

氏名・(本籍)	定 松 美 幸 (福岡県)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	博士 (論) 第185号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成8年6月28日
学位論文題目	The 24-hour rhythms in plasma growth hormone, prolactin and thyroid stimulating hormone: Effect of sleep deprivation (成長ホルモン、プロラクチン、甲状腺刺激ホルモンの24時間リズム：断眠の影響)

審査委員	主査 教授	越 智 幸 男
	副査 教授	吉 川 隆 一
	副査 教授	加 藤 進 昌

## 論文内容の要旨

### 【目 的】

ヒト成長ホルモン(GH)は睡眠依存性であり、入眠後最初に出現する深睡眠期の開始とともに一日の内で最大の分泌を示し、固有の日内リズムは存在しないとされていた。プロラクチン(PRL)も同様に睡眠依存性で日内リズムをもたないとされているが、レム睡眠中に分泌が抑制される、あるいはされない、という相反する報告があり議論が分かれている。甲状腺刺激ホルモン(TSH)は夜間に分泌が亢進するリズムをもつが睡眠によって分泌が抑制されるという報告がある。

これらのうち、GHは従来の測定系は感度が低く1日の正確な血中濃度を測定した報告がなかったが、私たちは高感度酵素免疫測定法をもち最低血中濃度を知ることが可能になった。また、TSHについても新しい測定系を得たことによってくわしい分析が可能になった。これらの測定法を用いて、3つのホルモンの睡眠依存性についてよりくわしい解析を進めるため、6時間の断眠を行い血中濃度を調べて検討した。

### 【方 法】

口頭での説明と文書による同意を得た健康な男子(20-40才)9名がボランティアとして参加した。実験当日の13時に肘静脈にカテーテルを留置し、14時から30分間隔で24時間のヘパリン採血を行った。1回目は0時から7時まで、1ヶ月以上おいた2回目は6時間の断眠を行い6時から13時まで滋賀医科大学睡眠実験室で睡眠をとり、睡眠中は睡眠ポリグラフを同時に測定した。得られた血液は直ちに遠心し、測定まで-20度で保存した。GHの測定は新たに開発された高感度酵素免疫測定法(EIA)を用いた。PRLは従来のラジオイムノアッセイを使用し、TSHについては新しい時間分解蛍光免疫測定法(TR-FIA)を用いた。統計解析は1日の個々人の血中濃度についてauto-correlationと、通常睡眠夜と睡眠遅延夜の2日でのcross correlationをBMDPソフトウェアを用いて算出した。

### 【結 果】

血中GHのEIAの測定限界は0.3 pg/mlであった。同じ検体を従来のラジオイムノアッセイでも測定して比較し、1 ng/ml以上の濃度ではよく平行し、それ以下ではラジオイムノアッセイでも一見測定可能であるかに見えていたが実際の濃度とは大きな開きがあることが明らかになった。

血中GH濃度の24時間リズムについて、個々人について視察では睡眠中の大きなピーク以外にも日中にいくつかピークが認められた。auto-correlationでは明らかなサイクルは算出できなかったため、通常睡眠と睡眠遅延を行った6名について2日の間でcross correlationを算出したところ、3名で0.5-1.5時間、5-6時間のタイムラグをもってよく平行することがわかった。さらに全員の血中GH濃度の平均値をスペクトル分析にかけたところ、135分、278分、470分、710分というサイクルがあることが明らかになった。

血中PRLについては24時間リズムについてみると、通常睡眠夜でも睡眠遅延夜でも22時頃にピークがあり、いずれの条件下でも睡眠中に高値を示した。しかしながら通常睡眠夜では入眠後徐々に血中PRL値が上昇し、睡眠中は高値を維持し続け、覚醒直後に一日の内の最大値を示したのに対し、睡眠遅延夜では睡眠後半には低下し始め、覚醒後のピークは認められなかった。個々人でみると睡眠中の血中PRL値は通常睡眠夜と睡眠遅延夜の間でよい相関を示し、cross-correlationで4名について1-1.8時間、5-7時間のタイムラグで良い相関を示すことがわかった。スペクトル分析では72分と375分のperiodicityの存在が明らかになった。

新しく開発されたTR-FIAを用いた測定した血中TSHの最低値は $0.28 \mu\text{U/ml}$ ですべて測定範囲内であった。通常睡眠夜では睡眠中にやや高く、覚醒直後に最大値を示したが、睡眠遅延夜では夜間に大きな上昇が認められた。個々人について3つのホルモン分泌に関連性がないかどうか時系列分析を行ったが明らかな関連は認められなかった。

#### 【考 察】

GHの高感度酵素免疫測定法は少ない検体量で従来のラジオイムノアッセイの100倍の感度が得られ、ヒトの24時間血中GH濃度をすべて明らかにすることが可能となった。ELISAとほぼ同程度の測定感度であるが、より簡便で設備を要しないことから、有用性が高いと思われた。

血中GH濃度の解析について、睡眠依存性を検討するために睡眠中はポリグラフを同時に測定し検討したが、被験者のうち数名については従来言われてきたように入眠後最初の深睡眠後ではなく、入眠前にすでにGHが上昇傾向にあることがわかり、これは日内リズムが存在することを示唆するものと考えた。リズムの検討に際して、よく使用されるpeak to peak analysisではなく、自己相関あるいは相互相関とスペクトル分析を用いたが、これは採血間隔が30分で血中GHの半減期である16-26分より長く、上記の分析法は使用できなかったためである。自己相関、相互相関によるperiodicityの検討が十分であることを確認するために被験者1名については20分間隔で24時間採血を行いpeak to peak analysisと自己相関、相互相関の両方を用いて検討し、採血間隔がせばまることは単に小さい分泌亢進を同定するにすぎないことを確認した。PRLの分泌とレム睡眠との関連についてはレム睡眠前、中、後に採血することができた被験者が少なかったためくわしい検討はできなかった。自己相関あるいは相互相関で6時間のタイムラグを検出したことは、強い睡眠依存性の存在を示唆するものと考えられ、スペクトル分析の結果で約1時間のperiodicityが日内リズムを形成するものと考えられた。

TSHについては、睡眠が強い抑制効果をもち、明らかな日内リズムは存在しないと思われる。GH、PRL、TSHすべて下垂体性ホルモンであるが、相互には関連性がないことを確認した。

#### 【結 論】

健康成人男子について、夜間睡眠をとる通常睡眠夜と6時間の断眠を行った睡眠遅延夜で24時間連続採血を行い血中成長ホルモン、プロラクチン、甲状腺刺激ホルモンの日内リズムと睡眠との関連性について再検討した。成長ホルモン、プロラクチンについては従来言われてきた睡眠依存性の成分だけではなく、おのおの2時間、1時間の短いサイクルの分泌リズムが存在することが明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

ヒト下垂体から分泌される成長ホルモン(GH)、プロラクチン(PRL)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)はこれまで睡眠との強い関連性が報告されてきており、特にGHについては睡眠依存性のリズムのみが確認され、明らかな日内リズムをもたないとされてきた。これはこれまでのGHの測定系では日中の正確な血中濃度の測定が困難であったことによる。本研究は健康男子成人で24時間の連続採血を行い、最近開発された高感度酵素免疫測定法(EIA)を用いてGHの正確な日内変動をとらえ、時系列分析を用いてGHのリズムについて再検討を加えたものである。同時に、PRL、TSHについても同様の時系列分析を行い、TSHについては新たに開発された時間分析蛍光免疫測定法(TR-

FIA)を用いた。また、睡眠との関連性をより明らかにするために睡眠中は睡眠ポリグラフを同時に測定し、各被験者に通常の夜間睡眠と6時間の断眠の2回について実験を行い、比較検討した。結果、GHのEIAは従来のRIAに比較しより低濃度の範囲で正確な測定が可能であることが確認された。GHの血中濃度では従来報告されてきた入眠後最初の徐波睡眠にともなった最大ピークのほかに、日中にもピークが認められ、内因性のリズムの存在が確認された。通常夜間睡眠時と6時間断眠時の24時間の値を相互相関、スペクトラル分析を用いた時系列分析に供した結果、約2時間の短いサイクルをもつウルトラディアンリズムが検出された。PRLについては強い睡眠依存性と時系列分析による約1.5時間のウルトラディアンリズムが確認された。TSHについては、新たに開発されたTSHのTR-FIAは、すべての検体が測定範囲内であった。断眠による夜間の血中TSHの著明な増加が認められ、従来より報告されている睡眠のTSH分泌に対する抑制効果が確認された。時系列分析では明らかな内因性リズムの存在は検出されなかった。GH、PRL、TSHの3つのホルモンの分泌の間には明らかな相関は認められなかった。

以上のことより、正常男子成人でGH分泌には約2時間、PRL分泌には約1.5時間のウルトラディアンリズムが存在し、TSHについては睡眠が強い分泌抑制効果をもつこと、リズムの算出法として時系列分析を加えることが可能であることを明らかにされた。うつ病患者にはリズム異常を示す群があることはすでに広く知られており、今後臨床応用の可能性が高いことを示唆しており、よって博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。