



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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	水島 敬夫
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 4731 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-グリコースの増加、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, コチゾルの作用を完全に抑制し, 抗グルコ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所以, *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, 活性型活性はコチゾルによりいずれも増加した。BDP は活性型活性をコ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活性に対してはアンチグルコ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チゾルよりも強く、 BDP はコチゾルよりも弱かった。 BDP をコチゾルと共に培地に添加すると、 BDP はコ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も強いために、 *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. チロシン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

チロシン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。コチゾルは $10^{-8} \sim 10^{-6}$ 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ニ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ニ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、ベタメサゾンはコチゾルと等しいグリコーゲン蓄積作用を示し、 BMP はコ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。チロシン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、チロシン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投与による阻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ことができた。チロシン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。