

Title	ラット胎仔肝臓におけるグルココルチコイドの作用に関する研究
Author(s)	水島, 敬夫
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32470
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	水 島 敬 夫
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 4 7 3 1 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 10 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ラット胎仔肝臓におけるグルココルチコイドの作用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 岩田平太郎 (副査) 教 授 近藤 雅臣 教 授 上原喜八郎 教 授 青沼 繁

論 文 内 容 の 要 旨

緒 論

グルココルチコイドは胎生期において多くの組織の機能に重要な役割を果している。合成グルココルチコイドエステルであるベタメサゾン17, 21-ジプロピオネイト(BDP)をラット胎仔に投与すると、通常のグルココルチコイドとは異なり、副腎を肥大させることが報告され、BDPは抗グルココルチコイド作用を示すのではないかと推測された。現在までin vivoにおいてそのような作用を示す薬物は見出されておらず、BDPがそのような性質を有するのであれば、グルココルチコイド作用の解析に有用であると考えられる。本研究においては、ラット胎仔肝におけるBDPの抗グルココルチコイド作用を確かめるとともに、肝のいくつかのグルココルチコイド作用系への影響を調べ、胎生期のラット肝におけるグルココルチコイドの作用について検討した。

本 論

1. 肝グリコーゲン蓄積に対するベタメサゾン17, 21-ジプロピオネイトの作用

ラット胎仔肝のグリコーゲンは妊娠末期に急速に増加し、この増加はグルココルチコイドに依存しているとされている。BDP(100 $\mu\text{g}/\text{fetus}$)を妊娠第19日の胎仔に投与すると、以後のグリコーゲン蓄積は完全に抑制された。このような作用は断頭胎仔においても同様にみられ、BDPの作用は中枢神経系を介したものではなく、肝に対する直接の作用によるものと推測された。グリコーゲン代謝におけるBDPの作用をさらに検討するため、中間代謝物(グルコース、グルコース-6-リン酸、グルコース-1-リン酸、UDP-グルコース、グリコーゲン、乳酸)濃度の投与後の変化を経時的に調べた。BDP(100 $\mu\text{g}/\text{fetus}$)の投与後5時間にはUDP-グルコースの増加、10時間にはUDP-グルコースの増

加、グリコーゲン蓄積の抑制、24時間にはグルコース-1-リン酸、グルコース-6-リン酸の増加、グリコーゲン蓄積の抑制が見られた。したがって、BDP 投与により障害されるグリコーゲン代謝経路の主な部位はUDP-グルコースからグリコーゲンへのグルコース転移の段階であろうと考えられる。グルコース濃度はBDP 投与後5時間に増加し、以後そのレベルを保っていたので、グリコーゲン蓄積阻害はグルコースの供給不足によるものではないと考えられる。乳酸濃度には変化はみられなかった。

BDP 投与によりグリコーゲン蓄積が抑制されたことから、BDP はアンチグルコルチコイドとして作用した可能性が示唆されたので、この可能性を培養肝切片を用いて検討した。培養肝切片においてコーチゾル (10^{-7} M) はグリコーゲン蓄積作用を示したが、BDP (10^{-7} M) はそのような作用を示さず、コーチゾルの作用を完全に抑制し、抗グルコルチコイド作用を示すことが確かめられた。このようなBDP の作用はコーチゾルによるグリコーゲン蓄積が進行している途中で添加しても認められた。また、BDP はインシュリンのグリコーゲン蓄積作用も抑制したが、そのような効果は両者を同時に培地に添加した場合にみられ、インシュリンの作用が発現したのちには無効であった。妊娠第19日の胎仔血漿インシュリン濃度は成熟ラットよりも高く、インシュリン作用はすでに発現していると思われるので、*in vivo* においてBDP がインシュリンの作用を阻害してグリコーゲン蓄積を抑制したとは考えにくい。したがって胎仔に投与されたBDP は内在性コルチコステロンの作用を拮抗的に抑制してグリコーゲン蓄積を阻害したものと考えられる。

2. グリコーゲン合成酵素活性及びホスホリラーゼ活性に対するベタメサゾン17, 21-ジプロピオネイトの作用

グリコーゲン合成の律速酵素であるグリコーゲン合成酵素の活性は妊娠末期に増加する。BDP の投与により総活性の増加は抑制されたが、活性型活性への影響は明確ではなかった。培養肝切片においては、グリコーゲン合成酵素の総活性、活性型活性はコーチゾルによりいずれも増加した。BDP は活性型活性をコーチゾルにくらべて弱いものの増加させたが、総活性は全く増加させず、コーチゾルの総活性増加作用を抑制した。したがって、BDP はグリコーゲン合成酵素の総括性に対してはアンチグルコルチコイドとして作用し、活性型活性に対してはグルコルチコイドとして作用しているものと考えられる。

グリコーゲン分解の律速酵素であるホスホリラーゼ活性も妊娠末期に増加する。BDP の投与により活性型活性は弱い増加を示したものの、総活性への影響はみられず、ホスホリラーゼ活性への影響はグリコーゲン合成酵素活性に対するほど顕著ではなく、分解系への影響は弱いものと思われる。

3. グルコース-6-ホスファターゼ活性に対するグルコルチコイドの作用

胎仔にBDP を投与した際に肝グルコース濃度の増加がみられ、グルコース-6-リン酸の分解が促進された可能性もあるので、グルコース-6-リン酸の分解を触媒するグルコース-6-ホスファターゼ活性に対するBDP 投与の影響を検討した。胎仔肝のグルコース-6-ホスファターゼ活性は妊娠第19日以後に増加するが、BDP の投与により活性増加は約2倍促進された。コーチゾル、コルチコステロンの投与は全く影響を与えず、ベタメサゾン、デキサメサゾンの投与は活性増加を完全に抑制した。

培養肝切片においては、コーチゾル、BDP は弱い活性増加作用を示したが、ベタメサゾンは特に作用を示さず、*in vivo*での各グルココルチコイドの作用とは一致しなかった。胎仔肝のグルコース-6-ホスファターゼ活性はグルカゴンの投与により増加することが知られているので、グルカゴンとグルココルチコイドの相互作用を想定して検討を行った。培養肝切片のグルコース-6-ホスファターゼ活性はグルカゴン及びジブチリルサイクリックAMP(Dbc AMP)により増加し、コーチゾルはグルカゴン、Dbc AMP の作用を抑制した。また、Dbc AMP による酵素活性増加が進行している途中でコーチゾルを添加しても以後の活性増加を抑制した。Dbc AMP の作用の抑制はベタメサゾンはコーチゾルよりも強く、BDP はコーチゾルよりも弱かった。BDP をコーチゾルと共に培地に添加すると、BDP はコーチゾルの作用を拮抗的に抑制した。培養肝切片における実験結果から、*in vivo*におけるBDP のグルコース-6-ホスファターゼ活性増加作用は、BDP は肝の作用部位に対する親和性が強いために内在性のコルチコステロンに拮抗して作用し、cAMP の酵素活性増加作用に対する抑制は弱いので、内在性のグルカゴンの作用のコルチコステロンによる抑制を除去して活性増加を促進したと解釈される。ベタメサゾンは作用部位に対する親和性もcAMP 作用の抑制もコルチコステロンより強いために、*in vivo*において酵素活性増加を抑制したと考えられる。コーチゾル、コルチコステロンの投与が無効であったのは、親和性が等しく、妊娠第19日以後の胎仔血漿コルチコステロンレベルは成熟ラットよりも高く、十分なレベルに達しているためと思われる。妊娠末期の胎仔肝グルコース-6-ホスファターゼ活性調節には、グルカゴンとグルココルチコイドが重要な役割を果していると推測される。

4. チロシニアミノトランスフェラーゼ活性に対するベタメサゾン17, 21-ジプロピオネイトの作用
チロシニアミノトランスフェラーゼはグルココルチコイドにより誘導される酵素としてよく知られている。この酵素活性に対するBDP の作用を培養肝切片を用いて検討した。コーチゾルは 10^{-8} ~ 10^{-6} Mの濃度で用量作用関係をもって活性増加をもたらしたが、BDP は 10^{-8} Mではコーチゾルよりも強い活性増加作用を示したものの、 10^{-6} Mではコーチゾルよりも作用は弱かった。この結果から、BDP は胎仔肝のすべてのグルココルチコイド作用系にアンチグルココルチコイドとして作用するのではなく、グルココルチコイドとしても作用することが示された。

5. ベタメサゾンのプロピオン酸エステルの作用と構造の関係

胎仔肝のグルココルチコイド作用系に対するBDP の特異な作用は、17位及び21位の水酸基がプロピオン酸でエステル化されていることによるものと思われる。Parent compoundであるベタメサゾン及びその17位の水酸基がエステル化されたベタメサゾン17 α -モノプロピオネイト(BMP)についてグルココルチコイド作用を調べ、BDP と比較した。培養肝切片において、ベタメサゾンはコーチゾルと等しいグリコーゲン蓄積作用を示し、BMP はコーチゾルよりは弱いもののグリコーゲン蓄積作用を示した。グリコーゲン合成酵素総活性及び活性型活性に対してベタメサゾンとBMP は同じ増加作用を示し、BDP とは異なっていた。チロシニアミノトランスフェラーゼ活性に対してはBDP とBMP は同じ増加作用を示したが、ベタメサゾンに比較して弱かった。このような結果から、グリコーゲン蓄積やグリコーゲン合成酵素活性に対するBDP の特異な作用には21位の水酸基のプロピオニルエ

ステル化が関与しており、チロシニアミノトランスフェラーゼ活性に対するBDPの作用には17位の水酸基のプロピオニルエステル化が関与していると考えられる。

結 論

妊娠末期のラット胎仔肝のグリコーゲン蓄積及びグリコーゲン合成酵素総活性の増加においてBDPは抗グルココルチコイド作用を示すことが見出された。BDP投与による障害部位を検討することにより、グリコーゲン代謝におけるグルココルチコイドの主な作用部位はUDP-グルコースからグリコーゲンへの過程にあることを明らかにすることができた。また、BDPの投与により生じたグルコース-6-ホスファターゼ活性増加の原因について検討を行い、グルコース-6-ホスファターゼ活性調節におけるグルココルチコイドとグルカゴンの相反的な作用を明らかにすることができた。チロシニアミノトランスフェラーゼ活性に対してみられたように、BDPにはグルココルチコイドとしての作用もあり、すべての系に対して抗グルココルチコイド作用を示すものではないものの、ラット胎仔におけるグルココルチコイド作用の解析には有用であると考えられる。また、BDPの特異な作用には21位の水酸基のプロピオニルエステル化が主として関与していることが推測された。

論文の審査結果の要旨

本論文は合成グルココルチコイドエステルであるベタメサゾン17, 21-ジプロピオネートを用いラット胎仔肝切片においてこれが抗グルココルチコイド作用を有していることを明らかにし、胎生期におけるグルココルチコイドの作用についても検討したもので薬学博士の称号を授与するに値するものである。