



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37600">https://hdl.handle.net/11094/37600</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） | もり<br>森                     | た<br>田  | かつ<br>克 | や<br>也 |
| 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  $Ca^{2+}$ , phospholipid 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  $\beta$  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  $\text{Ca}^{2+}$  の増加が必須である。外液  $\text{Ca}^{2+}$  除去および  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル阻害剤をもちいて検討し、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$ -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、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  $\text{Ca}^{2+}$  動態におよぼす作用について検討を加えた結果  $\text{Ca}^{2+}$  uptake,  $\text{Ca}^{2+}$  efflux を共に促進することにより分泌刺激による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase を極めて低濃度 ( $10^{-8}$ – $10^{-7}$  M) で抑制することを認め、 $^{86}\text{Rb}$ ,  $^{22}\text{Na}$  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  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase の阻害に基づく二次的な  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis に影響し分泌促進剤による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 活性の阻害に基づく  $\text{Ca}^{2+}$  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。