Osaka University Knowledge Archive

Title	培養軟骨細胞におけるcyclic AMP levelと基質合成に及ぼすMSA (Multiplication stimulating activity)の影響
Author(s)	辻, 光子
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33810
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

【66】

氏名・（本籍）	辻（つじ）　光子（みつこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6230 号
学位授与の日付	昭和58年12月1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	**培養軟骨細胞におけるcyclic AMP level と基質合成に及ぼすMSA（Multiplication stimulating activity）の影響**
論文審査委員	（主査） 教授 熊原 雄一 （副査） 教授 坂本 幸哉　教授 和田 博

論文内容の要旨

（目　的）

成長ホルモンは骨・軟骨の成長に重要な役割を果たしているが，このホルモンはソマトメジンを介して作用する事がよく知られている。しかしソマトメジンが骨・軟骨にどのように作用するのかは明確にされていない。そこで私は，Baffalo ラット肝細胞の細胞培養液よりソマトメジンの1種であるMSAを分離精製し，ウサギの肋軟骨・骨移行部よりとり出した成長軟骨細胞を用いて，MSA の軟骨基質合成に及ぼす影響並びに細胞内 cyclic AMP（cAMP）level に及ぼす影響を検討した。

（方法ならびに成績）

MSAはBaffalo ラット肝細胞の血清無添加培養液より，Moses らの方法に準じて精製した。精製したMSAはCollaborative Research 社より購入したMSAと同じ比活性を軟骨細胞のDNA合成および軟骨基質合成に対して示した。

実験に用いた軟骨細胞は，幼若雄ウサギの肋軟骨・骨移行部より成長軟骨部を無菌的に取り出し，EDTA・トリプシン・コラゲナーゼ処理を行い細胞を分離し，EagleのMEN培養液（10％ウシ胎仔血清含有）で培養したものを用いた。線維芽細胞は生後3ケ月の乳児の皮膚より採取したもので，4代から10代目を用いた。

Confluent に達した成長軟骨細胞を血清無添加培地で24時間前処置した後，培地を交換し，MSA と $H_2{}^{35}SO_4$ を同時に添加して，軟骨基質合成への影響を検討すると，MSAは 0.2－1 $\mu g/ml$ の濃度で著明に基質合成を促進した。

一方 Parathyroid hormone（PTH）も軟骨細胞の基質合成を促進することが知られており，この作用

は細胞内 cAMP を介して行なわれる事が判明している。そこでMSAを添加して軟骨細胞内および培養液中の cAMP level を測定した。MSA 1 $\mu g/ml$ の濃度では，細胞内・培養液中の cAMP に変化は認められなかった。

Anderson らは1979年ニワトリ胚の線維芽細胞で，MSAが prostaglandin E_1（PGE$_1$）によって上昇した cAMP level を抑制すると報告している。そこで。軟骨細胞にPTHとMSAを添加してPTHにより上昇した cAMP level に及ぼすMSAの影響を検討した。PTH単独では cAMP は添加後5分で最高となりその後すみやかに減少した。しかしこの cAMP level はMSAを添加しても全く変化を認めなかった。MSA の濃度を 0.01～10 $\mu g/ml$ まで変化させても同じ結果であった。次に PGE$_1$ とMSAを軟骨細胞に添加し cAMP level を測定した。PGE$_1$単独では cAMPは添加後5分から20 分で最高に達し，以後除々に減少したが，MSAを同時に添加しても全く変化は認められなかった。そこでヒトより採取した線維芽細胞を用いて，PGE$_1$ と MSAを加え，cAMPを測定したところ，Anderson らの報告にもみられた様に，MSA は 線維芽細胞における PGE$_1$ による cAMPの上昇を抑制した。これらの結果より，MSAの作用機作は軟骨細胞と線維芽細胞と線維芽細胞とでは異なる事が示唆された。

軟骨細胞でのMSAの作用機作をさらに詳細に解明するため，MSAと dibutyryl cyclic AMP（$(Bu)_2$ cAMP）を用いて 軟骨基質合成に及ぼす影響を$H_2{}^{35}SO_4$のとりこみを指標として検討した。添加後7時間で比較すると，MSAは30％ $(Bu)_2$ cAMP は60％MSAと $(Bu)_2$ cAMP 同時添加では170％の合成促進を示した。14時間後では，MSAは110％，$(Bu)_2$ cAMPは100％，MSAと $(Bu)_2$ cAMP 同時添加では190％の合成促進を示し，相加的効果が認められた。又 ^{3}H-- serineを用いて軟骨細胞の総蛋白や基質へのとりこみについても同様に検討した結果，$(Bu)_2$ cAMPとMSAとの同時添加群で相加的合成促進効果が認められた。

（総　括）

Baffalo ラット肝細胞より精製したソマトメジンの1種であるMSAは，培養成長軟骨細胞において，細胞内 cAMP を介する事なく基質合成を著明に促進した。又 PTH や PGE$_1$ の cAMP上昇効果に何ら影響を及ぼさなかった。これらの結果は線維芽細胞で認められるMSAによるPGE$_1$ のcAMP上昇を抑制する作用とは異なる事から，軟骨細胞と線維芽細胞ではMSAの作用機作が異なると考えられる。又軟骨細胞においてMSAと cAMP analogue との蛋白合成および基質合成に対して認められた相加効果より，MSA（ソマトメジン）は軟骨細胞では cAMPとは関係なくDNA合成，蛋白合成および基質合成を促進すると考えられる。

論文の審査結果の要旨

培養軟骨細胞でMSAが cyclic AMP を介さずソマトメジン作用を発現するというこの見解は，今まで不明確であったソマトメジンの軟骨細胞への作用機作を解明する為の1つの手がかりとなる。又，軟

骨細胞と線維芽細胞でのMSAの作用の相違はMSAのmultiplicationを示す新しい知見である。これら一連の研究は骨・軟骨の成長の機構の解明に大きく貢献し，医学の進歩に寄与するものと考える。