The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	副腎カテコールアミン遊離における環状ヌクレオチドの役割
Author(s)	森田, 克也
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37600
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 3 】

氏名・(本籍)	森田克也（もりたかつや）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 9230 号
学位授与の日付	平成 2 年 5 月 10 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	**副腎カテコールアミン遊離における環状ヌクレオチドの役割**
論文審査委員	(主査) 教授 岩田平太郎 (副査) 教授 真弓 忠範　教授 西原 力　教授 三村 務

論文内容の要旨

Sutherland一派によりsecond messenger 学説が提唱されて以来現在ではcyclic nucleotides (cyclic AMP (cAMP), cyclic GMP (cGMP)) のみならずCa^{2+}, phosphoipid代謝物などが細胞応答の細胞内second messenger として組み込まれており，これらsecond messenger の濃度はホルモン，神経伝達物質等のfirst messenger によって変化するのみならず相互にそれぞれの代謝に影響し，さらに1つの情報伝達機構が他の情報伝達機構と相互作用することによって複雑なネットワークを形成し細胞機能を精密に調整していることが示唆されつつある。

1961年 Douglas らは副腎からのカテコールアミン(CA) 遊離に関する実験より始めて刺激－分泌連関なる概念を示し，このcouplingにおけるCa^{2+} の機能についての仮説を提唱して以来，Ca^{2+}がCA分泌機構においてsecond messenger として中心的役割を演じていることが明確になってきた。一方cAMP は細胞活性の調節に働き，いくつかの腺の分泌機構に mediator として組み込まれていることが示唆されている。副腎CA分泌に於けるcAMP の関与についてはPeach が最初に外液Ca^{2+}に関係しないcAMP のCA遊離作用を見出したが，cAMP の蓄積がCA遊離より遅れること，cAMPの産生は遊離されたCAのβ作用による可能性などが示されやや否定的である。著者は灌流副腎を用い極めて短い時間で観察しCA遊離に先立つcAMP，cGMPの増加を見出した。これはcyclic nucleotides がCA遊離に何らかの生理的役割を果たしている可能性を示唆するものである。本研究ではcyclic nucleotides のCA遊離における役割を明確にするためcyclic nucleotides とCA遊離との関係，さらにcyclic nucleotides のCA遊離に対する作用の機序について検索し以下の結果を得た。

イヌ摘出灌流副腎およびウシ培養副腎髄質細胞を用いcyclic nucleotides のCA遊離に対する役割

について検討を加えた。

CA遊離刺激による灌流流出液中のcyclic nucleotides濃度の変化を短い時間間隔で連続して測定することにより検討を加えた結果，ACh投与によりCA遊離に先立ちcAMP，cGMPの灌流流出液中への放出が増加した。この放出は副腎髄質のcAMP，cGMP濃度の変動と時間的によく一致することを認め，灌流流出液中への流出は細胞内濃度の変化を知る鋭敏な方法であることを示した。さらに異なった機序によりCA遊離を引き起こすnicotine，bethanechol，excess KCl投与によってもcAMP，cGMPはCA遊離に先立って増加し，また特異的拮抗薬によりCA遊離およびcAMP，cGMPの増加は共に抑制された。

CA遊離に細胞内Ca^{2+}の増加が必須である。外液Ca^{2+}除去およびCa^{2+}チャンネル阻害剤をもちいて検討し，細胞内Ca^{2+}の増加がcAMP，cGMPの増加に関係することを示唆した。副腎髄質adenylate cyclase活性はEGTA存在下Ca^{2+}付加により活性化され，分泌促進剤では変化しないことを示した。哺乳動物では脳を含む特定臓器のadenylateがCa^{2+}-calmodulinで活性化されることが知られており，副腎髄質でも同様の機構が示唆された。

Cyclic nucleotidesがCA遊離に関係しているとすると，cyclic nucleotidesを増加させる処置はCA遊離の引金となるかあるいは修飾すると考えられる。膜透過性cAMP誘導体であるDBcAMPはCA自然遊離を軽度促進し，AChによるCA遊離を濃度依存性に増強することを見出した。同様の作用はphosphodiesterase阻害剤でcAMPを増加させても得られ，CA遊離にcAMPが関与することを示した。cAMPは種々の分泌促進剤によるCA遊離も同程度増強することを示し，共通の分泌機構に作用していることが示唆された。またCA遊離にcGMPの関与は少ないことを示した。

各種adenylate cyclase活性化剤によるcAMPの増加とCA自然遊離の促進とは直接的な関係はなかった。しかし，これらの活性化物質によるAChによるcAMP放出の増強とAChによるCA遊離の増強とは密接に関係していた。これらのことよりcAMPはCA遊離を促進的に調節していることを示唆した。

cAMPのCA遊離促進機序を明確にするため，cAMPのCa^{2+}動態におよぼす作用について検討を加えた結果Ca^{2+}uptake，Ca^{2+}efflux を共に促進することにより分泌刺激による細胞内Ca^{2+}濃度の上昇を増強しCA遊離増強作用を発現することを明かにし，加えてcAMPが副腎髄質粗ミクロソーム画分のNa^{+}, K^{+}- ATPaseを極めて低濃度（$10^{-8}-10^{-7}$M）で抑制することを認め，^{86}Rb，^{22}Naの細胞内への取込み実験の結果よりCA遊離増強機序の一部にNa^{+}, K^{+}- ATPaseの阻害に基づく二次的なCa^{2+}動態の修飾を介していることを明らかにした。

以上AChによる副腎CA遊離に先立って起るcAMP，cGMPの増加を見出した。その増加が細胞内Ca^{2+}濃度の上昇によるcyclaseの活性化によること，増加したcAMPがCA遊離において促進的に働くことを各種phosphodiesterase阻害剤，cAMP誘導体およびadenylate cyclase活性化剤（forskolin等）のCA遊離に対する作用から明らかにした。このcAMPの促進的なCA遊離調節機序についてはcAMPがCa^{2+}homeostasisに影響し分泌促進剤による細胞内Ca^{2+}濃度の上昇を増強することを示し，その機序の一部にcAMPによるNa^{+}, K^{+}- ATPase活性の阻害に基づくCa^{2+}homeostasis

の変化が含まれることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本論文は副腎からのカテコールアミン遊離における環状ヌクレオチドの役割とその詳細な機構について解明したもので，薬学博士の称号を授与するに値するものである。