The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	副腎髄質顆粒からのカテコールアミン遊離機構について
Author(s)	泉, 太
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29708
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【5】

氏名・(本籍)	泉(いずみ)　太(ふとし)
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　1624　号
学位授与の日付	昭和44年3月28日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**副腎髄質顆粒からのカテコールアミン遊離機構について**
論文審査委員	(主査) 教授 今泉　礼治 (副査) 教授 吉田　博　教授 山野　俊雄

論文内容の要旨

〔実験目的〕

副腎髄質ホルモンであるカテコールアミン(CA)は細胞内では特定の顆粒(CA含有顆粒，クローム親和性顆粒)中に貯蔵されている。そしてそこから遊離(分泌)されて始めて生理的に重要な作用を発揮するものである。このCAの遊離機構に関しては副腎灌流実験や副腎髄質切片を用いた多くの実験成績からアセチールコリン(ACh)，高濃度 K^+ によりCA遊離が起る際には medium 中に Ca^{++} の存在が必要であり，Ca^{++} の influx が生ずること，膜の安定剤として知られる cocaine などにより阻害されるという実験成績から刺戟—遊離(分泌)連関が想定され，これに Ca^{++} が coupler として重要な役割を演じていることが示唆されている。そこで本論文では副腎髄質から分離したCA含有顆粒を用い主として Ca^{++} の働きを中心に該顆粒からのCA遊離機構について検討を加えた。亦一方 serotonin, histamine, tyramine なども副腎髄質からCAを遊離させることが知られており，従ってこれらアミンによるCA遊離の機構についても細胞レベル，顆粒レベルで検索を試みた。

〔実験方法〕

主としてウシ副腎髄質を用い，細胞レベルの実験ではその切片を作製しこれを Locke 液に浮游させCA遊離を検索した。顆粒レベルの実験では副腎髄質ホモジェネートからミリポアフイルターにより等張蔗糖溶液中でCA含有顆粒を分離しこれを等張 KCl 溶液中に浮游させ顆粒からのCA遊離について検索した。また該顆粒へのCAの取り込みをあわせ検する際には ^{14}C-アドレナリンを使用した。CAの定量は水酸化アルミニウム吸着後 ethylenediamine 縮合法によった。CA含有顆粒に存在する ATPase 活性は ATP を基質として遊離された無機燐を，dopamine-β-oxidase(DA-β-oxidase)活性は tyramnie を基質として生じた octopamine をそれぞれ定量することにより測定した。CA含有顆粒からの DA-β-oxidase の精製は Kaufman, Goldstein らの方法に準じておこなった。

〔実験成績〕

① 分離された CA 含有顆粒からの CA 遊離は Ca^{++} (0.2mM-2mM) の添加により促進された。また ATP (4mM)・Mg^{++} (2mM) によっても著しく促進された。ATP, Mg^{++} それぞれ単独では殆んど影響なく，ATP と Mg^{++} の濃度比が約 2 : 1 の時，顆粒からの CA 遊離が最も著明であった。

② ATP・Mg^{++} により顆粒からの CA 遊離がみられる際には顆粒膜に存在する ATPase の活性化が認められた。SH-阻害剤である N-ethylmaleinimide (NEM) によりこの ATPase 活性を阻害すれば同時にに ATP・Mg^{++} よる顆粒からの CA 遊離も亦阻害をうけた。一方 ATP・Mg^{++} により ^{14}C-アドレナリンの顆粒への取り込みも増強されるが，これも NEM により阻害された。

③ ATP・Mg^{++} による顆粒からの CA 遊離には反応液中に混在する微量の Ca^{++} の関与している可能性が考えられるので，この Ca^{++} を除去する目的で EGTA を添加した。EGTA により ATP・Mg^{++}による顆粒からの CA 遊離は強く阻害された。また同時に顆粒膜 ATPase 活性も阻害され，この阻害は Ca^{++} の添加により回復した。しかし ATP・Mg^{++} による ^{14}C- アドレナリンの顆粒への取り込みは NEM の場合と異り EGTA により増大した。従って Mg^{++} の存在下，顆粒膜 ATPase 活性は微量の Ca^{++} (10^{-4}M 以下) により増強され，これが顆粒からの CA 遊離と関連性を持つものと思われる。

④ Ca^{++} 或は ATP・Mg^{++} により顆粒からの CA 遊離が起る際には同時に顆粒膜に局在する DA-β-oxidase 活性の上昇が認められた。このことは顆粒での CA 遊離と生合成の共軛を示唆するものとして興味深い。

⑤ 低張処理により顆粒構造を破壊した後ではもはや Ca^{++} による DA-β-oxidase の活性上昇は認められなかったが，ATP・Mg^{++} による該酵素活性の上昇は尚著明に残存した。

⑥ 顆粒を低張処理後，その顆粒膜分画からエマルゲン 808 処理，硫安分画，DEAE セルローズで DA-β-oxidase の精製を試み，ATPase 活性をもたない DA-β-oxidase 標品を得た。この標品では ATP・Mg^{++} による DA-β-oxidase 活性の上昇は認められなかった。しかしここに ATPase 活性を有する蛋白の分画を添加すれば ATP・Mg^{++} による DA-β-oxidase 活性の上昇は再現した。このことは顆粒膜に存在する DA-β-oxidase 活性は共存する ATPase の活性と密接なる関連のあることを示唆するものとして興味深い。

⑦ また一方 serotonin, histamine, tyramine 等は副腎髄質切片からの CA 遊離を著しく促進した。しかしこの場合には，ACh，高濃度 K^+ による切片からの CA 遊離とは異り，外液に Ca^{++} の存在は必ずしも必要ではなかった。またその作用が最大に発現するためには一定の時間（約 6 分）を要した。従ってこれらアミンによる CA 遊離の機序は ACh, high K^+ とは性質を異にするものと思われる。また分離した CA 含有顆粒からの CA 遊離にはこれらアミンは著明な影響を与えなかった。

⑧ serotonin, histamine, tyramine による髄質切片からの CA 遊離は cyclic AMP の分解酵素 phosphodiesterase の阻害剤である theophylline 添加により増強された。theophylline 自身によっても軽度ながら CA 遊離が認められた。

⑨ 髄質切片からの CA 遊離は cyclic AMP 及び dibutyryl-cyclic AMP により促進され，この

作用は theophylline により増強された。

⑩ cyclic AMP は分離した CA 含有顆粒からの CA 遊離にはそれ自身，殆んど影響をもたなかったが ATP・Mg^{++} による顆粒からの CA 遊離を増強した。

〔総　　括〕

Ⅰ）副腎髄質から分離した CA 含有顆粒からの CA 遊離に Ca^{++} 或は ATP・Mg^{++} により著しく促進される。ATP・Mg^{++} による CA 遊離には微量の Ca^{++} の関与が考えられる。

Ⅱ）Ca^{++} 或は ATP・Mg^{++} により顆粒からの CA 遊離が起る際には顆粒膜に存在する ATPase 活性の上昇，DA-β-oxidose 活性の上昇が認められる。

Ⅲ）serotonin, histamine, tyramine は副腎髄質切片からの CA 遊離を促進するが，この場合，ACh, 高濃度 K^+ による CA 遊離とは異り，外液中の Ca^{++} の存在は必ずしも必要ではない。これらアミンによる CA 遊離には cyclic AMP が関与していることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

副腎髄質ホルモンの遊離機構については未知の問題が多く，特に髄質顆粒からの遊離機構に関しては過去に少数の報告をみるにすぎない。本論文では顆粒からのカテコールアミン遊離機構を詳細に検索し，カテコールアミン遊離における微量の Ca^{++} の重要性を指摘し，又顆粒に認められる諸変化を酵素学的なレベルで追求しカテコールアミンの遊離と生合成の共軛を示唆している。更に副腎髄質からの CA 遊離には cyclic AMP の関与する機構もあることを示唆し，これらに基づいてカテコールアミン遊離機構の作業仮説を提出しており，興味深く，かつ今後の各種ホルモンの研究に一つの方向を示す論文であると思われる。