

Title	Mechanism of Release of Beta-Endorphin from Rat Pituitary Cells. Role of Lipoxygenase Products of Arachidonic Acid.
Author(s)	西崎, 孝道
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37663">https://hdl.handle.net/11094/37663</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</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	にし 西	ざき 崎	たか 孝	みち 道
博士の専攻分野 の名称	博 士 (医 学)			
学位記番号	第	9 9 4 5	号	
学位授与年月日	平成 3 年 11 月 7 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当			
学位論文名	Mechanism of Release of Beta-Endorphin from Rat Pituitary Cells. Role of Lipoxygenase Products of Arachidonic Acid. (ラット下垂体細胞よりの $\beta$ -endorphin 放出におけるアラキドン酸および lipoxygenase 代謝産物の役割)			
論文審査委員	(主査)	教授	谷澤	修
	(副査)	教授	宮井	潔 教授 遠山 正

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

内因性 opioid である  $\beta$ -endorphin ( $\beta$ -E) は、CRF の刺激により下垂体より ACTH と共に分泌される。しかし、その情報伝達機構は明らかでない。近年、phospholipase A<sub>2</sub> が活性化されアラキドン酸が遊離されることにより  $\beta$ -E の分泌が促進されることも明らかになった。一般にアラキドン酸は 3 種の酵素 (cyclooxygenase, lipoxygenase 及び epoxygenase) で代謝され、それぞれの代謝産物が各種の生理活性を示すことがよく知られている。本研究では、下垂体細胞よりの  $\beta$ -E 分泌におけるアラキドン酸やその代謝産物の関与について検討した。

### 〔方法〕

#### 1) 下垂体細胞培養

Wistar 系雌ラットより摘出した下垂体前葉を 0.25% トリプシン及び 2.5 mg/ml パンクレアチンにて処理し、ピペットで単離、ナイロンメッシュで濾過し、細胞浮遊液を作製した。細胞は 2.5% 牛胎児血清、7.5% 馬血清及び抗生剤を含む RPMI 培養液中で  $0.5 \times 10^6$  / well の濃度で、24 well の plate で 5% CO<sub>2</sub> 95% 空気の条件下で 4 日間以上単層培養の後実験に供した。

#### 2) 実験方法

通常実験では単層培養した下垂体細胞を無血清 RPMI 培養液で 2 回洗浄した後、各薬剤を添加した medium を加え 2 時間 37°C で培養し、上清を採取後、上清中の  $\beta$ -E 濃度を RIA にて測定した。又、酵素阻害剤を用いた実験では阻害剤を含む medium で 30 分間洗浄細胞を前培養した後に、med-

ium を交換して新たに阻害剤と各種薬剤を含む medium を加え 2 時間培養し、上清中の  $\beta$ -E 濃度を測定した。RIA に使用した抗体は  $\beta$ -lipotropin との交差率は約 5% であった。

#### [成績]

- 1) アラキドン酸は  $5 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-5}$  M の範囲で濃度依存性に  $\beta$ -E 分泌を非投与群の最大 12.3 倍まで促進した。又、 $2 \times 10^{-5}$  M のアラキドン酸は 120 分までの範囲で時間依存性に  $\beta$ -E 分泌を促進した。
- 2)  $2 \times 10^{-5}$  M アラキドン酸による  $\beta$ -E の分泌は cyclooxygenase の阻害剤である indomethacin では抑制されなかったが、5-lipoxygenase の特異的阻害剤である AA-861 では 10 nM  $\sim$  1  $\mu$ M の範囲で濃度依存性に最大 37% まで抑制された。
- 3) 5-lipoxygenase 代謝産物である 5-HETE は  $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5}$  M の範囲で濃度依存性に、又、120 分間までの範囲で時間依存性に  $\beta$ -E の分泌を促進した。アラキドン酸による分泌よりも 5-HETE による分泌の方が速やかに起こった。
- 4) 他の lipoxygenase 代謝産物である leukotriene A<sub>4</sub> 及び B<sub>4</sub>、12-HETE 及び 15-HETE に  $\beta$ -E 分泌促進効果が認められた。
- 5) アラキドン酸によって促進された  $\beta$ -E 分泌は AA-861 によって抑制されたが、更にそれに 5-HETE を加えることにより、AA-861 の抑制効果は消失した。
- 6) AA-861 に比較して特異性が低い他のアラキドン酸代謝酵素阻害剤である NDGA (lipoxygenase 阻害剤) 及び ETYA (lipoxygenase 及び cyclooxygenase 阻害剤) はアラキドン酸による  $\beta$ -E の分泌を抑制したが、BW755C (lipoxygenase 及び cyclooxygenase 阻害剤) は有意の抑制を示さなかった。

#### [総括]

本研究において次の二点を明らかにした。

- 1) アラキドン酸代謝酵素阻害剤のうち lipoxygenase 阻害剤はアラキドン酸による  $\beta$ -E 分泌を有意に抑制するが、cyclooxygenase 阻害剤は  $\beta$ -E 分泌に影響を与えない。
- 2) アラキドン酸による  $\beta$ -E の分泌はアラキドン酸の代謝産物である 5-HETE による分泌より時間的に遅かった。

以上の結果から、アラキドン酸が lipoxygenase により代謝されることにより  $\beta$ -E の分泌を促進することが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

$\beta$ -endorphin は性周期の調節及び高プロラクチン血症や多嚢胞性卵巣における無月経においてその

関与が示唆されているが、その分泌機構に関しては未だ不明の点が多い。

本研究では、ラット下垂体よりの  $\beta$ -endorphin 分泌においてアラキドン酸及びその代謝産物のセカンドメッセンジャーとしての関与について検討し、アラキドン酸代謝物のうちでも lipoxigenase 系の代謝産物が、 $\beta$ -endorphin 分泌に深く関与していることを明らかにした。

この結果は、内分泌学の中でも特に細胞内の情報伝達機構の分野に新発見を加えたものであり、医学博士の学位を授与する価値があると思われる。