

Title	骨芽細胞のステロイドレセプター
Author(s)	吉岡, 順朗
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33149
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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)	よし 吉	わか 岡	とし 順	ろう 朗
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	5369	号	
学位授与の日付	昭和56年6月12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	骨芽細胞のステロイドレセプター			
論文審査委員	(主査) 教授 小野 啓郎			
	(副査) 教授 松本 圭史 教授 北村 幸彦			

論文内容の要旨

〔目的〕

骨組織が、種々のステロイドホルモンによって、代謝調節をうけることは、古くから知られている。しかし、その作用機序については、諸説混然としている。もし、骨が、直接作用をうける標的組織であるならば、各ステロイドに対するレセプターを有するはずである。そこで、我々は、ラット胎児頭蓋骨から分離した骨芽細胞が、種々のステロイドホルモン：グルココルチコイド (GC)、エストロゲン (E)、アンドロゲン (A)、プロゲステロン (P) に対するレセプターを有するか否かを明らかにするため実験を行った。

〔方法ならびに成績〕

妊娠19~20日の胎児頭蓋骨に、0.2% crude collagenase を作用させ、骨芽細胞を分離する。この細胞浮遊液に対して、種々の濃度 (2~30nM) の標識ステロイド： ^3H -Dexamethasone (^3H -DM), ^3H -Estradiol (^3H -E₂), ^3H -Dihydrotestosterone (^3H -DHT), ^3H -R5020を加えて37℃で、1時間、incubationする。そのうち、細胞をホモゲナイズし、核分画と、細胞質分画に分離し、それぞれの放射能活性を測定した。(whole cell incubation system) 尚incubationに際し、100倍量の非標識ステロイドを加えないもの (total bound) と、加えたもの (non-specific bound) を同時に incubationし、その差を specific boundとした。

competitive studyは、10nMの ^3H -DMのtotal boundに対して、100倍量の非標識ステロイドを competitorとして加えた際のboundを%で表わした。更に、レセプターの沈降定数を知るため、核分画の、 ^3H -DM-レセプター複合体を、0.4M KClで抽出し、0~20%のsucrose density gradient

を行った。

以上の結果は、(1) 骨芽細胞の分離：collagenase digestionで、1～2時間の間に分離される細胞は、90～95%が、alkaline phosphataseに強陽性を示し、骨芽細胞に富む細胞群として得られた。(2) specific bound：³H-DMは、核分画で、 $55.2f \cdot \text{mol}/4 \times 10^6 \text{ cells}$ 、細胞質分画で、 $1.8 f \cdot \text{mol}$ のspecific boundを認めた。一方、³H-E₂及び、³H-DHTについては、いずれにもspecific boundは認められない。³H-R5020については、non-specific boundも非常に高く、specific boundとは断定しがたい。(3) ³H-DM-specific boundの特異性：³H-DMのspecific boundの濃度曲線では、低濃度で高い結合を示し、濃度が増すと飽和されることがわかった。Scatchard analysisでは、直線上にplotされるsingle classのbinding siteを示す。dissociation constant(K_d)は $3.3 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、binding sitesは、 $65f \cdot \text{mol}/4 \times 10^6 \text{ cells}$ (9750/cell)と計算される。competitive studyでは、CorticosteroneはDMと同等であり、E₂、DHTは全く競合を認めず、Pは約60%の競合を示す。

³H-DM-レセプター複合体の沈降定数は、4.0Sであった。尚、このwhole cell incubation systemでは、specific boundのほとんどが、核分画に認められ、³H-DM-レセプター複合体が、細胞質から核へ移行していることを示している。又、内因性のステロイドホルモンを除去することができない場合、細胞質のレセプターは、すでに核へ移行していることが考えられ、cytosol fractionを用いるcell free systemより、このwhole cell incubation systemの方法が、より明瞭なspecific boundを証明することができた。

[総括]

ラット胎児頭蓋骨から、骨芽細胞を分離し、グルココルチコイド、エストロゲン、アンドロゲン、プロゲステロンに対するレセプターの有無を検索した。その結果、骨芽細胞は、グルココルチコイドに対しては、レセプターを有し、核へ直接作用し、生物学的作用発現に至る標的細胞であることが判明した。一方、エストロゲン、アンドロゲン、プロゲステロンに対しては、レセプターを有せず、直接作用をうける標的細胞ではなく、何らかの二次的作用をうける細胞であることが判明した。

論文の審査結果の要旨

ラット胎児頭蓋骨から、酵素処理により骨芽細胞を分離する方法を確立し、その骨芽細胞について、種々のステロイドホルモンに対するレセプターの有無を明らかにしている。

結果は、グルココルチコイドに対しては、レセプターを有し、核へ直接作用する標的細胞であるが、エストロゲン、アンドロゲン、プロゲステロンに対しては、レセプターを有しないことを示している。

本論文は、骨に対するステロイドホルモンの作用機序を知る基礎として意義深い研究である。