

論文目録

岐阜大学

| 報告番号 | 乙第987号 | 氏名 | 華房順子 |
|---|--------|----|------|
| 主論文 | | | |
| ラットにおけるコルチコステロン代謝変動の視床下部一下垂体一副腎系への影響 平成7年5月発行 岐阜大医紀 43(3):408~415 | | | 1冊 |
| 参考文献 | | | |
| 1) Herpes simplex virus-1 抗体指数の高値を伴う encephalo-myelo-radiculitis の一例 平成2年10月発行 臨床神経学 30(10):1133~1136 | | | 1冊 |
| 2) 急性肝炎(A型)に Guillain-Barre 症候群を合併した一例 平成3年2月発行 臨床神経学 31(2):210~212 | | | 1冊 |
| 3) 糖尿病性壊疽20例の検討 平成3年7月発行 プラクティス 8(4):346~350 | | | 1冊 |
| 4) A case of Hashimoto's thyroiditis with antibodies to thyroid hormone analogues 平成4年1月発行 Clinica Chimica Acta 207:129~136 | | | 1冊 |
| 5) A modified technique for endoscopic mucosal resection of small early gastric carcinoma 平成4年3月発行 Endoscopy 24(3):215~217 | | | 1冊 |
| 6) Endoscopic characteristics of gastric polyps and their background mucosa on the gastric body 平成4年4月発行 Dig Endosc 4(2):134~138 | | | 1冊 |
| 7) CRH 投与時血漿 ACTH 反応に対するコルチコステロン代謝亢進および低下の影響 平成4年11月発行 ACTH related peptides 3:15~20 | | | 1冊 |
| 8) A case of inflammatory bowel disease accompanied by myasthenia gravis 平成5年1月発行 Dig Endosc 5(1):102~106 | | | 1冊 |
| 9) Low dose ACTH 負荷試験時の健常者における各種副腎皮質ステロイド反応 平成5年11月発行 ACTH related peptides 4:101~105 | | | 1冊 |
| 10) "Growth without GH" を呈した視床下部性汎下垂体機能低下症の45歳男性例 平成6年3月発行 岐阜県内科医会雑誌 7(1):69~73 | | | 1冊 |
| 11) ACTH 産生下垂体腺腫の ACTH 分泌機構 —— reserpine, bromocriptine 前処置による検討 —— 平成6年11月発行 ACTH related peptides 5:21~26 | | | 1冊 |
| 12) Mild form 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase 欠損症成人女性の1例 平成6年10月発行 ホと臨床(増刊号) 42(24):187~190 | | | 1冊 |
| 13) Effects of in vivo administration of antigluco-corticoid and antioxidants on suppression of aldosterone secretion following chronic ACTH treatment in rats 平成6年11月発行 岐阜大医紀 42(6):437~445 | | | 1冊 |

主 論 文

岐阜大学医学部紀要

第 43 卷 3 号 別 刷

平成 7 年 5 月

ラットにおけるコルチコステロン代謝変動の 視床下部－下垂体－副腎系への影響

華 房 順 子, 宗 友 厚, 森 田 浩 之, 大 洞 尚 司

Ni Hui-ping, 柴 田 敏 朗, 村 山 正 憲

Ahmed Shah Mokaddas Selim, 安 田 圭 吾

岐阜大学医学部内科学第 3 講座 (主任 安田圭吾教授)

Effects of Altered Corticosterone Metabolism
on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Rats

Junko HANAFUSA, Tomoatsu MUNE, Hiroyuki MORITA, Hisashi DAIDOH,
Hui-ping NI, Toshiroh SHIBATA, Masanori MURAYAMA,
Ahmed Shah Mokaddas SELIM and Keigo YASUDA

Third Department of Internal Medicine, Gifu University School of Medicine
(Director : Prof. K. YASUDA)

Reprinted from

ACTA SCHOLAE MEDICINALIS UNIVERSITATIS IN GIFU

Vol. 43 No. 3 May 1995.

ラットにおけるコルチコステロン代謝変動の 視床下部-下垂体-副腎系への影響

華房順子, 宗友厚, 森田浩之, 大洞尚司

Ni Hui-ping, 柴田敏朗, 村山正憲

Ahmed Shah Mokaddas Selim, 安田圭吾

岐阜大学医学部内科学第3講座 (主任 安田圭吾教授)

Effects of Altered Corticosterone Metabolism on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Rats

Junko HANAFUSA, Tomoatsu MUNE, Hiroyuki MORITA, Hisashi DAIDOH,
Hui-ping NI, Toshiro SHIBATA, Masanori MURAYAMA,
Ahmed Shah Mokaddas SELIM and Keigo YASUDA

Third Department of Internal Medicine, Gifu University School of Medicine
(Director: Prof. K. YASUDA)

To evaluate the effects of alteration of glucocorticoids metabolism without changes in peripheral corticosteroid concentration on hypothalamic-pituitary-adrenal axis, we assessed the responses of plasma ACTH and corticosterone to hCRF or insulin-induced hypoglycemia in rats treated for 7 days with glycyrrhizic acid, a potent inhibitor of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (GI group), or rifampicin, an inducer of 6β -hydroxylase (RFP group). Glycyrrhizic acid (60 mg/kg/day) was administered twice a day *via* gastric tube, and water containing 600 mg/l of glycyrrhizic acid was administered as a free drinking water. Rifampicin of 50 mg/kg/day was administered *via* gastric tube divided into 2 times. CRF binding in the pituitaries was also investigated.

Half-life of exogenous hydrocortisone (0.5 mg/kg *iv*) as a substitute for corticosterone was significantly longer in GI group and shorter in RFP group compared with control group (157.2 ± 6.9 min, 102.3 ± 5.3 min, and 120.4 ± 4.1 min, mean \pm SE, $P < 0.05$, respectively). There were no significant difference of basal levels of plasma ACTH and corticosterone among each group. These results supported the GI group and the RFP group as a model of hypo- and hyper-metabolic state of corticosterone, respectively. To hCRF (5 μ g/kg *iv*) and insulin-induced hypoglycemia (2 U/kg *iv*), ACTH responses were significantly greater in GI group (incremental peak value: 125.1 ± 15.9 pmol/l and 142.6 ± 19.5 pmol/l, both $P < 0.05$, respectively) and smaller in RFP group (incremental peak value: 65.6 ± 5.9 pmol/l, $P < 0.05$ and 37.2 ± 4.7 pmol/l, respectively) compared with control group (incremental peak value: 86.4 ± 5.5 pmol/l and 74.3 ± 17.1 pmol/l, respectively), whereas corticosterone responses were not different among them. CRF receptor number of the pituitary in the GI group was significantly increased compared with that of RFP group (79.3 ± 5.8 fmol/mg protein *vs.* 60.1 ± 6.8 fmol/mg protein, $P < 0.05$). However, they are not significantly different from that in control group. There were no difference of dissociation constant (Kd) of pituitary CRF binding among these groups.

Our findings suggest the possibility that GI treatment induces increase in CRF receptor concentration in the pituitary, which is possibly due to up-regulation of the receptor by decrease in CRF secretion, and consequently results in increased responses of plasma ACTH. The opposite mechanism was thought to exist in RFP Group.

Acta Sch Med Univ Gifu 43: 408-415 (1995)

Key words: corticosterone metabolism, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, glycyrrhizic acid, rifampicin

緒言

内因性糖質ステロイドレベルが、視床下部-下垂体-副腎系を調節していることは、よく知られている。しかしながら、末梢糖質ステロイド濃度が変化せず、その代謝速度のみが変動した場合の視床下部-下垂体-副腎系に与える影響は明らかではない。糖質ステロイド代謝は、薬剤、疾患、加齢などにより影響を受ける。薬剤では、中枢神経系抑制剤バルビツレート、抗結核剤リファンピシン (RFP)、抗てんかん剤フェニトインは、肝ミクロソーム P 450 を誘導し、尿中 6β -hydroxycortisol 排泄を増加させ、コルチゾール代謝を亢進することが知られている¹⁾。今回、我々の実験において使用した RFP は、デキサメサゾン抑制試験において、デキサメサゾンの効力を減弱しコルチゾール抑制効果を不十分なものとしたり、ステロイド補充中の Addison 病患者に投与された場合 adrenal crisis を引き起こすことが報告され、その機序は、RFP による 6β -hydroxylase 誘導による糖質ステロイド代謝亢進と考えられている²⁾³⁾。また、グリチルリチン酸 (GI) は、コルチゾールから生物学的に非活性なコルチゾンへの変換を触媒する 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSD) の作用を阻害し⁴⁾⁵⁾、コルチゾール代謝を遅延させる。また、 11β -HSD がミネラルコルチコイド受容体を有する細胞に存在することから、GI はコルチゾールのミネラルコルチコイド受容体への access を可能とし、結果的に高血圧症、低カリウム血症などの apparent mineralocorticoid excess 様の病態を引き起こし、その病態は偽性アルドステロン症と称されている⁶⁾。それ以外に、甲状腺ホルモンも、コルチゾールからコルチコステロンへの代謝に関与し、その代謝を変化させることが知られているが、視床下部-下垂体-副腎系に与える影響については一致した見解が得られていない⁷⁾⁹⁾。

今回我々は、末梢糖質ステロイドレベルが不変で、かつ、その代謝のみが変動した場合の視床下部-下垂体-副腎系に与える影響を明らかにすることを目的として以下の研究を行った。

対象と方法

1) 試薬

コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム (Zal・コーテフ[®], 住友-日本アブジオン, 東京), グリチルリチン酸 (Sigma 社, St. Louis, MO), リファンピシン (第一製薬, 東京) を使用した。後二者は蒸留水に懸濁して用いた。静注用グリチルリチン酸として、強力ネオミノファゲン[®] (2 mg GI/ml 含有, ミノファゲン製薬, 東京) を使用した。インスリンは、レギュラーインスリン (ヒューマリン R[®], Eli Lilly Co., Indianapolis, IN), corticotropin-releasing factor (CRF) は, human CRF (ペプチド研究所, 大阪) を使用した。標識 CRF として, ¹²⁵I-Try CRF (New England Nuclear Research Products, Wilmington, DE, specific activity 2200 Ci/mmol) を

使用した。また、牛血清アルブミン、アプロチニン、その他の試薬は Sigma 社、または、生化学工業社製品を使用した。

2) 動物

体重 200~250 g のウイスター系雄ラットを、GI 群、RFP 群、対照群に分け、各薬剤を 1 週間投与した。薬剤投与期間中は、恒温 (22°C) 及び明暗サイクル 12 時間の条件下で飼育し、固形飼料を自由に摂取させた。水分は、GI 群では GI 懸濁水 (600 mg/l) を、RFP 群及び対照群では水道水を自由に摂取させた。さらに、1 日 2 回胃管を用いて、60 mg GI/kg/day (GI 群)、50 mg RFP/kg/day (RFP 群)、蒸留水 1.0 ml/day (対照群) を投与し実験に供した。各群のラットは、実験開始 24 時間前にペントバルビタール麻酔下で、右頸静脈から右心房にポリエチレンチューブ (PE-50) を挿入した。実験時の試薬静注と採血は、右心房に挿入したポリエチレンチューブに約 30 cm のチューブを連結し、自由行動状態でおこなった。なお、試験開始 60 分前に GI 群では、10 mg GI/kg を、RFP 群、対照群では、同量の生理食塩水を静注した。

3) 試験

血漿コルチゾール半減期: コルチコステロン代謝変動の指標として、ラットでは殆ど合成、分泌されず、また、コルチコステロンとはほぼ同じ代謝経路を有するコルチゾールの半減期を撰出した。コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム 0.5 mg/kg を静注し、投与前、3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 80, 120, 180, 240 分まで経時的に各 0.2 ml ずつ採血、血漿コルチゾールを測定した。

CRF 試験: 5 μ g/kg の hCRF を静注し、投与前、5, 15, 30, 45, 60 分まで経時的に 0.5 ml ずつ採血、血漿 ACTH、コルチコステロンを測定した。

インスリン低血糖試験: 2 単位/kg のインスリンを静注し、投与前、15, 30, 60, 90 分まで経時的に 0.5 ml ずつ採血、血漿 ACTH、コルチコステロン、血糖を測定した。

すべての検査は 12 時から 14 時の間に開始し、採血量と同量の生理食塩水をその都度補充した。血漿 ACTH、コルチゾール測定検体は、EDTA 2Na 加試験管に採取し、4°C、10 分間遠心分離後、血漿を測定まで -40°C で凍結保存した。また、断頭後のラットから両側副腎を迅速に取り出し、その湿重量を測定した。血清電解質は、各試験前の血液を用いて測定した。

4) CRF 受容体測定

Wynn¹⁰⁾による方法に準じて測定した。GI、RFP 前処置群および対照群ラットを断頭、速やかに下垂体を摘出、分離した前葉を氷冷したバッファー A (5 mM 塩化マグネシウム, 2 mM EGTA, 1 mM ジチオスレイトールを含んだ pH 7.4 の 50 mM Tris 塩酸バッファー) 中でホモナイズし、800 \times g で 10 分間遠心、上清を 30,000 \times g で 30 分間遠心後、沈渣を 100~300 μ g/100 μ l の蛋白濃度にバッファー A で懸濁調整し、膜画分として使用した。1 ml のオイル (フタル酸ジ-n-ブチル: フタル酸ジメチル = 2:3) の入った容量 1.5 ml のチューブに、バッファー

B(バッファA+0.15%牛血清アルブミン)で70,000cpm/100 μ l に希釈した 125 I-Try CRF 100 μ l, バッファBで0~10⁻⁶M/100 μ l の各濃度に希釈した非標識 CRF 100 μ l, 膜画分100 μ l を加え, 22°C, 60分間インキュベート後, 直ちに10,000 \times gで3分間遠心し, 上層のオイル層を吸引除去, 沈渣部分のチューブ先端をカットし放射活性を測定した。膜画分の蛋白濃度は, BCA 蛋白測定キット (Pierce Chemical Co. Rockford, IL) で測定した。Total bound radioactivity は8.4~24.4%, nonspecific binding は, total bound radioactivity の52.9 \pm 10.0% (mean \pm SD)であった。レセプター濃度 (Bmax) および解離定数 (Kd) は, Scatchard 解析を用いて求めた¹⁰⁾。

5) ホルモン, その他の測定

血漿 ACTH は ACTH-II IRMA キット '三菱油化' (三菱油化株式会社, 東京) を, 血漿コルチゾールは, ガンマー・コートTM コーチゾールキット (Inctar Co. Stillwater, MN) を, 血漿コルチコステロンは 125 I コルチコステロンキット (ICN Biomedicals Inc. Costa Mesa, CA) を用いて測定した。測定キットの intraassay coefficient of variation は, ACTH 3.5% (平均濃度120 pg/ml), コルチゾール4.5% (平均濃度19.5 μ g/dl), コルチコステロン7.1% (平均濃度166 ng/ml)であった。Interassay coefficient of variation は, ACTH 5.0% (平均濃度119 pg/ml), コルチゾール6.5% (平均濃度20 μ g/dl), コルチコステロン6.5% (平均濃度158 ng/ml)であった。血糖は, Beckman glucose analyzer-2 (Beckman Instruments Inc. Fullerton, CA) を用いて測定した。

6) 統計解析

ACTH, コルチコステロンは, 前値, ピーク値, 前値からピーク値までの増加分 (Δ 値), および, 前値からの増加分の面積である net area under the curve (net AUC) で検討した。データは mean \pm SE で示し, 統計処理は Mann-Whitney 法でおこない, $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

血清カリウム濃度は, GI 群で, RFP 群, 対照群に比べて低値であったが有意の差はなかった。副腎重量は各群で差がなかった (TABLE 1)。

血漿コルチコステロンの代謝速度を反映すると考えられる外因性コルチゾールの半減期は, 対照群に比べて,

GI 群で有意に延長, RFP 群で有意に短縮していた (TABLE 1)。これらの結果より, GI 群, RFP 群は, 各々コルチコステロン代謝遅延, 亢進群と考えられた。

CRF 試験

血漿 ACTH, コルチコステロンの基礎値は, 各群で差がなかった。CRF 投与後, 血漿 ACTH は5~15分後, 血漿コルチコステロンは15~60分後にピーク値となった (TABLE 2, FIG. 1)。血漿 ACTH 反応は, 対照群に比べGI 群の30分値で有意に高く, RFP 群の30分, 60分値で低かった (FIG. 1 上図)。血漿 ACTH のピーク値は, 対照群に比べて RFP 群で低値であったが, 対照群とGI 群では有意の差はなかった。血漿 ACTH の Δ 値と net AUC は, 対照群に比べてGI 群で高値, RFP 群で低値であった。血漿コルチコステロン値は, ピーク値, Δ 値, net AUC いずれも各群で差がなかった (TABLE 2)。

インスリン低血糖試験

血糖基礎値およびインスリン投与後の血糖最低値は各群で差はなかった (基礎値: 対照群: 5.06 \pm 0.20, GI 群: 5.45 \pm 0.26, RFP 群: 5.48 \pm 0.22 mmol/l, 最低値: 対照群: 1.92 \pm 0.07, GI 群: 1.97 \pm 0.24, RFP 群: 2.19 \pm 0.12 mmol/l)。血漿 ACTH, コルチコステロンの基礎値は各群で差がなく, インスリン投与後, 血漿 ACTH は15~60分後, 血漿コルチコステロンは30~90分後にピーク値となった (TABLE 3, FIG. 2)。血漿 ACTH 反応は, 対照群に比べGI 群の30分, 60分で有意に高値となったが, 対照群とRFP 群では有意の差はなかった (FIG. 2 上図)。血漿 ACTH のピーク値は, 対照群に比べてGI 群で高値, RFP 群で低値であった。血漿 ACTH の Δ 値, net AUC は, 対照群と比べてGI 群で高値であったが, 対照群とRFP 群では有意の差はなかった。血漿コルチコステロン値は, ピーク値, Δ 値, net AUC いずれも各群で差がなかった (TABLE 3)。

CRF 受容体測定

CRF 受容体濃度 (Bmax) は, 対照群に比べてGI 群で増加, RFP 群で低下傾向にあったが, 有意ではなかった (対照群: 66.3 \pm 4.5, GI 群: 79.3 \pm 5.8, RFP 群: 60.1 \pm 6.8 fmol/mg protein, FIG. 3 上図)。ただし, GI 群のBmaxはRFP 群に比べて有意に大であった ($P < 0.05$)。レセプター解離定数 (Kd) は各群で有意差はなかった (対照群: 0.91 \pm 0.06, GI 群: 1.07 \pm 0.13, RFP 群: 0.89 \pm 0.14 nM, FIG. 3 下図)。

TABLE 1 Serum potassium level, adrenal weight and half-life of exogenous hydrocortisone in each group

| | | control | GI | RFP |
|-----------|---------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| K | (mEq/l) | 4.1 \pm 0.2 (n=6) | 3.6 \pm 0.2 (n=13) | 4.1 \pm 0.2 (n=17) |
| Ad.wt | (mg) | 51.4 \pm 4.2 (n=13) | 51.4 \pm 2.8 (n=16) | 51.7 \pm 3.6 (n=13) |
| half-life | (min) | 120.4 \pm 4.1 (n=5) | 157.2 \pm 6.9* (n=5) | 102.3 \pm 5.3* (n=6) |

Ad.wt; adrenal weight, *: significant difference from control ($P < 0.05$), *: significant difference from RFP ($P < 0.05$)

TABLE 2 Responses of plasma ACTH and corticosterone to CRF
plasma ACTH response

| | | control (n=11) | GI (n=12) | RFP (n=11) |
|----------|--------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| basal | (pmol/l) | 28.8 \pm 1.2 | 29.4 \pm 2.0 | 31.5 \pm 2.3 |
| peak | (pmol/l) | 115.2 \pm 5.7 | 154.4 \pm 16.8* | 98.9 \pm 5.9* |
| Δ | (pmol/l) | 86.4 \pm 5.5 | 125.1 \pm 15.9* | 65.6 \pm 5.9* |
| net AUC | (nmol.min/l) | 3.7 \pm 0.2 | 5.3 \pm 0.7* | 2.6 \pm 0.4* |

plasma corticosterone response

| | | control (n=6) | GI (n=7) | RFP (n=6) |
|----------|--------------|------------------|------------------|-------------------|
| basal | (pmol/l) | 354.6 \pm 66.2 | 294.2 \pm 63.9 | 327.7 \pm 39.9 |
| peak | (pmol/l) | 979.1 \pm 82.1 | 904.9 \pm 82.9 | 1105.4 \pm 48.3 |
| Δ | (pmol/l) | 624.8 \pm 57.8 | 610.9 \pm 71.4 | 777.4 \pm 56.9 |
| net AUC | (mmol.min/l) | 26.7 \pm 5.2 | 21.4 \pm 4.6 | 29.8 \pm 3.2 |

GI; glycyrrhizic acid, RFP; rifampicin, Δ ; incremental value between peak and basal values, AUC; area under the curve, *: significant difference from control ($P < 0.05$), *: significant difference from RFP ($P < 0.05$)

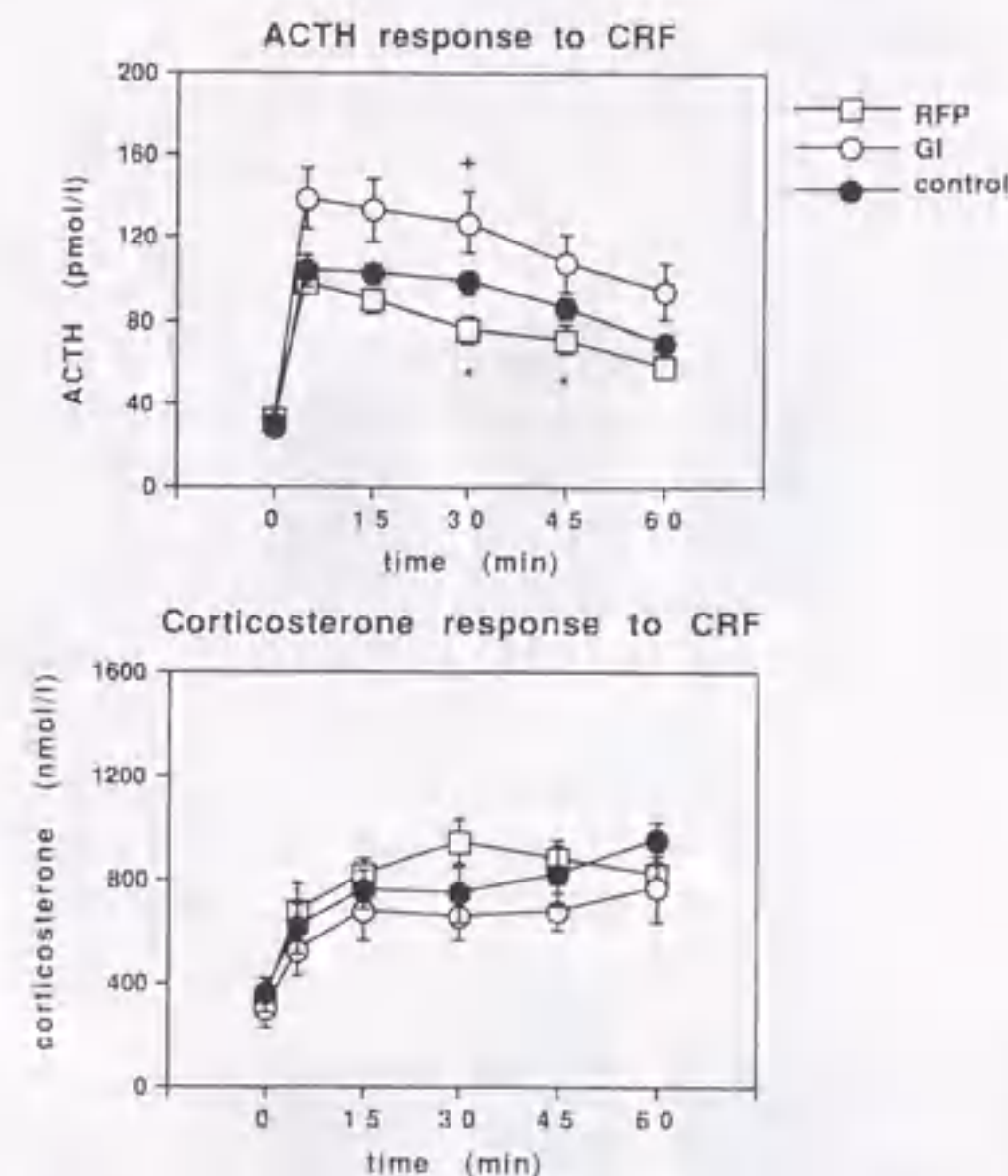


FIG. 1 Responses of plasma ACTH (upper panel) and corticosterone (lower panel) to an *iv* bolus administration of 5 μ g/kg BW hCRF in control, glycyrrhizic acid treated (GI) and rifampicin treated (RFP) rats. Each point represents the mean value and the vertical bars indicate the SE obtained in 6~12 rats. +: $P < 0.05$ control vs. GI, *: $P < 0.05$ control vs. RFP.

考 案

コルチゾールとコルチコステロンは共に副腎皮質より分泌され, その代謝経路には共通点が多い¹¹⁾。たとえば,

11 β -HSD による C-11 の酸化, 還元¹²⁾や 6 β -hydroxylase による C-6 の水酸化¹³⁾などである。GI は 11 β -HSD を阻害することによって, 活性型の 11-hydroxy-steroids であるコルチゾールやコルチコステロンから, 非活性型の 11-keto-steroids であるコルチゾンや 11-dehydrocorticosterone への代謝を阻害, コルチゾールの半減期を延長させる。また, RFP は, 肝ミクロソーム P-450 に存在する 6 β -hydroxylase を誘導することによりコルチゾールの半減期を短縮させる。我々は, GI, RFP で前処置したラットに外因性コルチゾールを投与し, 血漿コルチコステロン濃度に差がないにもかかわらず, その半減期が対照群に比べてGI 群で延長, RFP 群で短縮することを示した。GI および RFP により影響をうけるステロイド代謝酵素が, コルチゾールおよびコルチコステロン代謝で共通であることより, 外因性コルチゾールの半減期の短縮, 延長は, 各々ラットにおけるコルチコステロン代謝亢進, 低下を反映していると考えられる。以上より, GI 群ラット, RFP 群ラットを各々末梢コルチコステロン濃度が変化せずその代謝のみ低下, 亢進したモデルと考え, CRF 試験, インスリン低血糖試験, 下垂体 CRF 受容体測定を施行し, 視床下部-下垂体-副腎系に与える影響を検討した。

我々の結果は, ①下垂体に直接作用する CRF 試験及び, より中枢性の機序を介して ACTH 分泌を促進すると考えられるインスリン低血糖試験のいずれにおいても, 血漿 ACTH 反応が対照群に比べてGI 群で増大, RFP 群で減弱していること。②CRF 試験及びインスリン低血糖試験で, 血漿コルチコステロン反応は, 各群で差を認めないこと。③下垂体 CRF 受容体濃度は, 統計学的に有意差はないものの, 対照群に比べてGI 群で増加, RFP 群で減少し, かつGI 群でRFP 群に比べて有意に増加していること, であった。これらの結果より, GI 投与により, 下

TABLE 3 Responses of plasma ACTH and corticosterone to insulin-induced hypoglycemia

| plasma ACTH response | | control (n=8) | GI (n=7) | RFP (n=7) |
|----------------------|--------------|---------------|---------------|-------------|
| basal | (pmol/l) | 18.3 ± 3.3 | 19.5 ± 3.4 | 16.8 ± 2.0 |
| peak | (pmol/l) | 95.6 ± 17.3 | 161.8 ± 21.7* | 54.0 ± 4.7* |
| Δ | (pmol/l) | 74.3 ± 17.1 | 142.6 ± 19.5* | 37.2 ± 4.7 |
| net AUC | (nmol.min/l) | 3.4 ± 0.8 | 7.0 ± 1.1* | 1.9 ± 0.3 |

| plasma corticosterone response | | control (n=6) | GI (n=6) | RFP (n=7) |
|--------------------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|
| basal | (pmol/l) | 406.0 ± 128.0 | 485.5 ± 82.9 | 497.1 ± 80.9 |
| peak | (pmol/l) | 1113.8 ± 142.5 | 1547.9 ± 169.4 | 1180.0 ± 104.0 |
| Δ | (pmol/l) | 708.1 ± 133.5 | 1062.4 ± 194.2 | 682.6 ± 87.6 |
| net AUC | (mmol.min/l) | 42.8 ± 11.8 | 51.7 ± 5.5 | 50.3 ± 10.4 |

GI: glycyrrhizic acid, RFP: rifampicin, Δ: incremental value between peak and basal values, AUC: area under the curve, *: significant difference from control ($P < 0.05$), #: significant difference from RFP ($P < 0.05$)

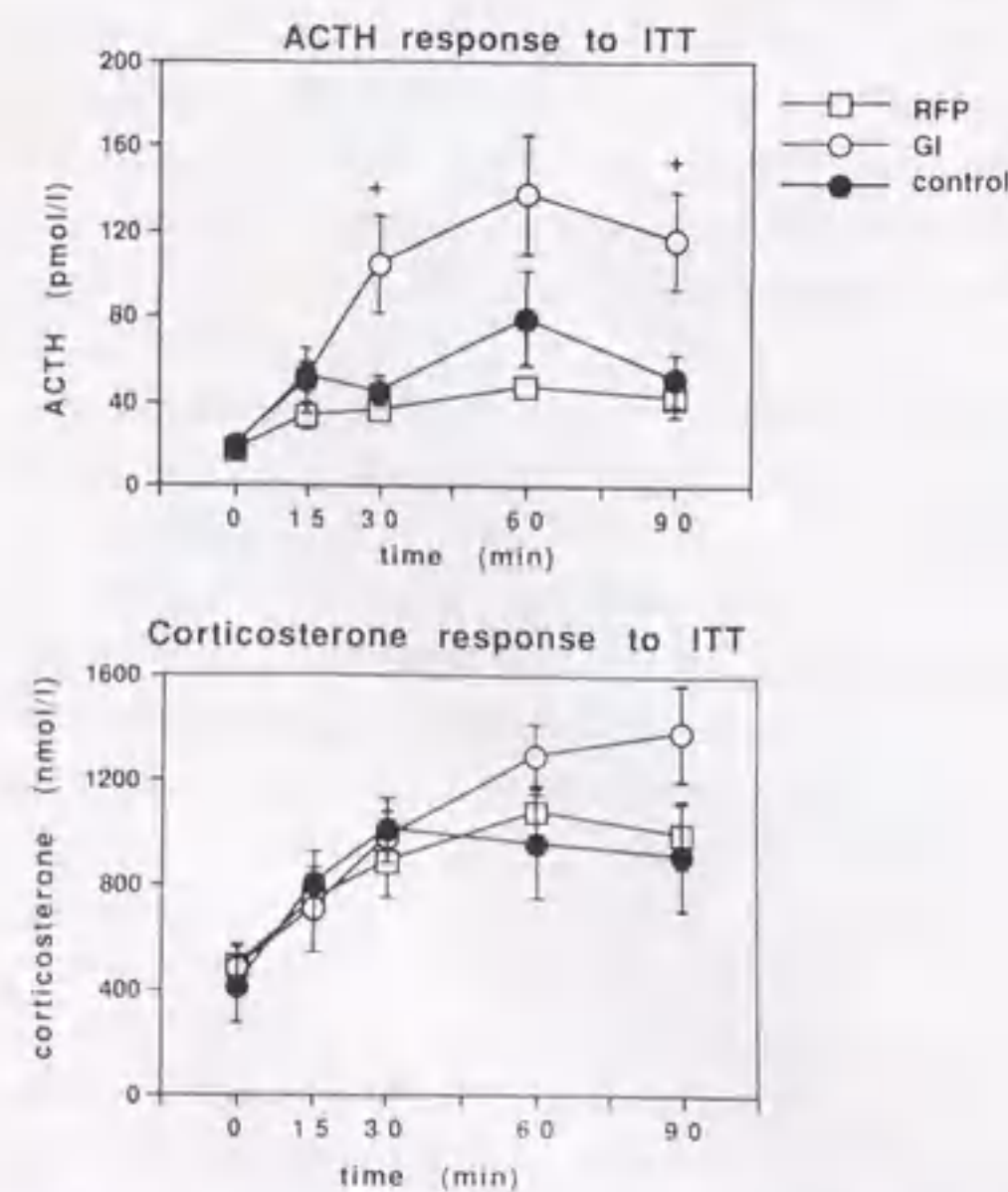


FIG. 2 Responses of plasma ACTH (upper panel) and corticosterone (lower panel) to an *iv* bolus administration of 2 units/kg BW regular insulin in control, glycyrrhizic acid treated (GI) and rifampicin treated (RFP) rats. Each point represents the mean value and the vertical bars indicate the SE obtained in 6~8 rats. +: $P < 0.05$ control vs. GI.

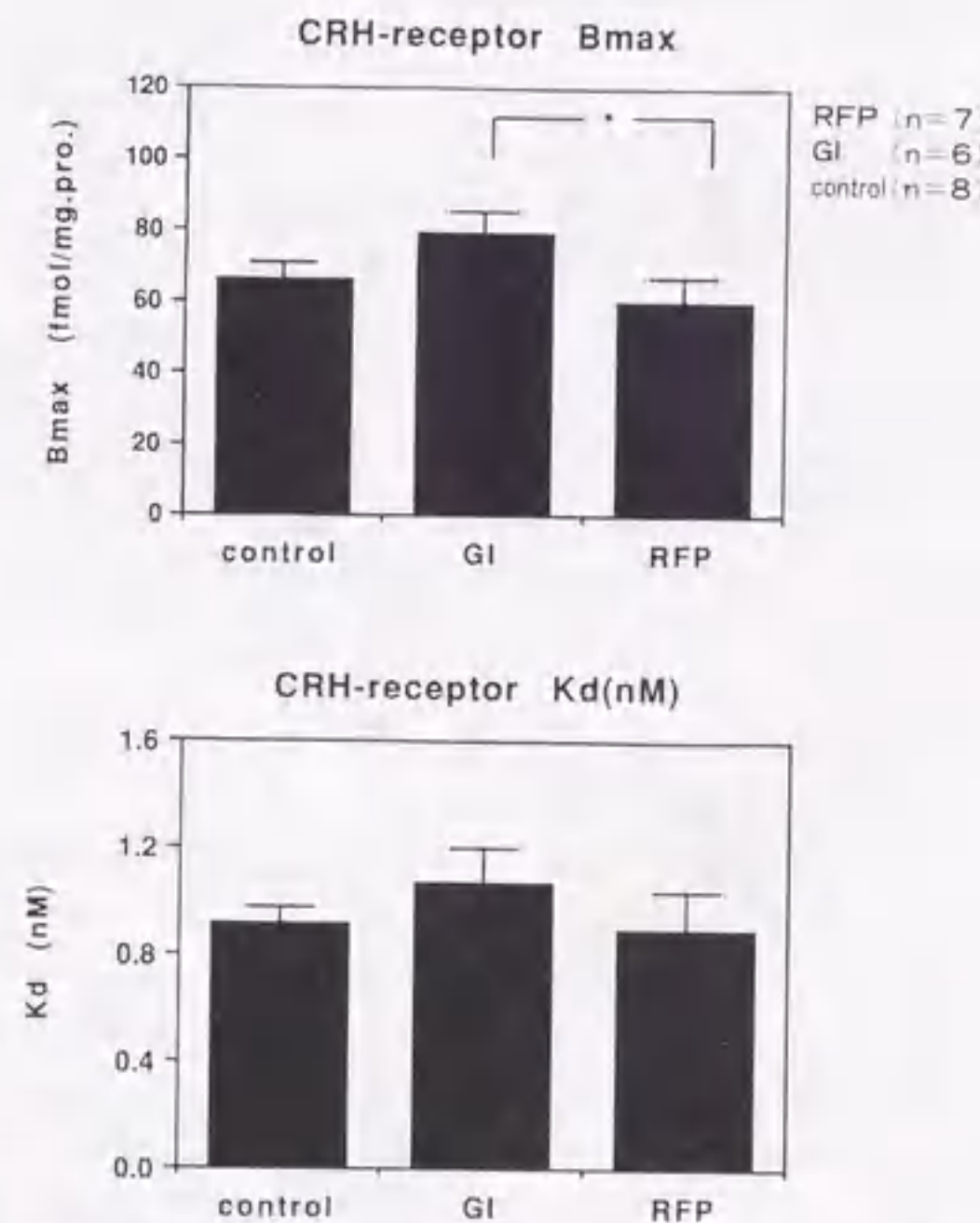


FIG. 3 Mean value of maximum binding capacity (Bmax) and dissociation constant (Kd) of pituitary CRH binding in control, glycyrrhizic acid treated (GI) and rifampicin treated (RFP) groups. Columns and bars are the mean and SE of values obtained in 6~8 experiments. *: $P < 0.05$ RFP vs. GI.

下垂体 CRF 受容体数が増加, 外因性 CRF およびインスリン低血糖による内因性 CRF 増加時の血漿 ACTH 反応が増大した可能性が示唆された。下垂体 CRF 受容体数増加の機序は不明ではあるが, GI 投与が CRF 生成, 分泌を減少させ, 受容体の up-regulation をきたしている可能性, GI が直接 CRF 受容体蛋白合成を亢進している可能性, などが挙げられる。これらの可能性の中では, 後者を示唆する成績はこれまで報告がなく, 後述するように, Secklら¹⁸⁾の報告を考慮すると, 前者の可能性が強い。RFP に関しては, 下垂体 CRF 受容体の変動, CRF, インスリン低血糖に対する血漿 ACTH の反応は, GI と対称的であり, GI とは逆の機序が生じたと推論される。但し, CRF 生成, 分泌に及ぼす RFP の影響についての報告はない。

視床下部における CRF の生成, 分泌に影響する要因としては, ①末梢でのコルチコステロン代謝変動, ②薬剤の視床下部への直接の影響, などが考えられる。Secklら¹⁸⁾は, 11 β -HSD 阻害作用をもつ GI 投与の急性効果を検討し, 末梢糖質ステロイド濃度を変化させず下垂体門脈への CRF 放出を減少させたと報告している。彼らは, その機序として, GI 投与により 11 β -HSD が阻害され, コルチコステロンから生物学的に非活性型の 11-dehydropo-ducts への変換が減少, それに伴いコルチコステロンが蓄積, negative feedback により下垂体門脈血中への CRF 放出減少が生じたと推察している。この結果は, 我々の結果から推察される機序と, ほぼ一致するものである。しかし, GI の作用部位に関して彼らは, グルココルチコイド受容体, ミネラルコルチコイド受容体が存在するとされる視床下部室傍核¹⁹⁾²⁰⁾に 11 β -HSD の mRNA が発現していること, 末梢コルチコステロン濃度が変化していないことを示し, 視床下部室傍核の 11 β -HSD が, CRF 分泌に対するコルチコステロンの feedback の調節に重要と考えている。今回の我々の GI に関する結果は, この機序によって説明可能となる。しかし, RFP の作用を視床下部室傍核における 11 β -HSD 増強作用で説明することは, 現在のところ RFP が 11 β -HSD に対して作用を有しているとの報告はなく, 困難かもしれない。

RFP に関しては, 我々の知る限りでは, 視床下部-下垂体-副腎系への影響について検討したものはない。しかし, これまでの種々の事実は²¹⁾, 我々の今回のコルチゾール半減期の短縮を含め, RFP が末梢糖質ステロイドの代謝速度を亢進させることを示しており, GI, RFP の作用機序を一元的に説明可能な作用機序として, 詳細は不明であるが, 末梢糖質ステロイド代謝変動を介する feedback 機序に対する作用が想定される。ただ, 視床下部-下垂体-副腎系の negative feedback と CRF に対する ACTH 反応の関係は, Addison 病²¹⁾, あるいはメトピロン投与時²²⁾など, 臨床的に negative feedback により CRF, ACTH 分泌が亢進していると考えられる状態では, CRF に対する ACTH の反応は過大反応を呈することが知られており, 我々の結果は, negative feedback 機序を考慮すると, 予期に反した結果であった。今後,

RFP の 11 β -HSD への影響の有無や, CRF 生成分泌に対する直接作用の有無などに関して, 重要な検討課題が残されているものと思われる。

ステロイド代謝変動のモデルとして甲状腺機能亢進, 低下状態がある。すなわち, 甲状腺ホルモンは, ステロイド代謝に影響し, 甲状腺機能亢進状態では, コルチゾール半減期の短縮, 甲状腺機能低下では, その逆の現象をきたすことが知られている。しかしながら, 下垂体-副腎系に対する甲状腺ホルモンの作用に関しては, 一致した見解は得られておらず, 機能低下状態では下垂体-副腎系を抑制し, 機能亢進状態では増強するという報告^{7)23)~27)}もあるが, 反対に, Kamilarisら⁸⁾⁹⁾は, 甲状腺機能低下状態では CRF に対する ACTH 反応が増強すると報告している。彼らは, 7 日間甲状腺機能低下状態にしたラットで, 血漿 ACTH, コルチコステロン基礎値は正常対照ラットと同様であったが, CRF に対する血漿 ACTH 反応の増強, コルチコステロン反応の減弱, 脳脊髄液中のコルチコステロン濃度低下, 副腎重量の減少が生じたと報告している⁹⁾。彼らは, 甲状腺ホルモンの下垂体または副腎皮質への直接作用を検討していないが, その機序は明らかではないとしながら, 甲状腺機能低下ラットでは, 軽度の中樞性副腎不全による機序を, また, 甲状腺機能亢進ラットでは, その逆を示唆している⁹⁾。彼らの, 甲状腺機能低下, 亢進ラットで CRF に対する血漿 ACTH 反応は, コルチコステロン代謝変動という点, 即ち, 甲状腺機能低下ラットが GI 群ラットに, 甲状腺機能亢進ラットが RFP 群ラットに対応するという点からは, 我々の結果と一致していた。しかし, 我々の実験では, CRF に対するコルチコステロン反応は, GI 群, RFP 群, 対照群で差がなく, また, 副腎重量も変化しなかった点で, Kamilarisら⁹⁾の結果と異なっている。コルチコステロン代謝変動の程度, あるいは, 副腎 ACTH 受容体の変化に起因する可能性などを考慮しなければならないが, 今回の我々の実験では, これらの可能性を含め検討しておらず, 今後究明を要する課題である。

結 語

GI, RFP 投与は血漿コルチコステロン代謝を各々遅延, 亢進させた。CRF, インスリン低血糖試験に対する血漿 ACTH 反応は, 対照群に比べて GI 群ラットで増強, RFP 群ラットで減弱していた。しかし, 血漿コルチコステロン反応に差は認められなかった。また, 下垂体 CRF 受容体の Bmax は, GI 群で増加, RFP 群で減少傾向が認められた。その機序として, GI がコルチコステロンの代謝を遅延することにより, CRF 分泌を減少させ, それに伴い下垂体 CRF 受容体の up-regulation が生じ, 各種刺激に対する血漿 ACTH 反応を増強した可能性が示唆された。また, RFP 投与時には, これと逆の機序が作動しているものと考えられた。

文 献

- 1) Park BK, Breckenridge AM: Clinical implications of enzyme induction and enzyme inhibition. *Clin Pharmacokinet* 6, 1-24 (1981)
- 2) Kyriazopoulou V, Vagenakis AG: Abnormal overnight dexamethasone suppression test in subjects receiving rifampicin therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 75, 315-317 (1992)
- 3) Kyriazopoulou V, Parparousi O, Vagenakis AG: Rifampicin-induced adrenal crisis in Addisonian patients receiving corticosteroid replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 59, 1204-1206 (1984)
- 4) Monder C, White PC: 11β -Hydroxysteroid dehydrogenase. *Vitamins and Hormones* 47, 187-271 (1993)
- 5) Seckl JR: 11β -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms and their implications for blood pressure regulation. *European J Clin Invest* 23, 589-601 (1993)
- 6) Stewart PM, Wallace AM, Valentino R, Burt D, Shackleton CHL, Edwards CRW: Mineralocorticoid activity of licorice: 11β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency comes of age. *Lancet* 1, 821-823 (1987)
- 7) Minozzi M, Faggiano M, Lombardi G, Carella C, Criscuolo T, Oliver C, Vague P: Somatotropic and corticotrophic functions in primary hypothyroidism before and after thyroxine treatment. *Acta Endocrinol* 74, 483-491 (1973)
- 8) Kamilaris TC, DeBold CR, Pavlou SN, Island DP, Hoursanidis A, Orth DN: Effects of altered thyroid hormone levels on hypothalamic-pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 65, 994-999 (1987)
- 9) Kamilaris TC, DeBold CR, Johnson EO, Mamalaki E, Listwak SJ, Calogero AE, Kalogeras KT, Gold PW, Orth DN: Effects of short and long duration hypothyroidism and hyperthyroidism on the plasma adrenocorticotropin and corticosterone responses to ovine corticotropin-releasing hormone in rats. *Endocrinology* 128, 2567-2576 (1991)
- 10) Wynn PC, Harwood JP, Catt KJ, Aguilera G: Regulation of corticotropin-releasing factor (CRF) receptors in the rat pituitary gland: Effects of adrenalectomy on CRF receptors and corticotroph responses. *Endocrinology* 116, 1653-1659 (1985)
- 11) Rosenfeld RS, Fukushima DK, Gallagher TF: Metabolism of adrenal cortical hormones. In: *The adrenal cortex*. Einstein AB ed, Boston, Little Brown, 1967, 103-131p
- 12) Walker BR, Edwards CRW: 11β -hydroxysteroid dehydrogenase and enzyme-mediated receptor protection: Life after liquorice? *Clin Endocrinol* 35, 281-289 (1991)
- 13) Seckl JR, Kelly PAT, Sharkey J: Glycyrrhetic acid, an inhibitor of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase, alters local cerebral glucose utilization in vivo. *J Steroid Biochem Molec Biol* 39, 777-779 (1991)
- 14) Farese RV, Biglieri EG, Shackleton CHL, Irony I, Gomez-Fontes R: Licorice-induced hypermineralocorticoidism. *New Engl J Med* 325, 1223-1227 (1991)
- 15) Monder C, Stewart PM, Lakshmi V, Valentino R, Burt D, Edwards CRW: Licorice inhibits corticosteroid 11β -dehydrogenase of rat kidney and liver: In vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 125, 1046-1053 (1989)
- 16) Dimartino-Nardi J, Stoner E, Martin K, Ralfe JW, Jose PA, New MI: New findings in apparent mineralocorticoid excess. *Clin Endocrinol* 27, 49-62 (1987)
- 17) Yamada S, Iwai K: Induction of hepatic cortisol-6-hydroxylase by rifampicin. *Lancet* 2, 366-367 (1976)
- 18) Seckl JR, Dow RC, Low SC, Edwards CRW, Fink G: The 11β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor glycyrrhetic acid affects corticosteroid feedback regulation of hypothalamic corticotropin-releasing peptides in rats. *J Endocrinol* 136, 471-477 (1993)
- 19) Fuxe K, Wikstrom AC, Okret S, Agnati LF, Harfstrand A, Yu ZY, Granholm L, Zoli M, Vale W, Gustafsson JA: Mapping of glucocorticoid receptor immunoreactive neurons in the rat tel- and diencephalon using a monoclonal antibody against rat liver glucocorticoid receptor. *Endocrinology* 117, 1803-1812 (1985)
- 20) Swanson LW, Simmons DM: Differential steroid hormone and neural influences on peptide mRNA levels in CRH cells of the paraventricular nucleus: A hybridization histochemical study in the rat. *J Comp Neurol* 285, 413-435 (1989)
- 21) Nakahara M, Shibasaki T, Shizume K, Kiyosawa Y, Odagiri E, Suda T, Yamaguchi H, Tsushima T, Demura H, Maeda T, Wakabayashi I, Ling N: Corticotropin-releasing factor test in normal subjects and patients with hypothalamic-pituitary-adrenal disorders.

- J Clin Endocrinol Metab 57, 963-968 (1983)
- 22) Totani Y, Niinomi M, Takatsuki K, Oiso Y, Tomita A: Effect of metyrapone pretreatment on adrenocorticotropin secretion induced by corticotropin-releasing hormone in normal subjects and patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 70, 798-803 (1990)
- 23) Bigos ST, Ridgway EC, Kourides IA, Maloof F: Spectrum of pituitary alterations with mild and severe thyroid impairment. *J Clin Endocrinol Metab* 46, 317-325 (1978)
- 24) Ridgway EC, McCammon JA, Benotti J, Maloof F: Acute metabolic responses in myxedema to large dose of intravenous l-thyroxine. *Ann Intern Med* 77, 549-555 (1972)
- 25) Gallagher TF, Hellman L, Finkelstein J, Yoshida K, Weitzman ED, Roffwarg HD, Fukushima DK: Hyperthyroidism and cortisol secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 34, 919-927 (1972)
- 26) Brien TG: The adrenocortical status of patients with thyroid disease. *Clin Endocrinol* 5, 97-99 (1976)
- 27) Sanchez-Franco F, Fernandez L, Fernandez G, Cacicedo L: Thyroid hormone action on ACTH secretion. *Horm Metab Res* 21, 550-552 (1989)

