つの細胞外ループのシステイン残基の保存，転写後修飾のサイトがいくつか見つかること（*N*-グリコシル化とリン酸化），第3膜貫通部位のすぐ後ろの第2細胞内ループにあるE/DRYモチーフの保存などから，典型的なGPCRである．

一方，GHS-R1b受容体は第1エキソンのみから成り，従って第1から第5膜貫通領域しかないため，グレリン受容体としては機能しない．

グレリン受容体にアミノ酸配列のホモロジーがあるいくつかの受容体があり，この受容体ファミリーにはグレリン，モチリン，ニューロメジンU，ニューロテンシンなどの受容体が含まれている[31,32]．これらの受容体の内因性リガンドはすべて生理活性ペプチドであり，消化管運動を制御するほか，多彩な生理作用を示す．この受容体ファミリーにはオーファン受容体であるGPR39も含まれており[33]，最近この受容体の内因性リガンドがグレリン前駆体から切断されて生じるオベスタチンと報告されたが，否定的な意見が多い[34]．このオベスタチンについては後に詳しく記述する．

さてグレリン受容体はモチリン受容体にアミノ酸配列が最もよく似ている[31]．ヒトの両受容体では52%のアミノ酸が同じである．これらのリガンドであるグレリンとモチリンも部分的に似通っている[35]．モチリンは非常に弱いながらグレリン受容体を活性化するが，逆にグレリンはモチリン受容体を活性化しない[36]．

グレリン受容体は脊椎動物一般で非常によく保存されている．例えばフグのグレリン受容体（pufferfish GHS-R）はヒトやラットのグレリンに反応する[37]．このようにグレリンとその受容体が進化的に非常によく保存されていることは，グレリンのシステムが生体内で重要な役割を果たしてきたことを示唆している．

グレリン受容体のミスセンス変異による家族性低身長の報告がある[38]．この変異はアミノ酸の1残基置換をもたらし（Ala204→Glu），細胞外領域のアミノ酸に電荷を与え，グレリンの結合が非常に悪くなっている．

8. グレリンとモチリン

先に記したようにグレリン受容体はモチリン受容体に最もよく似ており，そのリガンドであるグレリンとモチリンもアミノ酸配列が部分的に似ている[35]．モチリンは胃・消化管で合成分泌される胃の蠕動運動を刺激する生理活性ペプチドである．28アミノ酸残基のグレリンと19アミノ酸残基のモチリンを比較すると，八つのアミノ酸残基が保存されている．実際にわれわれがグレリンを発表したすぐあとに，フランスのTomasettoらは胃からモチリン関連ペプチドmotilin-related peptideを同定した[39]．彼らはディファレンシャルスクリーニングによって胃の粘膜層に限局して発現している未知のタンパク質をコードするcDNAクローンを単離した．このcDNAクローンがコードするタンパク質がグレリン前駆体に他ならない．彼らはアミノ酸配列からグレリンの19–20番目のアミノ酸残基Lys-Lysでプロセシングが起こると考え，シグナルペプチドの後ろの18アミノ酸のペプチドを内因性分子型と仮定した．しかし彼らがシグナルと仮定したLys-Lysは胃の細胞ではプロセシングを受けていない．また遺伝子から推定したアミノ酸配列だけでは，当然ながら脂肪酸修飾は推定できなかった．生体内に存在する分子型を明らかにするうえで，実際に組織から精製して確認することの重要さがわかる．

興味深いことにグレリンとモチリンのアミノ酸配列のホモロジー部位は，脂肪酸で修飾された活性中心のN末端部分にはなく，どちらかというと分子の中央部に見られる．

グレリンとモチリンは胃での機能も似ていて，どちらも胃酸分泌や胃の蠕動運動を刺激する[40]．このようにグレリンとモチリンとは構造的にも機能的にも似通ったペプチドで，おそらくは共通の祖先ペプチドから進化してきたものと思われる．

9. グレリンの分布

(1) 血中のグレリン

グレリンは胃から分泌されて血液中を流れ別の組織に作用する，典型的なホルモンである．グレリンは血中では2種類の主要な分子型で存在する[17]．オクタン酸修飾のグレリンと，脂肪酸修飾基のないペプチドだけのデスアシルグレリンである．ヒト血漿のグレリン濃度はオクタン酸で修飾されたグレリンが約10–20 fmol/ml，オクタン酸で修飾されたグレリンとデスアシルグレリンを合わせた総グレリン濃度が100–150 fmol/mlである．つまり脂肪酸修飾のないデスアシルグレリン濃度が活性型のものより10倍程度多く存在する．

グレリン分泌調節の最も重要なファクターは摂食である．血中グレリン濃度は空腹時に上昇し，食事の摂取後に減少する[41,42]．どのような仕組みで空腹や満腹のシグナルがグレリン分泌調節に関与するのかは，はっきりとは分かっていないが，血中グルコース濃度が重要だと考えられる．経口グルコース投与やグルコースの血中投与によって，血中グレリン濃度は低下する[43,44]．飲水によって胃を拡張させても血中グレリン濃度は変化しないことから，単なる胃の伸展刺激ではグレリンの分泌は変化しない．

血中グレリン濃度はBMI（body mass index）と負の相関を示す[44~47]．一般に肥満者では血中グレリン濃度が低く，やせのヒトでは高い傾向にある．また慢性疾患による体重減少や減量によって血中グレリン濃度は上昇する．血中グレリン濃度は体脂肪に反比例し，肥満になりやすいピマインディアンでは低い[48]．

(2) 胃および消化管でのグレリン

すべての脊椎動物で，グレリンは主として胃で産生される．ほ乳類の胃のグレリンは，噴門部よりも胃体部に多く，グレリン含有細胞は胃粘膜層にある内分泌細胞の一種

である（図3A，B）[49]．

胃腺では，ECL細胞，D細胞，EC（enterochromaffin）細胞，X/A-like細胞の4種類の内分泌細胞が同定されている．これらの細胞の分泌顆粒中の内容物は，ECL細胞はヒスタミン，D細胞はソマトスタチン，EC細胞はセロトニンが主要なものだが，X/A-like細胞がグレリンを含んでいる（図3B）．このX/A-like細胞はヒトやラットの胃では内分泌細胞の約20%を占め，分泌顆粒を多く含んでいる．しかし胎児の胃ではこのX/A-like細胞はほとんど見られず，生後食事を経口から摂取し始めるとその数が増加していく[50]．そのため胃組織中のグレリン濃度は胎児では極めて低く，生後，母乳摂取を始めるとグレリン濃度が上昇していく．なお，胎児血中のグレリンの多くは胎盤で産生されたものに由来すると考えられている．

グレリンの脂肪酸修飾部位を特異的に認識する抗体で胃を免疫染色するとX/A-like細胞が染まることから，胃の分泌顆粒中ですでにグレリンは脂肪酸修飾を受けていることがわかる．胃のペプチド抽出物から内因性のグレリン分子型を調べると，グレリンは胃においても主として2種類の分子型で存在する[17]．オクタン酸修飾のグレリンと，脂肪酸修飾基のないペプチドだけのデスアシルグレリンである．

胃から下部の消化管においては胃に比べると非常に低濃度ながら存在し，十二指腸，小腸，大腸と下部にいくに従ってグレリン含量は減少していく[17,49]．これらの組織でも胃と同じく，グレリンは脂肪酸修飾（おもにオクタン酸による）を受けた活性型と，デスアシルグレリンの2種類で存在する．

(3)　膵臓のグレリン

免疫組織染色のデータや，膵臓のペプチド抽出物の解析から，グレリンは膵臓でも合成され，血中に分泌されている[51]．インスリンの血中濃度と同じく，グレリンの血中濃度は，膵静脈のほうが膵動脈よりも高い[52]．膵臓のグレリンは，ランゲルハンス島のα細胞に存在する[51]．また新しく同定されたε細胞にも存在する[53]．このε細胞は通常その数は極めて少ないが，膵臓の発生に重要な転写因子のNkx2.2やPax4が欠損した場合にはα細胞やβ細胞が欠失して，グレリンを含んだε細胞が著明に増加する．

膵臓のグレリンは胎児の発育に従って劇的に変化する．膵臓のグレリン産生細胞は妊娠中期から生後すぐにかけて多く，内分泌細胞の約10%を占める[54]．そして生後は次第に減少していく．胎児においては膵臓のグレリンは，胃のグレリンよりもmRNAレベルとペプチドレベルの両方で6〜7倍多い．

(4)　下垂体のグレリン

下垂体のGH分泌細胞はグレリンのターゲット細胞である．下垂体の初代培養細胞にもグレリン受容体が発現しており，確かにグレリンによって細胞内カルシウムイオン濃度が上昇して，GH分泌が刺激される[2,30,55]．またグレリン受容体が下垂体細胞に発現しているだけでなく，グレリンも下垂体に存在する[56,57]．アデノーマ，ACTH細胞腫瘍，性腺刺激ホルモン細胞腫瘍などの下垂体腫瘍はグレリンを産生し，そしておそらく分泌していると考えられる．

(5)　脳のグレリン

グレリン受容体は視床下部と下垂体にかなり発現しているので，その内因性リガンドも当初，視床下部領域に存在するに違いないと考えられてきた．しかし，実際に脳内のグレリン含量はごく少なく，しかも分布はかなり限局していた[17]．このため脳をターゲットにしてリガンドを探索していたグループはいずれもリガンドを見つけることができず，胃を探したわれわれだけがグレリンの発見に成功した．脳内のグレリン神経細胞は視床下部弓状核や第3脳室周囲に見られる（図3C〜F）[2,58,59]．その含量は動物種によって開きがあるようで，ブタ視床下部ではグレリン神経細胞が免疫染色ではっきりと同定することができる[60]．しかし，その存在量が少ないため，視床下部グレリンがはたして胃と同じくオクタン酸で修飾されているのか，また絶食等によってどのように変化するのかなどは不明なままだった．われわれはHPLCとグレリンRIA（ラジオイムノアッセイ）系を組み合わせて視床下部グレリンの同定とその合成・分泌調節を明らかにした．

ラット視床下部から抽出したペプチド画分をHPLCによって展開し，RIAによって分子型を調べると，視床下部グレリンはおもに2種類の分子型で存在していた[60]．2種類の分子型は胃と同じで，一つはグレリンの主要な活性型であるオクタン酸で修飾されたグレリン，もう一つは脂肪酸修飾のないデスアシルグレリンであった．

次にわれわれは絶食による視床下部グレリンの変化を調べた[60]．胃においては絶食によってグレリンmRNAの発現量は増加するが，視床下部においては絶食によってグレリンmRNA量は逆に減少した．NPY，AgRP（agouti-related protein），MCH（melanin-concentrating hormone）などの絶食によって増加する神経ペプチドのmRNA発現も調べたが，これらは文献どおり絶食によって増加したことから，サンプルや解析には問題がないと思われる．これまでの研究で，絶食によって血中のグレリン濃度は増加するが，胃でのグレリン含量は減少することが報告されている．これは絶食時には胃からのグレリンの分泌量が多くなるためと考えられてきた．視床下部グレリンのペプチドレベルでの変化を調べたところ，視床下部においてもグレリン濃度は

絶食によって減少した．これは視床下部においてもグレリンが絶食時に分泌されていることを示唆している．

2-DG（2-deoxy-D-glucose）はグルコース消費を抑制して，摂食を刺激する．この2-DGを投与して，ラットが過食状態になっているときに，視床下部グレリンがどのように変化しているか調べた[60]．2-DG投与によって摂食量は増加するが，2-DG投与によって視床下部グレリンのmRNAは減少した．一方，胃のグレリンmRNAは2-DG投与によっても変化がなかった．視床下部のNPY，AgRP，MCHなどの摂食亢進性のペプチドは2-DG投与によってmRNAが増加した．

このように視床下部グレリンは，胃のグレリンや他の視床下部性の摂食亢進ペプチドとは異なった合成・分泌の調節機構を受けていることが明らかになった．

10. グレリンの生理作用

グレリンには二つの主要な生理作用がある．一つは下垂体からの成長ホルモン分泌促進作用であり，もう一つは視床下部の摂食調節領域に作用して食欲を高め摂食活動を刺激する作用である．その他にもグレリンには多彩な生理作用がある．

(1) グレリンの成長ホルモン分泌促進作用

グレリンは*in vitro*，*in vivo*で強力な成長ホルモン分泌促進活性を示す（**図4**）[2]．図4Aは下垂体初代培養細胞にグレリンを作用させたときに培地中に分泌された下垂体ホルモンの濃度，また図4Bはグレリンをラットに静脈注射したときの血中のホルモン濃度の動態を示してある．*in vitro*と*in vivo*の両方において，グレリンによってGHだけが上昇し，ACTH，TSH，prolactin，FSHの濃度は増加しなかった．このようにグレリンはGH特異的な放出ホルモンである．

グレリンはヒトにおいても強力なGH分泌促進作用を示す．Arvatらは，ヒトにグレリンの静脈投与を行い，いずれのボランティアでも速やかなGH濃度の上昇を認め，GH濃度の上昇は2時間近く持続することを明らかにした[61]．グレリンのGH分泌促進活性は，GHRHよりも強力であった[62]．また投与量を多くするとACTH，コルチゾール，プロラクチンの上昇が認められた．LH，FSH，TSHレベルは全く変化しなかった．

グレリンはまた，脳室内投与によっても強力なGH分泌促進作用を示す[63]．ラットの脳室内投与によるGH分泌は，グレリン投与量が10 pmolから認められる．これは脳室内グレリン投与が，血中投与よりもはるかに少ない量で効果的なGH分泌を促進することを示している．

下垂体からのGH分泌を促進する生理活性ペプチドとしては視床下部から放出されるGHRHが知られているが，グレリンとGHRHとの同時投与は相乗的な効果がある[64]．つまりグレリン，あるいはGHRHの単独投与よりも，両方の同時投与の方が血中のGH濃度上昇が著しい．

(2) グレリンは食欲を刺激し，摂食量を増やすホルモンである

末梢組織から分泌されて中枢の視床下部摂食調節領域に作用する摂食調節ホルモンとして，グレリンとレプチンが代表的なものである．グレリンは摂食を亢進し，レプチンは摂食を抑制するように，両者の生理作用は逆であり，しかも視床下部での摂食調節の分子機構においてもメカニズムは逆である．

胃から発見されたグレリンは，末梢からの空腹シグナルを中枢に伝える現在唯一の液性因子である．グレリンを中枢投与すると摂食量の増加がみられ，持続投与によって体重が増加する（**図5**）[65~68]．グレリンは静脈投与や皮下投与によっても摂食亢進作用を起こす．ヒトのボランティアにグレリン（5.0 pmol/kg/min）を静脈注射し自由摂食量を調べると，グレリン投与群全員で摂食量が平均28%増加した[69]．

グレリンの示す強力な摂食亢進作用は視床下部弓状核がターゲット組織であり，グレリンは視床下部弓状核のNPY/AgRPニューロンを活性化する（**図6**）[67,70,71]．中枢に投与されたグレリンはNPY/AgRPニューロンでのc-Fos発現を誘導し，NPY/AgRP mRNA発現量を増加させる．一方，NPY受容体1型の阻害剤の投与によってグレリンの摂食亢進作用はブロックされ，AgRP阻害剤，抗NPY抗体，抗AgRP抗体の投与などによってもグレリンの摂食亢進作用はブロックされる．さらに免疫組織染色においてグレリン細胞がNPY/AgRPニューロンに直接神経線維を送っていることが確認されている[59]．以上のことから，グレリンは視床下部弓状核のNPY/AgRPニューロンを刺激し，NPY/AgRPの合成・分泌を増加させることによって摂食亢進作用を発揮する．このことはNPY/AgRPダブル欠損マウスではグレリンの摂食亢進作用が全くみられないという実験結果からも裏付けられる[72]．また摂食抑制ペプチドであるPOMC（pro-opiomelanocortin）に対して，グレリンは弓状核POMCニューロンを抑制して摂食抑制ペプチドの放出を阻害する．

グレリンと生理作用が拮抗するレプチンはグレリンとは逆に，NPY/AgRPニューロンを抑制し，POMCニューロンを刺激することで摂食抑制作用を現す（**図6**）[73,74]．最近，AMP-activated protein kinase（AMPK）が視床下部の摂食調節に関与していることが示されているが，グレリン投与は視床下部でのAMPK活性を増加させ，レプチンはAMPK活性を減少させる[75,76]．このようにグレリンとレプチンとは，生理作用だけでなく，視床下部における分子メカニズ

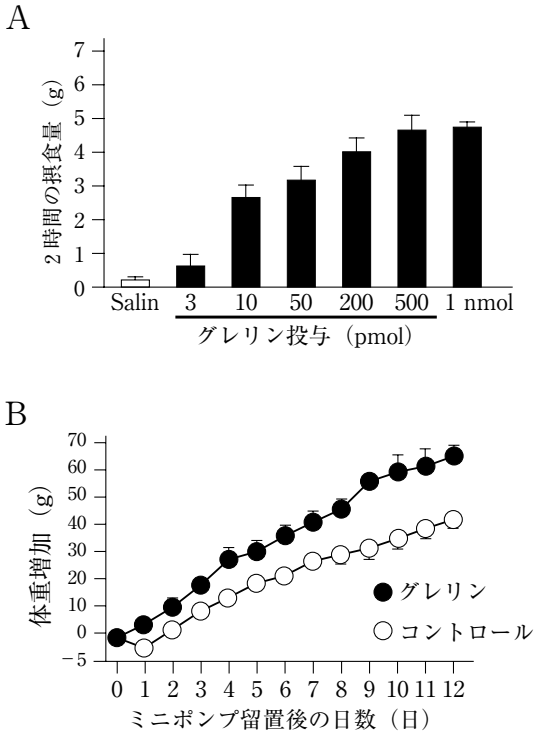

図5　グレリンの摂食亢進作用
A：ラット脳室内へグレリンを投与したときの2時間の摂食量．B：ミニポンプによってグレリンを脳室内に持続投与（250 pmol/日）したときの体重増加．グレリンは強力な摂食亢進ホルモンである．

ムにおいても拮抗するホルモンである．

(3)　グレリンの作用経路　末梢から中枢へ

グレリンは中枢投与だけでなく，静脈注射や皮下投与などの末梢投与によっても，視床下部弓状核の神経細胞を活性化し[77~79]，摂食亢進作用を示す[69,80]．一般に血中などの末梢に投与された生理活性ペプチドは血液脳関門を通過しないが，胃から分泌されたグレリンはどのようにして視床下部の摂食中枢に作用するのだろうか？

迷走神経末端の神経節にはグレリン受容体が発現しており，末梢，特に胃から分泌されたグレリンは，迷走神経を刺激して中枢に摂食亢進のシグナルを伝達するものと考えられる[80]．このことは迷走神経切断や，カプサイシンによる求心性迷走神経破壊によって，グレリンの摂食亢進作用が抑制されることから裏付けられる．迷走神経切断によって血中グレリン濃度に変化は生じないが，横隔膜下での迷走神経切断やアトロピン処理で迷走神経をブロックすると，空腹時の血中グレリン濃度上昇は消失してしまう．

さらに迷走神経で伝えられた末梢グレリンの情報は，孤束核（nucleus tractus solitarius：NTS）に伝えられ，ノルアドレナリンを増加させて視床下部の弓状核を刺激する[81]．NTSの吻側で中脳を切断したり，ドーパミンβ-ヒドロキシラーゼ（ノルアドレナリンの合成酵素）を発現している後脳の神経細胞をトキシンによって除くと，グレリンによる摂食作用はなくなる．これらのことから，NTSのノルアドレナリン系が末梢グレリンによる摂食亢進作用に必要であると考えられる．このようにグレリンは胃から血中に分泌されて，末梢の迷走神経を刺激し，中枢に摂食亢進の情報を伝えている．

(4)　グレリンと摂食異常症

神経性食欲不振症（anorexia　nervosa：AN）はやせ，食行動（小食，多食，隠れ食いなど）の異常，体重や体型についてのゆがんだ認識，女性の無月経などの症状を示すが，器質的疾患や精神疾患のないものである．血中グレリン濃度はANの重症度と相関がある[82~84]．AN患者でやせて症状が重い患者ほど血中グレリン濃度が高く，症状の改善とともにグレリン濃度は正常値にもどる．おそらくは疾患によるやせの結果として，グレリン濃度の上昇が起こるのだろうが，ANの病態とは深い関連がありそうだ．たとえば，AN患者では成長ホルモン濃度が上昇している例が多いが，高い血中グレリン濃度がその原因かもしれない．また高いグレリン濃度によって上昇したACTH，プロラクチン，コルチゾールなどが無月経や行動変化を起こしているのかもしれない．

その他の血中グレリン濃度が高値になる疾患としては，小児遺伝子疾患のプラダーウィリー症候群や[85,86]，がんや慢性疾患によるカヘキシア状態が知られている[87,88]．プラダーウィリー症候群は第15染色体の遺伝子異常が原因で過食を示す疾患であり，グレリンがどのような仕組みで高値となるのか興味深いが，そのメカニズムは不明である．

また近年高度肥満者の治療方法として胃バイパス（gastric　bypass）手術が有効な選択肢になっている．バイパス手術によって多くの患者で効果的に体重が減少するが，これには術後のグレリン濃度の低下も関与している可能性がある．胃バイパス手術を受けた患者では，血中グレリン濃度が減少し，食事によるグレリン濃度の変化も消失すると報告されている[89]．しかし，グレリン濃度の変化はないとする報告もあり，さらに検討が必要である．

(5)　グレリンの心血管作用

グレリンの心血管作用についていくつか報告されている．グレリンとグレリン受容体のmRNAは心臓や大動脈に発現しており，健常者にグレリンを静脈注射すると，心拍数の変化なしに比較的長時間持続する血圧低下が見られる[90,91]．また心係数（cardiac index）や一回拍出係数（stroke volume　index）が上昇する．慢性心不全ラットにグレリンを投与すると，心拍出量（cardiac　output），一回拍出量（stroke volume），左心室の最大圧変化率（dP/dt［max］）な

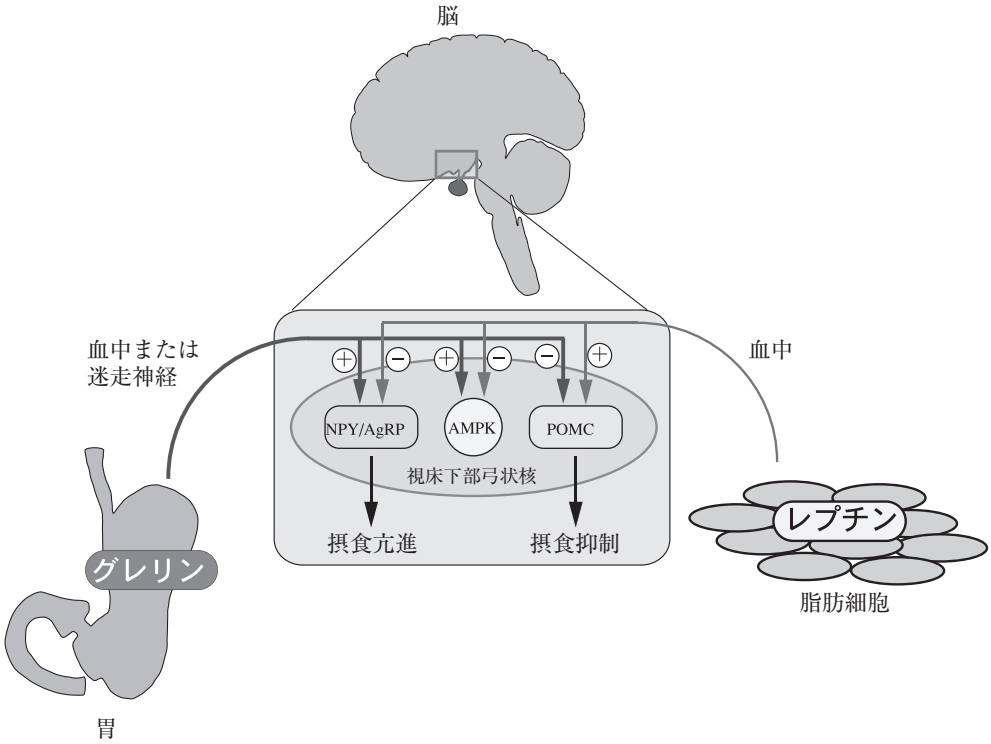

図6 視床下部弓状核におけるグレリンとレプチンの作用
グレリンはNPY/AGRPニューロンを活性化し，レプチンは逆に抑制する．またPOMCとAMP-activated protein kinase（AMPK）に関しても両ホルモンは逆の作用をする．このように，グレリンとレプチンとは生理作用だけでなく，その摂食調節のメカニズムにおいても逆の作用をする．

どが増加する．さらに非梗塞領域の心筋後壁の拡張期の厚さが増加し，左心室拡大抑制，左心室短縮率（fractional shortening）の増加，などが観察される．このようにグレリンは左心室の機能不全を改善し，左心室のリモデリングや心不全によるカヘキシアの改善を促進する[92]．

グレリンによる平均血圧の低下は，グレリンの循環器系への直接作用ではなく，延髄孤束核への作用を介したものだと考えられている[93]．グレリンを孤束核に注入すると，平均血圧や心拍数の低下を起こす．これはグレリン注入によって交感神経活動が抑制されることに起因する．グレリンはまた心筋の初代培養細胞，H9c2心筋細胞，血管内皮細胞などのアポトーシスを抑制することが報告されている[18,94]．

このようなグレリンの心血管作用を利用して心不全や，心不全によるカヘキシアへの治療応用が試みられている．

(6) グレリンの消化管作用

グレリンの静脈投与によって容量依存的に胃酸分泌と胃の運動亢進が起こる[95]．グレリンによる胃酸分泌刺激の最大効果は，ヒスタミンの皮下投与とほぼ同等の強さである．このグレリンの効果はアトロピンや両側の頚部迷走神経切断によって消失するが，ヒスタミンH2受容体アンタゴニストによって影響を受けない．グレリンの脳室内投与によっても胃酸分泌が増加することから，中枢性の作用が考えられる[96]．グレリンの脳室内投与によって孤束核と迷走神経背側運動核でc-Fosの発現が見られることから，グレリンによる胃酸分泌亢進作用は迷走神経を介したものだろう．

(7) グレリンと膵臓機能

グレリンがインスリン分泌を刺激するのか，あるいは抑制するのかについては，議論が分かれている．この原因としては，動物種による反応性の違いや実験デザインによるものが考えられる．血中グレリンや血中インスリン濃度はグルコース濃度の影響を受ける．高グルコース濃度はグレリン分泌を抑制し，インスリン分泌を促進する．従って実験系のグルコース濃度が重要だと思われる．伊達らは，高グルコース濃度（8.3 mM）ではグレリン投与は膵島培養細胞からのインスリン分泌を刺激するが，標準レベルのグルコース濃度（2.8 mM）ではグレリンはインスリン分泌に影響ないことを報告している[51]．出崎らは逆に，グレリン投与がインスリン分泌を抑制し，グレリン受容体の阻害剤やグレリン中和抗体の投与が還流膵臓からのグルコース誘導性のインスリン分泌を刺激することを報告している[97]．さらに彼らはグレリンノックアウトマウスにおいては膵島からのグルコース誘導性のインスリン分泌が亢進し

ていることを示している[52]．グレリンノックアウトマウスでは膵島の密度，サイズ，インスリン含量，インスリンmRNAレベルは変化がない．グレリン欠損によって膵臓でのUCP2（uncoupling protein-2）mRNA発現が減少していることから，グレリンは膵臓でのUCP2の発現やインスリン感受性をコントロールすることによってグルコースホメオスタシスを調節しているのだろう．

(8) グレリンと学習記憶

学習記憶に関するグレリンの役割が報告されている[98,99]．Dianoらによると，血中を循環するグレリンが海馬領域に入り，海馬体の神経細胞に結合して，そこで樹状突起でのシナプス形成と長期増幅を促進する．このグレリンによるシナプス形成変化は空間学習記憶の向上と関連する．逆にグレリンノックアウトマウスではCA1領域での樹状突起のシナプスの数が減少しているし，行動的な記憶テストが障害されている．そしてこのシナプス減少と記憶テストの障害は，グレリン投与によってすみやかに回復すると報告されている．しかしこの結果は，血中から血液脳関門を通過して脳内に入っていくペプチドは極めて少ないことから，はたして本当に血中からグレリンが海馬に到達して，直接海馬体の細胞に作用するのか疑問である．迷走神経をはじめとする，間接的な神経経路を介する作用も考えられるのではないだろうか．

11. オベスタチンについて

2005年11月にスタンフォード大学のHsueh博士たちのグループから興味深いペプチドホルモンがScience誌に報告された[34]．その摂食抑制作用から，ラテン語の“obedere”（むさぼり食う）と“statin”（抑制する）を組み合わせて“obestatin”と名付けられた．彼らの論文で驚いたことには，このペプチドホルモンがグレリン前駆体から切り出されて産生され，しかもグレリンとは逆の摂食抑制作用を示すことである．つまり摂食亢進のグレリンと摂食抑制のオベスタチンという，全く逆の働きをする摂食調節ホルモンが一つの前駆体に含まれている（**図7**）．彼らは，グレリン欠損マウスで摂食量や摂食行動に異常が見られないのは，オベスタチンを同時にノックアウトしているためで，互いの欠損効果が相殺されて摂食活動が正常のままであるからだと主張している．しかも，このオベスタチンは，オーファン受容体のGPR39の内因性リガンドであるというのだ．GPR39はグレリン受容体やその近縁の受容体であるモチリン，ニューロテンシン，ニューロメジンU受容体とのホモロジーが高く，これらは共通の祖先受容体から進化してきたファミリーである[33]．そのためオベスタチンがGPR39のリガンドであることは考えられなくもない．しかし以下のような理由から，筆者らを含めオベスタチンを疑問視する意見が多くある．

ほ乳類のグレリン前駆体は非常によく保存されているので，オベスタチン部分のアミノ酸配列も確かによく保存されている．しかし，脊椎動物一般にまで範囲を広げると，ほ乳類以外ではグレリンの部分はアミノ酸配列がよく保存されているのに対して，このオベスタチン部分のアミノ酸配列はほとんど保存されていない．またHsuehらはGPR39への結合・活性化にはC末端のアミド構造が不可欠であると報告している．確かにほ乳類のオベスタチン部分のペプチドは共通してC末端がLeuアミドになりうる．しかし，ニワトリと魚のマスでは，ほ乳類のアミド構造であるLeuの位置が同じくLeuと保存されているが，その直後のアミノ酸がアミド供与体のGlyではなくアミド構造にはなりえない．また他の動物種のオベスタチン部分にはアミド構造になりうる部分が見あたらないし，ペプチド前駆体の典型的なプロセシング部位も不明である．

さらにグレリンとオベスタチンが同一の前駆体からプロセシングされるのなら，グレリンとオベスタチンの合成・分泌挙動はほぼ一致するはずである．しかし，絶食によって血中グレリン濃度は増加するのに対してオベスタチン濃度には変化がない．またグレリンとオベスタチンの胃および血中濃度は，グレリンの方がずっと多いことを考えると，オベスタチンは正常なプロセシング過程によって生じるものではなく，非特異的な酵素消化によってグレリン前駆体から生じる断片ではないだろうか？

このオベスタチンは新しい摂食抑制ペプチドとして注目を浴びているが，オベスタチンのGPR39に対する反応や摂食抑制効果については，われわれを含め，現在のところ世界中のいずれのグループもその再現に成功しておらず，否定的な論文が数多くでている[100~102]．2007年2月になってオベスタチンの最初の論文を掲載したScience誌にも，オベスタチンはGPR39の内因性リガンドでないとする報告とともに，それへのHsuehたちの歯切れの悪い返答が掲載された[103,104]．オベスタチンの問題が決着するにはもう少し時間がかかると思われる．

12. 終わりに

筆者らがグレリンを発見して7年が経過した．幸いなことに世界中でグレリンの基礎・応用研究が活発に行われている．本稿では述べることができなかったが，グレリンは現在，摂食障害やカヘキシアの治療薬に向けての臨床試験が行われている（**図8**）．将来，グレリンがこれらの疾患の治療薬として使われるようになったなら，発見者として望外の喜びである．

謝辞

グレリンの発見はこの総説の著者である児島と寒川が，

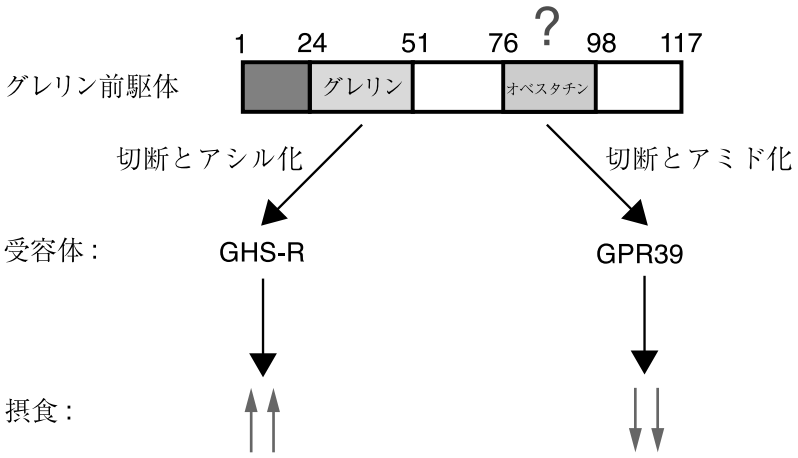

図7 （仮説）ラットのグレリン前駆体には，摂食亢進性のグレリンと，摂食抑制性のオベスタチンが存在する
グレリンはグレリン受容体（GHS-R：growthhormone secretagogue receptor）に作用し，オベスタチンはリガンドが不明であったオーファン受容体GPR39に作用すると報告された．

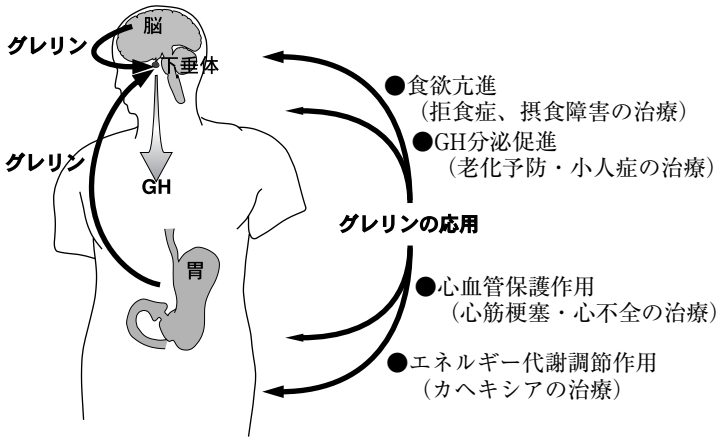

図8 グレリンの応用
グレリンの多彩な生理作用から，いろいろな臨床応用が考えられる．

国立循環器病センター研究所で行ったものです．当時，京都大学大学院生だった細田洋司くん（現・国立循環器病センター研究所）とともに，3人で寝食を忘れ未知の生理活性ペプチドに挑んでいたことを懐かしく思います．グレリンの研究では，多くの同僚や共同研究者に支えられてここまでやってきました．特に国立循環器病センター，宮崎大学，京都大学，久留米大学において研究を支えてくれた多くの研究者，学生，テクニシャンの方に感謝します．また，なんといってもわたし（児島）の研究人生の師でもある松尾壽之先生には，大学院時代から今日まで，まったく結果が出ない時期にもずっと支援をしていただき，なんと感謝していいのかわかりません．本当にありがとうございました．

文　　献

1）Civelli, O., Saito, Y., Wang, Z., Nothacker, H.P., & Reinscheid, R.K.（2006）*Pharmacol. Ther*., **110**, 525–532.
2）Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., & Kangawa, K.（1999）*Nature*, **402**, 656–660.
3）Kojima, M. & Kangawa, K.（2005）*Physiol. Rev*., **85**, 495–522.
4）Bowers, C.Y., Momany, F., Reynolds, G.A., Chang, D., Hong, A., & Chang, K.（1980）*Endocrinology*, **106**, 663–667.
5）Bowers, C.Y., Momany, F.A., Reynolds, G.A., & Hong, A.（1984）*Endocrinology*, **114**, 1537–1545.
6）Cheng, K., Chan, W.W., Butler, B., Wei, L., Schoen, W.R., Wyvratt, M.J., Jr., Fisher, M.H., & Smith, R.G.（1993）*Endocrinology*, **132**, 2729–2731.
7）Smith, R.G., Cheng, K., Schoen, W.R., Pong, S.S., Hickey, G., Jacks, T., Butler, B., Chan, W.W., Chaung, L.Y., Judith, F., &

et al. (1993) *Science*, **260**, 1640–1643.
8) Blake, A.D. & Smith, R.G. (1991) *J. Endocrinol*., **129**, 11–19.
9) Akman, M.S., Girard, M., O'Brien, L.F., Ho, A.K., & Chik, C.L. (1993) *Endocrinology*, **132**, 1286–1291.
10) Howard, A.D., Feighner, S.D., Cully, D.F., Arena, J.P., Liberator, P.A., Rosenblum, C.I., Hamelin, M., Hreniuk, D.L., Palyha, O.C., Anderson, J., Paress, P.S., Diaz, C., Chou, M., Liu, K.K., McKee, K.K., Pong, S.S., Chaung, L.Y., Elbrecht, A., Dashkevicz, M., Heavens, R., Rigby, M., Sirinathsinghji, D.J., Dean, D.C., Melillo, D.G., Patchett, A.A., Nargund, R., Griffin, P.R., DeMartino, J.A., Gupta, S.K., Schaeffer, J.M., Smith, R.G., & Van der Ploeg, L.H. (1996) *Science*, **273**, 974–977.
11) Hosoda, H., Kojima, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (2000) *J. Biol. Chem*., **275**, 21995–22000.
12) Kaiya, H., Van Der Geyten, S., Kojima, M., Hosoda, H., Kitajima, Y., Matsumoto, M., Geelissen, S., Darras, V.M., & Kangawa, K. (2002) *Endocrinology*, **143**, 3454–3463.
13) Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Moriyama, S., Takahashi, A., Kawauchi, H., & Kangawa, K. (2003) *Endocrinology*, **144**, 5215–5226.
14) Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Riley, L.G., Hirano, T., Grau, E.G., & Kangawa, K. (2003) *J. Endocrinol*., **176**, 415–423.
15) Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Koda, A., Yamamoto, K., Kitajima, Y., Matsumoto, M., Minamitake, Y., Kikuyama, S., & Kangawa, K. (2001) *J. Biol. Chem*., **276**, 40441–40448.
16) Kaiya, H., Sakata, I., Kojima, M., Hosoda, H., Sakai, T., & Kangawa, K. (2004) *Gen. Comp. Endocrinol*., **138**, 50–57.
17) Hosoda, H., Kojima, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **279**, 909–913.
18) Baldanzi, G., Filigheddu, N., Cutrupi, S., Catapano, F., Bonissoni, S., Fubini, A., Malan, D., Baj, G., Granata, R., Broglio, F., Papotti, M., Surico, N., Bussolino, F., Isgaard, J., Deghenghi, R., Sinigaglia, F., Prat, M., Muccioli, G., Ghigo, E., & Graziani, A. (2002) *J. Cell Biol*., **159**, 1029–1037.
19) Filigheddu, N., Gnocchi, V.F., Coscia, M., Cappelli, M., Porporato, P.E., Taulli, R., Traini, S., Baldanzi, G., Chianale, F., Cutrupi, S., Arnoletti, E., Ghe, C., Fubini, A., Surico, N., Sinigaglia, F., Ponzetto, C., Muccioli, G., Crepaldi, T., & Graziani, A. (2007) *Mol. Biol. Cell*, **18**, 986–994.
20) Granata, R., Settanni, F., Biancone, L., Trovato, L., Nano, R., Bertuzzi, F., Destefanis, S., Annunziata, M., Martinetti, M., Catapano, F., Ghe, C., Isgaard, J., Papotti, M., Ghigo, E., & Muccioli, G. (2007) *Endocrinology*, **148**, 512–529.
21) Nakahara, K., Nakagawa, M., Baba, Y., Sato, M., Toshinai, K., Date, Y., Nakazato, M., Kojima, M., Miyazato, M., Kaiya, H., Hosoda, H., Kangawa, K., & Murakami, N. (2006) *Endocrinology*, **147**, 1333–1342.
22) Sato, M., Nakahara, K., Goto, S., Kaiya, H., Miyazato, M., Date, Y., Nakazato, M., Kangawa, K., & Murakami, N. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **350**, 598–603.
23) Delhanty, P., van Koetsveld, P.M., Gauna, C., van de Zande, B., Vitale, G., Hofland, L.J., & van der Lely, A.J. (2007) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*., **293**, E302–309.
24) Toshinai, K., Yamaguchi, H., Sun, Y., Smith, R.G., Yamanaka, A., Sakurai, T., Date, Y., Mondal, M.S., Shimbara, T., Kawagoe, T., Murakami, N., Miyazato, M., Kangawa, K., & Nakazato, M. (2006) *Endocrinology*, **147**, 2306–2314.
25) Smith, R.G., Van der Ploeg, L.H., Howard, A.D., Feighner, S.D., Cheng, K., Hickey, G.J., Wyvratt, M.J., Jr., Fisher, M.H., Nargund, R.P., & Patchett, A.A. (1997) *Endocr. Rev*., **18**, 621–645.
26) Tanaka, M., Hayashida, Y., Iguchi, T., Nakao, N., Nakai, N., & Nakashima, K. (2001) *Endocrinology*, **142**, 3697–3700.
27) Kanamoto, N., Akamizu, T., Tagami, T., Hataya, Y., Moriyama, K., Takaya, K., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., & Nakao, K. (2004) *Endocrinology*, **145**, 4144–4153.
28) Zhu, X., Cao, Y., Voogd, K., & Steiner, D.F. (2006) *J. Biol. Chem*., **281**, 38867–38870.
29) Nishi, Y., Hiejima, H., Hosoda, H., Kaiya, H., Mori, K., Fukue, Y., Yanase, T., Nawata, H., Kangawa, K., & Kojima, M. (2005) *Endocrinology*, **146**, 2255–2264.
30) McKee, K.K., Palyha, O.C., Feighner, S.D., Hreniuk, D.L., Tan, C.P., Phillips, M.S., Smith, R.G., Van der Ploeg, L.H., & Howard, A.D. (1997) *Mol. Endocrinol*., **11**, 415–423.
31) Feighner, S.D., Tan, C.P., McKee, K.K., Palyha, O.C., Hreniuk, D.L., Pong, S.S., Austin, C.P., Figueroa, D., MacNeil, D., Cascieri, M.A., Nargund, R., Bakshi, R., Abramovitz, M., Stocco, R., Kargman, S., O'Neill, G., Van Der Ploeg, L.H., Evans, J., Patchett, A.A., Smith, R.G., & Howard, A.D. (1999) *Science*, **284**, 2184–2188.
32) Howard, A.D., Wang, R., Pong, S.S., Mellin, T.N., Strack, A., Guan, X.M., Zeng, Z., Williams, D.L., Jr., Feighner, S.D., Nunes, C.N., Murphy, B., Stair, J.N., Yu, H., Jiang, Q., Clements, M.K., Tan, C.P., McKee, K.K., Hreniuk, D.L., McDonald, T.P., Lynch, K.R., Evans, J.F., Austin, C.P., Caskey, C.T., Van der Ploeg, L.H., & Liu, Q. (2000) *Nature*, **406**, 70–74.
33) McKee, K.K., Tan, C.P., Palyha, O.C., Liu, J., Feighner, S.D., Hreniuk, D.L., Smith, R.G., Howard, A.D., & Van der Ploeg, L.H. (1997) *Genomics*, **46**, 426–434.
34) Zhang, J.V., Ren, P.G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C.W., Rauch, R., Klein, C., & Hsueh, A.J. (2005) *Science*, **310**, 996–999.
35) Asakawa, A., Inui, A., Kaga, T., Yuzuriha, H., Nagata, T., Ueno, N., Makino, S., Fujimiya, M., Niijima, A., Fujino, M. A., & Kasuga, M. (2001) *Gastroenterology*, **120**, 337–345.
36) Depoortere, I., Thijs, T., Thielemans, L., Robberecht, P., & Peeters, T.L. (2003) *J. Pharmacol. Exp. Ther*., **305**, 660–667.
37) Smith, R.G., Leonard, R., Bailey, A.R., Palyha, O., Feighner, S., Tan, C., McKee, K.K., Pong, S.S., Griffin, P., & Howard, A. (2001) *Endocrine*, **14**, 9–14.
38) Pantel, J., Legendre, M., Cabrol, S., Hilal, L., Hajaji, Y., Morisset, S., Nivot, S., Vie-Luton, M.P., Grouselle, D., de Kerdanet, M., Kadiri, A., Epelbaum, J., Le Bouc, Y., & Amselem, S. (2006) *J. Clin. Invest*., **116**, 760–768.
39) Tomasetto, C., Karam, S.M., Ribieras, S., Masson, R., Lefebvre, O., Staub, A., Alexander, G., Chenard, M.P., & Rio, M.C. (2000) *Gastroenterology*, **119**, 395–405.
40) Folwaczny, C., Chang, J.K., & Tschop, M. (2001) *Eur. J. Endocrinol*., **144**, R1–3.
41) Cummings, D.E., Purnell, J.Q., Frayo, R.S., Schmidova, K., Wisse, B.E., & Weigle, D.S. (2001) *Diabetes*, **50**, 1714–1719.
42) Tschop, M., Wawarta, R., Riepl, R.L., Friedrich, S., Bidlingmaier, M., Landgraf, R., & Folwaczny, C. (2001) *J. Endocrinol. Invest*., **24**, RC19–21.
43) McCowen, K.C., Maykel, J.A., Bistrian, B.R., & Ling, P.R. (2002) *J. Endocrinol*., **175**, R7–11.
44) Shiiya, T., Nakazato, M., Mizuta, M., Date, Y., Mondal, M.S., Tanaka, M., Nozoe, S., Hosoda, H., Kangawa, K., & Matsu-

kura, S. (2002) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **87**, 240–244.
45) Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P.A., Devanarayan, V., Ravussin, E., & Heiman, M.L. (2001) *Diabetes*, **50**, 707–709.
46) Hansen, T.K., Dall, R., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., Christiansen, J.S., & Jorgensen, J.O. (2002) *Clin. Endocrinol*. (*Oxf*), **56**, 203–206.
47) Haqq, A.M., Farooqi, I.S., O'Rahilly, S., Stadler, D.D., Rosenfeld, R.G., Pratt, K.L., LaFranchi, S.H., & Purnell, J.Q. (2003) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **88**, 174–178.
48) Bunt, J.C., Salbe, A.D., Tschop, M.H., DelParigi, A., Daychild, P., & Tataranni, P.A. (2003) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **88**, 3756–3761.
49) Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H., Sawaguchi, A., Mondal, M. S., Suganuma, T., Matsukura, S., Kangawa, K., & Nakazato, M. (2000) *Endocrinology*, **141**, 4255–4261.
50) Hayashida, T., Nakahara, K., Mondal, M.S., Date, Y., Nakazato, M., Kojima, M., Kangawa, K., & Murakami, N. (2002) *J. Endocrinol*., **173**, 239–245.
51) Date, Y., Nakazato, M., Hashiguchi, S., Dezaki, K., Mondal, M.S., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., Arima, T., Matsuo, H., Yada, T., & Matsukura, S. (2002) *Diabetes*, **51**, 124–129.
52) Dezaki, K., Sone, H., Koizumi, M., Nakata, M., Kakei, M., Nagai, H., Hosoda, H., Kangawa, K., & Yada, T. (2006) *Diabetes*, **55**, 3486–3493.
53) Prado, C.L., Pugh-Bernard, A.E., Elghazi, L., Sosa-Pineda, B., & Sussel, L. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2924–2929.
54) Chanoine, J.P. & Wong, A.C. (2004) *Endocrinology*, **145**, 3813–3820.
55) Bennett, P.A., Thomas, G.B., Howard, A.D., Feighner, S.D., van der Ploeg, L.H., Smith, R.G., & Robinson, I.C. (1997) *Endocrinology*, **138**, 4552–4557.
56) Korbonits, M., Bustin, S.A., Kojima, M., Jordan, S., Adams, E.F., Lowe, D.G., Kangawa, K., & Grossman, A.B. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **86**, 881–887.
57) Korbonits, M., Kojima, M., Kangawa, K., & Grossman, A.B. (2001) *Endocrine*, **14**, 101–104.
58) Lu, S., Guan, J.L., Wang, Q.P., Uehara, K., Yamada, S., Goto, N., Date, Y., Nakazato, M., Kojima, M., Kangawa, K., & Shioda, S. (2002) *Neurosci. Lett*., **321**, 157–160.
59) Cowley, M.A., Smith, R.G., Diano, S., Tschop, M., Pronchuk, N., Grove, K.L., Strasburger, C.J., Bidlingmaier, M., Esterman, M., Heiman, M.L., Garcia-Segura, L.M., Nillni, E.A., Mendez, P., Low, M.J., Sotonyi, P., Friedman, J.M., Liu, H., Pinto, S., Colmers, W.F., Cone, R.D., & Horvath, T.L. (2003) *Neuron*, **37**, 649–661.
60) Sato, T., Fukue, Y., Teranishi, H., Yoshida, Y., & Kojima, M. (2005) *Endocrinology*, **146**, 2510–2516.
61) Arvat, E., Di Vito, L., Broglio, F., Papotti, M., Muccioli, G., Dieguez, C., Casanueva, F.F., Deghenghi, R., Camanni, F., & Ghigo, E. (2000) *J. Endocrinol. Invest*., **23**, 493–495.
62) Takaya, K., Ariyasu, H., Kanamoto, N., Iwakura, H., Yoshimoto, A., Harada, M., Mori, K., Komatsu, Y., Usui, T., Shimatsu, A., Ogawa, Y., Hosoda, K., Akamizu, T., Kojima, M., Kangawa, K., & Nakao, K. (2000) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **85**, 4908–4911.
63) Date, Y., Murakami, N., Kojima, M., Kuroiwa, T., Matsukura, S., Kangawa, K., & Nakazato, M. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **275**, 477–480.
64) Hataya, Y., Akamizu, T., Takaya, K., Kanamoto, N., Ariyasu, H., Saijo, M., Moriyama, K., Shimatsu, A., Kojima, M., Kangawa, K., & Nakao, K. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **86**, 4552.
65) Tschop, M., Smiley, D.L., & Heiman, M.L. (2000) *Nature*, **407**, 908–913.
66) Wren, A.M., Small, C.J., Ward, H.L., Murphy, K.G., Dakin, C.L., Taheri, S., Kennedy, A.R., Roberts, G.H., Morgan, D. G., Ghatei, M.A., & Bloom, S.R. (2000) *Endocrinology*, **141**, 4325–4328.
67) Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K., & Matsukura, S. (2001) *Nature*, **409**, 194–198.
68) Wren, A.M., Small, C.J., Abbott, C.R., Dhillo, W.S., Seal, L. J., Cohen, M.A., Batterham, R.L., Taheri, S., Stanley, S.A., Ghatei, M.A., & Bloom, S.R. (2001) *Diabetes*, **50**, 2540–2547.
69) Wren, A.M., Seal, L.J., Cohen, M.A., Brynes, A.E., Frost, G. S., Murphy, K.G., Dhillo, W.S., Ghatei, M.A., & Bloom, S.R. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **86**, 5992.
70) Kamegai, J., Tamura, H., Shimizu, T., Ishii, S., Sugihara, H., & Wakabayashi, I. (2001) *Diabetes*, **50**, 2438–2443.
71) Shintani, M., Ogawa, Y., Ebihara, K., Aizawa-Abe, M., Miyanaga, F., Takaya, K., Hayashi, T., Inoue, G., Hosoda, K., Kojima, M., Kangawa, K., & Nakao, K. (2001) *Diabetes*, **50**, 227–232.
72) Chen, H.Y., Trumbauer, M.E., Chen, A.S., Weingarth, D.T., Adams, J.R., Frazier, E.G., Shen, Z., Marsh, D.J., Feighner, S. D., Guan, X.M., Ye, Z., Nargund, R.P., Smith, R.G., Van der Ploeg, L.H., Howard, A.D., MacNeil, D.J., & Qian, S. (2004) *Endocrinology*, **145**, 2607–2612.
73) Morton, G.J. & Schwartz, M.W. (2001) *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord*., **25** Suppl 5, S56–62.
74) Flier, J.S. (2004) *Cell*, **116**, 337–350.
75) Andersson, U., Filipsson, K., Abbott, C.R., Woods, A., Smith, K., Bloom, S.R., Carling, D., & Small, C.J. (2004) *J. Biol. Chem*., **279**, 12005–12008.
76) Minokoshi, Y., Alquier, T., Furukawa, N., Kim, Y.B., Lee, A., Xue, B., Mu, J., Foufelle, F., Ferre, P., Birnbaum, M.J., Stuck, B.J., & Kahn, B.B. (2004) *Nature*, **428**, 569–574.
77) Hewson, A.K. & Dickson, S.L. (2000) *J. Neuroendocrinol*., **12**, 1047–1049.
78) Wang, L., Saint-Pierre, D.H., & Tache, Y. (2002) *Neurosci. Lett*., **325**, 47–51.
79) Ruter, J., Kobelt, P., Tebbe, J.J., Avsar, Y., Veh, R., Wang, L., Klapp, B.F., Wiedenmann, B., Tache, Y., & Monnikes, H. (2003) *Brain Res*., **991**, 26–33.
80) Date, Y., Murakami, N., Toshinai, K., Matsukura, S., Niijima, A., Matsuo, H., Kangawa, K., & Nakazato, M. (2002) *Gastroenterology*, **123**, 1120–1128.
81) Date, Y., Shimbara, T., Koda, S., Toshinai, K., Ida, T., Murakami, N., Miyazato, M., Kokame, K., Ishizuka, Y., Ishida, Y., Kageyama, H., Shioda, S., Kangawa, K., & Nakazato, M. (2006) *Cell Metab*., 4, 323–331.
82) Ariyasu, H., Takaya, K., Tagami, T., Ogawa, Y., Hosoda, K., Akamizu, T., Suda, M., Koh, T., Natsui, K., Toyooka, S., Shirakami, G., Usui, T., Shimatsu, A., Doi, K., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., & Nakao, K. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **86**, 4753–4758.
83) Otto, B., Cuntz, U., Fruehauf, E., Wawarta, R., Folwaczny, C., Riepl, R.L., Heiman, M.L., Lehnert, P., Fichter, M., & Tschop, M. (2001) *Eur. J. Endocrinol*., **145**, 669–673.
84) Cuntz, U., Fruhauf, E., Wawarta, R., Tschop, M., Folwaczny, C., Riepl, R., Lehnert, P., Fichter, M., & Otto, B. (2002) *Am.*

Clin. Lab., **21**, 22–23.
85) Cummings, D.E., Clement, K., Purnell, J.Q., Vaisse, C., Foster, K.E., Frayo, R.S., Schwartz, M.W., Basdevant, A., & Weigle, D.S. (2002) *Nat. Med*., **8**, 643–644.
86) DelParigi, A., Tschop, M., Heiman, M.L., Salbe, A.D., Vozarova, B., Sell, S.M., Bunt, J.C., & Tataranni, P.A. (2002) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **87**, 5461–5464.
87) Shimizu, Y., Nagaya, N., Isobe, T., Imazu, M., Okumura, H., Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K., & Kohno, N. (2003) *Clin. Cancer Res*., **9**, 774–778.
88) Garcia, J.M., Garcia-Touza, M., Hijazi, R.A., Taffet, G., Epner, D., Mann, D., Smith, R.G., Cunningham, G.R., & Marcelli, M. (2005) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **90**, 2920–2926.
89) Cummings, D.E., Weigle, D.S., Frayo, R.S., Breen, P.A., Ma, M.K., Dellinger, E.P., & Purnell, J.Q. (2002) *N. Engl. J. Med*., **346**, 1623–1630.
90) Nagaya, N., Kojima, M., Uematsu, M., Yamagishi, M., Hosoda, H., Oya, H., Hayashi, Y., & Kangawa, K. (2001) *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*., **280**, R1483–1487.
91) Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S.A., Morris, D.G., McGee, P., Fairclough, P., Bhattacharya, S., Carpenter, R., Grossman, A.B., & Korbonits, M. (2002) *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **87**, 2988.
92) Nagaya, N. & Kangawa, K. (2003) *Curr. Opin. Pharmacol*., **3**, 146–151.
93) Lin, Y., Matsumura, K., Fukuhara, M., Kagiyama, S., Fujii, K., & Iida, M. (2004) *Hypertension*, **43**, 977–982.
94) Pettersson, I., Muccioli, G., Granata, R., Deghenghi, R., Ghigo, E., Ohlsson, C., & Isgaard, J. (2002) *J. Endocrinol*., **175**, 201–209.
95) Masuda, Y., Tanaka, T., Inomata, N., Ohnuma, N., Tanaka, S., Itoh, Z., Hosoda, H., Kojima, M., & Kangawa, K. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **276**, 905–908.
96) Date, Y., Nakazato, M., Murakami, N., Kojima, M., Kangawa, K., & Matsukura, S. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **280**, 904–907.
97) Dezaki, K., Hosoda, H., Kakei, M., Hashiguchi, S., Watanabe, M., Kangawa, K., & Yada, T. (2004) *Diabetes*, **53**, 3142–3151.
98) Carlini, V.P., Monzon, M.E., Varas, M.M., Cragnolini, A.B., Schioth, H.B., Scimonelli, T.N., & de Barioglio, S.R. (2002) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **299**, 739–743.
99) Diano, S., Farr, S.A., Benoit, S.C., McNay, E.C., da Silva, I., Horvath, B., Gaskin, F.S., Nonaka, N., Jaeger, L.B., Banks, W.A., Morley, J.E., Pinto, S., Sherwin, R.S., Xu, L., Yamada, K.A., Sleeman, M.W., Tschop, M.H., & Horvath, T.L. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 381–388.
100) Seoane, L.M., Al-Massadi, O., Pazos, Y., Pagotto, U., & Casanueva, F.F. (2006) *J. Endocrinol. Invest*., **29**, RC13–15.
101) Holst, B., Egerod, K.L., Schild, E., Vickers, S.P., Cheetham, S., Gerlach, L.O., Storjohann, L., Stidsen, C.E., Jones, R., Beck-Sickinger, A.G., & Schwartz, T.W. (2007) *Endocrinology*, **148**, 13–20.
102) Nogueiras, R., Pfluger, P., Tovar, S., Arnold, M., Mitchell, S., Morris, A., Perez-Tilve, D., Vazquez, M.J., Wiedmer, P., Castaneda, T.R., DiMarchi, R., Tschop, M., Schurmann, A., Joost, H.G., Williams, L.M., Langhans, W., & Dieguez, C. (2007) *Endocrinology*, **148**, 21–26.
103) Chartrel, N., Alvear-Perez, R., Leprince, J., Iturrioz, X., Reaux-Le Goazigo, A., Audinot, V., Chomarat, P., Coge, F., Nosjean, O., Rodriguez, M., Galizzi, J.P., Boutin, J.A., Vaudry, H., & Llorens-Cortes, C. (2007) *Science*, **315**, 766.
104) Zhang, J.V., Klein, C., Ren, P.G., Kass, S., Donck, L.V., Moechars, D., & Hsueh, A.J.W. (2007) *Science*, **315**, 766.