

Title	糖尿病ラットの腎における25hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase活性に及ぼすプロスタグランディンE2およびインドメサシンの効果
Author(s)	黒瀬, 裕史
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35532
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)	くろ 黒	せ 瀬	ひろ 裕	ふみ 史
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7388	号	
学位授与の日付	昭和61年7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	糖尿病ラットの腎における25hydroxyvitamin D ₃ -1α-hydroxylase活性に及ぼすプロスタグランジンE ₂ およびインドメサシンの効果			
論文審査委員	(主査)			
	教授 藪内 百治			
	(副査)			
	教授 垂井清一郎		教授 坂本 幸哉	

論文内容の要旨

[目的]

ストレプトゾトシン投与により作製された糖尿病ラットにおいて、血中1,25(OH)₂D値の低下、あるいは腎皮質スライスの25OHD₃-1α-hydroxylase活性の低下が報告されているが、それらによると、副甲状腺ホルモンや血中リンの変動は本酵素の活性低下の原因とは考えられず、その作用機序はいまだあきらかではない。

一方、糖尿病状態では、人あるいは動物で、腎、肺、血小板などの臓器において、prostacyclinやthromboxaneなどの各種プロスタグランジン合成の変動が報告されている。この中でプロスタグランジンE₂(PGE₂)はニワトリ腎における1,25(OH)₂D産生に促進効果が認められているので、糖尿病ラットでのビタミンD代謝障害に、プロスタグランジンが関与している可能性が考えられる。そこで私は糖尿病ラット腎皮質細胞を単離し、25OHD₃-1α-hydroxylase活性に及ぼすPGE₂と、プロスタグランジン産生抑制作用のあるインドメサシン(IN)の影響を調べた。

[方法]

(1) 糖尿病ラットの作製

生後3週の雄性SD系ラットを、ビタミンD欠乏食(0.5%Ca, 0.6%P)にて6週間飼育した後、対照と糖尿病ラット群に分け、後者にはストレプトゾトシン(65mg/kg)を静注した。投与3日目に糖尿病状態と確認されたラットを更に非治療群と治療群に分け、治療群には、毎日インスリン(4単位)を投与した。治療開始5日後にラットを実験に供した。

(2) 腎皮質細胞の単離と酵素活性の測定

エーテル麻酔下でラットを開腹し、腎臓を酵素液 (collagenase と hyaluronidase) で灌流した後に摘出した。細切した腎皮質を30分間酵素液で処理した後、ham's F-12 medium に浮遊させ 10^6 cells/ml の濃度に調整した。続いて 37°C $95\% \text{O}_2$ $5\% \text{CO}_2$ の気相下で、30分間 PGE_2 と IN を単独あるいは同時に添加し pre-incubate した。その後基質として $[^3\text{H}] \cdot 25\text{OHD}_3$ を加え、更に1時間 incubate した。酵素反応を methanol で止め、dichloromethane : methanol 法でビタミン D_3 成分を抽出し、high performance liquid chromatography (溶媒、hexane : dichloromethane : methanol = 84 : 10 : 6) にて 25OHD_3 、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、 $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 分画を得た。各分画の放射能を測定し、 25OHD_3 から 25OHD_3 メタボライトへの転換率を計算し、腎細胞での酵素活性を求めた。

[成 績]

(1) 対照群の 1α -hydroxylase 活性

10nM から $1.0\mu\text{M}$ の濃度の PGE_2 に対して、腎皮質細胞の 1α -hydroxylase 活性は、濃度依存性に促進されたが、 $2.8\mu\text{M}$ ではその促進効果は低下した。 IN ($20\mu\text{M}$) は本酵素活性を有意に抑制し、 PGE_2 の促進効果を低下させた。以後の実験では、 $1\mu\text{M}$ PGE_2 および $20\mu\text{M}$ IN を用いた。

(2) 糖尿病群の 1α -hydroxylase 活性

糖尿病群の 1α -hydroxylase 活性は対照群に比べ低下しているとともに、 PGE_2 の促進効果および IN の抑制効果が認められなかった。しかし、インスリン治療により同酵素活性は回復し、 PGE_2 および IN に対する反応も回復した。

[総 括]

- (1) ビタミン D 欠乏ラットの腎皮質細胞の 25OHD_3 - 1α -hydroxylase 活性を、 PGE_2 は濃度依存性に促進したが、高濃度ではその効果が低下し、至適濃度の存在を示した。一方、 IN は同酵素活性を抑制し、 PGE_2 の促進作用を低下させた。
- (2) 糖尿病ラット非治療群では、 25OHD_3 - 1α -hydroxylase 活性に対する PGE_2 の促進効果ならびに IN の抑制効果が認められなかったが、インスリン治療により、これらの物質に対する反応性が回復した。これらの事実から、糖尿病ラットの腎における 25OHD_3 - 1α -hydroxylase 活性低下の原因のひとつには、 PGE_2 に対する本酵素の反応性の低下があると推察される。

論文の審査結果の要旨

実験糖尿病ラットの腎において 25 -hydroxyvitamin, D_3 - 1α -hydroxylase 活性が低下していると言われるが、その詳しい機序は明らかではない。

本研究は糖尿病ラット腎皮質細胞の同酵素活性が、プロスタグランジン E_2 により促進されず、かつインスリン治療により再びこの促進作用が回復することを実証したもので、糖尿病ラットの 1α -hydroxylase 活性低下の原因の一つとして、プロスタグランジンが関与していることを示唆している点で興味深い。