



Title	運動神経終末でAChと共存するカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の作用について
Author(s)	橋本, 和哉
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36003
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【14】

氏名・(本籍)	はし 橋	もと 本	かず 和	や 哉
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8091	号	
学位授与の日付	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	運動神経終末でAChと共存するカルシトニン遺伝子関連 ペプチド(CGRP)の作用について			
論文審査委員	(主査) 教授	吉田	博	
	(副査) 教授	和田	博	教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

〔目的〕

近年、新たに発見された Calcitonin gene-related peptide (CGRP) は、免疫組織学的手法により、既に生体内分布が調べられており運動神経においては、運動神経終末でAChと共存し、おそらく、神経終末より遊離されると考えられている。我々は、CGRPの生理作用を筋収縮系で調べ、受容体、二次伝達物質について検討した。さらに、その長期作用を検討するため、除神経後の骨格筋における adenylyate cyclase (AC) 系の変化と、除神経された状態である骨格筋細胞培養でのAC系に対するCGRPの作用について検討した。

〔方法ならびに成績〕

1) 筋収縮の増強作用について

Organ bath中で、神経を介して、及び、直接ラット横隔膜を電気刺激して収縮させた。CGRPは、両者の筋収縮を増強させた。

2) 二次伝達物質、受容体について

ラット横隔膜において、CGRPの刺激によりc-AMP量が上昇したがc-GMP量には変化がなかった。さらに膜フラクシオンでCGRPは、ACを活性化させた。この効果はpropranololで抑制されず、β-受容体を介さないと考えられた。また、 $10\text{pM}^{125}\text{I}$ -CGRPの結合は非放射性CGRPによって濃度依存性に抑制され、骨格筋膜にはCGRPに特異的な結合部位、受容体が存在すると考えられた。

3) 除神経後のAC系の変化について

除神経すると、CGRP受容体に感受性の増大がおこるという予想のもとに、除神経後の変化を検討

した。250 g前後のSDラットの坐骨神経をpentobarbital麻酔下に切断し、対側を対照とした。AC活性は、Jakobsらの方法により、 ^{32}P -ATPをラット腓腹筋膜とincubateし、生成された ^{32}P -cAMPをカウントした。除神経後、30日までのCGRP, norepinephrine, NaF, forskolin刺激によるAC活性の経時的变化を比較すると、forskolin刺激によるAC活性の上昇が最大であった。このことは、受容体レベルよりもAC catalytic unitにおいて活性上昇のおこっていることを示唆する。

この変化を明確にするため、 ^3H -forskolinをあらかじめcollagenase処理により、単離したラット腓腹筋より分離した細胞膜分画に結合させGF/Fフィルターにてfiltrationを行い、カウントした。除神経後細胞あたりのforskolin binding量は増加し、それはforskolin刺激によるAC活性の経時的变化と類似していた。さらに ^3H -forskolinの結合を非放射性forskolinで阻害した阻害曲線は除神経側と対側とで、有意の差がなく、除神経によりforskolin結合に対する親和性の増大はないと考えられた。従って、除神経によるAC活性の増加は、ACのcatalytic unit量の増加によるものと考えられた。

4) 骨格筋細胞に対するCGRPの長期効果

新生児ラットの腓腹筋をcollagenase処理により単離し、10% calf-serumを加えたMEM培地中で、3日間、保存的に培養した後、種々の薬物にexposeさせた。1 μM のCGRPに培養中でexposeさせて1日後の細胞膜でCGRP, isoproterenol, NaF, forskolinによるAC活性を比較するとCGRPによるものが最も低値となった。従って、1日のCGRP exposureによってCGRP受容体レベルでの脱感作が最も強くおこると考えられる。

さらに、日数をふやしていくと、CGRPよりも、むしろforskolin刺激によるAC活性の抑制の方が強くなり、長期にわたるCGRPのexposureは受容体レベル以後、特にAC catalytic unitを中心とした脱感作をおこしていると考えられる。さらにdbc-AMP (1 mM) をexposeさせた場合についても検討を行なったが、この場合も対照に比べて、basal AC活性の低下が見られ、CGRPによる脱感作の少なくとも一部はc-AMPを介するものと考えられる。

[総括]

運動神経において、AChと共存するCGRPの生理作用について検討した。数分以内の短期的には、骨格筋に対してCGRPに特異的な受容体を介してACを活性化させ、電気刺激による筋収縮を増強させることを明らかにした。さらに、除神経後にAC系がsupersensitivityをおこしたことから、培養系で、CGRPの長期exposureがAC系に脱感作をおこしたことからCGRPの骨格筋に対する長期作用として、AC系をネガティブに調節するtrophic factorとしての作用があると考えられた。

論文の審査結果の要旨

CGRPは免疫組織学的手法により、運動神経終末でAChと共存することが報告されているが、その生理作用、存在意義については、未だ検討されていない。そこで、橋本は、CGRPの骨格筋への作用を検討し、以下の結果を得た。数分という短期的には、特異的な受容体を介して、A-cyclaseを活性化

せ、c-AMP量を増加し、筋収縮を増強する。CGRPの影響を除いた状態の変化を検討するため、除神経を行なうと、A-cyclase系のcatalytic unit量の増加をひきおこす。筋細胞の培養により同様に、A-cyclaseのcatalytic unitの増加が起こるが、CGRPあるいはdbc-AMPの存在により抑制された。このCGRP存在による活性低下は、1日exposureの時には、CGRP受容体レベルで、3日間exposureの時には、A-cyclase catalytic unitでの抑制が主因と考えられた。

以上、CGRPの短期的な作用だけでなく、長期的にA-cyclase系への効果も検討し、CGRPがA-cyclase系を調節する神経由来の因子としての可能性を見出した点で、注目に値し、学位論文として価値あるものとする。