Osaka University Knowledge Archive

Title	家兎胃壁細胞におけるforskolinのc-AMP産生および酸分泌刺激効果
Author(s)	高橋, 修一
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33607
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・（本籍）　高橋修一（たかはししゅういち）

学位の種類　医学博士

学位記番号　第 6277 号

学位授与の日付　昭和59年1月9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　**家兎胃壁細胞におけるforskolinのc-AMP 産生および酸分泌刺激効果**

論文審査委員　（主査）教授 木谷 照夫
（副査）教授 垂井清一郎　教授 和田 博

論文内容の要旨

（目　的）

胃壁細胞において，histamineの酸分泌刺激作用は壁細胞c-AMP産生に依存しており，c-AMP が second messenger として重視されている。一方，シソ科植物 Coleus forskohlii より抽出精製された major diterpene の一つである forskolinは，種々の組織でc-AMP産生系を持異的かつ直接に刺激する物質として近年注目されている。本剤は，ホルモンによるc-AMP 産生促進作用を増強する特性をも有し，細胞生理機能のc-AMP 依存性を分析する上に有用である。本研究は，胃壁細胞に対してもforskolin の作用が認められるか否かを 1. forskolin の壁細胞c-AMP 産性作用　2. forskolinの酸分泌刺激作用　3. histamine によるc-AMP 産生刺激および酸分泌刺激に対する forskolin の増強効果の点より検索し，壁細胞c-AMP と酸分泌の関連を見たものである。

（方法ならびに成績）

（**方法**）a. 胃粘膜細胞標本の作成　家兎摘出胃粘膜の胃底腺領域を剥離細切し，pronase および collagenase を作用させ次いで300 mesh ナイロンフィルターで濾過し遊液胃粘膜細胞を得た。この細胞浮遊液を更に12 μm polycarbonate membrane にのせ，細胞の大きさより parietel cell-enriched fraction（P分画）と parietel cell-depleted fraction（non P分画）に分離した。遊離胃粘膜細胞，PおよびnonP 分画の壁細胞含有率は，それぞれ平均40, 65, 7.6%であり viability は95 %以上であった。

b. c-AMP測定　0.5 mM isobutylmethylxanthine を加えた分離細胞浮遊液を用いて各種の実験操作を行った後，RIA kit にて測定した。

c. 酸分泌測定　細胞レベルでの酸分泌反応は遊離胃粘膜細胞を用い，壁細胞に集積した ^{14}C－aminopyrine（^{14}C－AP）を測定することによった。

（成績）1. forskolin の壁細胞 c-AMP 産生作用

71 μM forskolin 刺激に対するP およびnon P 分画の c-AMP 産生を 0, 2, 5, 10, 20 分と経時的に測定した。両分画の c-AMP 値は著明に上昇し，刺激後20 分でほぼ plateau に達し，P 分画はnon P 分画の約 2 倍の値を示した。両分画の非壁細胞数は同数に調整しているので，両分画の差は胃壁細胞に由来しているものと推測され forskolin は壁細胞に対し c-AMP 産生を惹起しうると考えられた。

次にP 分画を用いて c-AMP 産生における forskolin の用量反応を調べたところ，71 nM～7.1 μM の間で用量反応関係が見られ EC_{50} は 3.42 μMであった。

2. forskolin の酸分泌刺激作用

0.71 mM histamine および 71 μM forskolin 刺激により 0, 5, 10, 15, 20, 40, 60 分 と経時的に ^{14}C－AP accumulation を測定した。刺激後20分で両者とも plateau に達したが 0.1 mM dinitrophenol（DNP）添加群は 60分まで変化を示さなかった。酸分泌反応により細胞内に取り込まれた ^{14}C－AP の値は，測定値よりDNP添加群の値を差し引くことにより求めた。刺激後 20 分で forskolin，histamine 刺激はそれぞれcontrol の 6.7 及び 4.2 倍であり，前者は後者より刺激効果が強かった。

incubation 時間を 20 分として forskolin の用量反応を見ると，71nM～ 7.1 μM の間で用量反応関係が得られ EC_{50} は 1.28 μM であった。

3. histamine による c-AMP 産生および酸分泌刺激に対する forskolin の増強効果

forskolin 単独では c-AMP 産生，^{14}C－AP accumulation 上昇を来たさない低濃度 forskolin を，histamine 反応系に添加しその増強効果を検討した。

histamine は，0.71 μM～ 0.71 mM の間でP 分画 c-AMP 産生を用量反応的に上昇させる。この反応系にforskolin 20nMを添加すると，histamine 71μM 及び 0.71 mM 刺激時，42.9 ± 2.4，48.1 ± 1.5 pmol／10^6 parietal cells・20 min が添加群では 56.2 ± 1.2，84.1 ± 7.0 にと有意に増強された。同様に histamine 刺激により得られる ^{14}C－AP accumulation 用量反応系に 20 nM forskolin を添加したところ有意に増強され，71nM forskolin 添加は 20nM forskolin 添加反応系を更に増強した。しかし，いずれも EC_{50} はほとんど影響を受けなかった。

（総　括）

1. forskolin は家兎分離壁細胞の c-AMP産生を惹起し，P 分画c-AMP 産生を 用量反応的に上昇させた。

2. forskolin は遊離胃粘膜細胞において ^{14}C－AP accumulation を用量反応的に刺激しその 最大刺激は histamine のそれより強かった。

3. 単独では作用のない低濃度 forskolin 添加は histamine による c-AMP 産生，^{14}C－AP accumulation の両者の反応を有意に増強した。

4. 以上より，forskolin の胃壁細胞に対する作用が確認され，かつ壁細胞 c-AMP が酸分泌反応に極めて重要な役割を担っていることが，より明確となった。

論文の審査結果の要旨

本論文は，家兎胃粘膜より分離壁細胞分画を作製し， forskolin のc-AMP 産生促進作用およびhistamine による c-AMP 産生促進作用に対する forskolin の増強効果を明らかにしたものである。また遊離胃粘膜細胞を用いた細胞レベルでの酸分泌反応においても， forskolin の，酸分泌刺激作用およびhistamine 刺激酸分泌増強効果を実証し，壁細胞c-AMP が酸分泌に重要な役割を果たしている ことを示した。本研究は酸分泌機構を考える上に興味ある知見を加えた点で価値あるものと認める。