

(嶋田敏生) 論文内容の要旨

主 論 文

Platelet-activating factor acts on cortisol secretion by perfused guinea-pig adrenals via calcium-/phospholipid-dependent mechanisms.

血小板活性化因子は灌流モルモット副腎からCキナーゼの活性化を介してコルチゾールを分泌する

嶋田敏生、広瀬妙子、松本逸郎、相川忠臣

Journal of Endocrinology 184, 381~391, 2005 [11 ページ]

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命医科学専攻
(主任指導教員：相川忠臣教授)

緒 言

炎症・アレルギーの脂質メディエーターとして知られる血小板活性化因子(PAF)は、肝臓での糖代謝、膵臓での外分泌、卵の着床や出産など多種多様な生理活性を持つことがわかってきた。内分泌反応に対しては、PAFの脳内投与によってCRF-ACTH-糖質コルチコイド系が活性化されることが指摘された。我々は、イヌ左側副腎灌流系を確立し、炎症性メディエーターであるPAFが抗炎症性の糖質コルチコイド分泌を活性化することを見出した。そこで今回、モルモットの両側副腎の人工灌流液による灌流系を確立し、PAFの糖質コルチコイド分泌作用とその細胞内情報伝達のメカニズムを検討した。

対象と方法

動物：実験にはハートレー系のモルモット(♂、体重480~850g)を用いた。それぞれの動物を12時間明期/12時間暗期、室温25℃、自由摂食下で飼育した。

副腎灌流：ペントバルビタール(38mg/kg, ip)麻酔下内臓摘出を行った。副腎の近縁動静脈を結紮し両側灌流副腎を作製した。腹部大動脈に挿入したカニューレから38℃に調節した人工灌流液(Krebs-Ringer bicarbonate glucose (KRBG) + 0.2% BSA)を注入した。各種薬物はこのカニューレから投与し、下大静脈に挿入したカニューレから灌流試料を2.5または5分毎に回収した。

生化学的分析：灌流試料は、ジクロロメタンで抽出後薄層クロマトグラフィーでコルチゾール、コルチコステロン画分を精製し、蛍光法によって定量した。

結 果

(1) PAF は ACTH に匹敵する程度にコチゾール分泌を促進する。

1 pg/ml~1000 pg/ml の ACTH を投与した。コチゾール分泌は ACTH 10 pg/ml で有意となり、100 pg/ml で最大値となった。PAF は非常に低濃度 (0.1 nM) から有意なコチゾール分泌を引き起こした。最大分泌速度は 10 nM PAF 投与で見られ、ACTH に匹敵する程度にコチゾール分泌を促進した

(2) PAF 受容体拮抗阻害剤は、PAF によるコチゾール分泌を阻害する。

10 nM PAF によるコチゾール分泌は、10 μ M の PAF 受容体拮抗阻害剤 CV-3988、CV-6209 で抑制された。より阻害作用の強い CV-6209 は、PAF と同時投与で有意な阻害作用を示したが、CV-3988 は前投与が必要であった。

(3) C キナーゼ阻害剤 (H-7) は、PAF によるコチゾール分泌を阻害する。

10 nM PAF によるコチゾール分泌は、5~12.5 μ M の H-7 前処理で有意に阻害された。一方、25 μ M までの A キナーゼ阻害剤 (H-8) 前処理では、有意な阻害は見られなかった。

(4) C キナーゼ活性化剤は、コチゾール分泌を促進する。

50 μ M 1-oleoyl-2-acetyl-sn-3-glycerol (OAG) と 3.3 μ M カルシウムイオノフォア A23187 の同時投与は、コチゾール分泌を強く促進した。

(5) PAF と C キナーゼ活性化剤によるコチゾール分泌には脱感作が見られる。

PAF と OAG + A23187 によるコチゾール分泌は、連続投与によって 2 回目の反応が強く抑制され、いわゆる脱感作現象が見られた。ACTH とフォルスコリン連続投与では、2 回目の投与に対しても再現性良くコチゾールが分泌された。

考 察

本研究で、PAF は 0.1 nM の濃度から有意なコチゾール分泌を惹起したが、これは血小板の活性化を引き起こす濃度とほぼ等しい。PAF は生理的条件下でも、nM レベルの濃度で末梢血中を循環しているとされる。血中 PAF アセチルヒドロラーゼによる素早い代謝系があるとはいえ、重篤な病態時に副腎皮質束状層・網状層細胞が毛細血管の近傍で nM レベルの PAF と反応し、コチゾール分泌を促進する可能性は十分想定できる。コチゾールはフォスホリパーゼ A₂ 阻害蛋白質の合成を誘導し、PAF を含めアラキドン酸代謝系由来のケミカルメディエーターの産生を抑制する。また、PAF 合成系酵素の活性を抑制し、分解酵素の活性を促進する。おそらく病態時に増加した PAF は、抗炎症作用を持つコチゾール分泌を促進することによって、負のフィードバック的に生体を保護しているのだろう。

PAF と ACTH 間の相互作用は特に興味ある点である。PAF は C キナーゼ活性化を介して、ACTH は A キナーゼ活性化を介してコチゾールを分泌する。我々は、ACTH の前処理で PAF によるコチゾール分泌が抑制されること。逆に PAF の前処理で ACTH によるコチゾール分泌が促進されることを見出した。(参考論文)

今回の結果、PAF は受容体に結合後 C キナーゼの活性化を介してコチゾールを分泌すること。その反応は脱感作することが明らかになった。