



Title	Stimulatory Effect of 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 on Trans-ferrin Synthesis in Primary Cultures of Adult Rat Hepatocytes
Author(s)	谷口, 和久
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37506">https://hdl.handle.net/11094/37506</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	谷	口	和	久
学位の種類	たに	ぐち	かず	ひさ
医 学 博 士				
学位記番号				
第 9 5 6 6 号				
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 5 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	Stimulatory Effect of 1, 25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> on Transferrin Synthesis in Primary Cultures of Adult Rat Hepatocytes (ラット初代培養肝細胞におけるトランスフェリン合成に及ぼす 1,25-ジヒドロキシビタミン D <sub>3</sub> の影響に関する検討)			
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 俊男 (副査) 教授 田川 邦夫 教授 鎌田 武信			

### 論文内容の要旨

#### (目的)

1,25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> [1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] はカルシウム代謝調節ホルモンとして重要であるばかりでなく、種々の細胞に対して増殖、分化など様々な細胞機能に影響を与えることが知られている。しかし肝細胞に対するこのステロールの作用については知られていない。本研究ではラット初代培養肝細胞に対する 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> のトランスフェリン合成に及ぼす影響についてデキサメサゾンの効果と比較検討した。

#### (方法)

肝実質細胞は 250-270 g (生後 7 週) の雄性 Wistar 系ラット肝より collagenase を用いて採取し、 $2 \times 10^{-9}$  M インシュリン、 $10^{-8}$  M デキサメサゾン、および 5 % ウシ胎仔血清を含む L-15 培地にて type-1 コラーゲン処理した 35 mm dish に 37°C, 5 % CO<sub>2</sub> 気相下で培養し、24 時間後に培養液を交換し、48 時間後まで培養した。その後、各種刺激物質を添加した血清不含 DMEM にて培養液を置換し、更に 4 時間後、および 24 時間後まで培養した。これら各時点において、トリパンブルー染色により 95 % 以上の肝細胞が生存していることを確認した。採取した培養液に 60 % 硫酸アンモニウムを加え、超遠心 (30,000 xg, 30 分) を行い、沈渣をリン酸緩衝液 (PBS) にて溶解し、分子量約 10,000 カットのセロファンチューブ中にて 4 °C, 24 時間透析を行い脱塩処理した。その後サンプルを SDS-PAGE, 銀染色に供し、分泌蛋白の変動を検討した。また、<sup>125</sup>I-トランスフェリンを用いたRIA 法にて培養液中のトランスフェリン濃度を測定した。

## (結 果)

- ①  $1,25-(OH)_2D_2$ , 25-ヒドロキシビタミンD<sub>2</sub> ( $25-OHD_3$ ), 24, 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> [ $24,25-(OH)_2D_3$ ], デキサメサゾンのラット初代培養肝細胞の蛋白分泌に及ぼす影響

$1,25-(OH)_2D_3$  は  $10^{-2}$  M 以上の濃度で、添加24時間後の培養液中へのトランスフェリン分泌を濃度依存的に増加させ、 $10^{-8}$  Mにおいて control 群に比して 140% の最大効果を示した。又、他のビタミンD<sup>3</sup> 代謝産物である  $25-OHD_3$ , 24, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> においてもトランスフェリン分泌増加作用を認めたがいずれも有効濃度は  $10^{-6}$  M と  $1.25-(OH)_2D_3$  に比し高濃度を要した。 $10^{-6}$  M のデキサメサゾンはトランスフェリン分泌を control に比し 150% に増加させた。一方、肝細胞におけるアルブミン分泌に対しては、 $10^{-6}$  M のデキサメサゾンは control に比し 125% の増加作用を示したが、 $1.25-(OH)_2D_3$  ( $10^{-10}-10^{-8}$  M),  $25-OHD_3$  ( $10^{-7}$  M), 24, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ( $10^{-7}$  M) は有意の作用を与えたかった。また、これらのトランフェリン、アルブミンの分泌に及ぼす  $1.25-(OH)_2D_3$  およびデキサメサゾンの効果は刺激後 4 時間では認められなかった。

- ② アクチノマイシンDによる蛋白分泌抑制効果の検討

$10^{-7}$  M のアクチノマイシンDを上記各種刺激物質に同時添加しても、 $1,25-(OH)_2D_3$  のトランスフェリン分泌に対する増強効果は有意に抑制されなかったが、デキサメサゾンのトランスフェリン、アルブミン分泌に対する増強効果は消失した。

## (総 括)

- ①  $1,25-(OH)_2D_3$  は生理的濃度付近より肝細胞からのトランスフェリン分泌を増強させる作用を有することを明らかにした。
- ② 他のビタミンD<sub>3</sub> 代謝産物である  $25-OHD_3$ , 24, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> においても同様の作用を認めだが、より高濃度を要することから、 $1,25-(OH)_2D_3$  の肝細胞におけるトランスフェリン分泌促進作用は、細胞内の特異的受容体を介することが示唆された。
- ③ デキサメサゾンは従来の報告通り、肝細胞におけるトランスフェリン、アルブミン分泌に対し増強作用を示したが、これらの作用は mRNA 合成阻害剤であるアクチノマイシンDによりほぼ完全に阻害されたことにより、核における mRNA 产生段階に作用していることが推察された。一方、 $1,25-(OH)_2D_3$  のトランスフェリン分泌増強作用はアクチノマイシンDによる有意の抑制を受けなかったことにより、 $1,25-(OH)_2D_3$  は肝細胞に対してデキサメサゾンとは異なった経路でトランスフェリン分泌に影響を与えることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

活性型ビタミンDである  $1,25$ -ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> [ $1,25-(OH)_2D_3$ ] はカルシウム代謝調節ホルモンとして重要であるが、最近その受容体がカルシウム代謝調節臓器以外の組織に存在することが報告されている。しかし、肝臓に対する  $1,25-(OH)_2D_3$  の作用は未だ明らかではない。本研究

は、肝臓の主要な生理作用である蛋白合成に対する $1,25-(OH)_2D_3$ の作用を明らかにする目的で、初代培養肝細胞を用い、 $1,25-(OH)_2D_3$ のトランスフェリン合成に対する影響を検討したものである。その結果、 $1,25-(OH)_2D_3$ は濃度依存性をもってトランスフェリン合成を増強することを明らかにした。また、その作用機序として、 $1,25-(OH)_2D_3$ のこの作用はその特異的受容体を介している可能性があること、さらにアクチノマイシンDを用いた検討から $1,25-(OH)_2D_3$ はトランスフェリンのtranscriptionではなくtranscription以降の段階に作用することによってトランスフェリン合成を増強したことが示唆された。以上より、本研究は肝臓が $1,25-(OH)_2D_3$ の新たな標的器官であることを明らかにし、学位論文に値するものである。