

氏名（本籍）	倪 卉 屏（中華人民共和国）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	甲第 294 号
学位授与日付	平成 7 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Effects of in vivo administration of antigluco-corticoid and antioxidants on suppression of aldosterone secretion following chronic ACTH treatment in rats
審査委員	（主査）教授 安田 圭 吾 （副査）教授 玉 舎 輝 彦 教授 藤 原 久 義

論 文 内 容 の 要 旨

ACTHの短期投与は、ラットにおいてはコルチコステロン（B）とアルドステロン両ステロイドの分泌を刺激する。しかし、長期投与時にはB分泌は増加するが、アルドステロン分泌は逆に抑制されることが知られている（アルドステロンエスケープ現象、もしくはアルドステロンturn-off現象）。このメカニズムとして、ACTHの副腎球状層細胞に対する直接作用により、球状層細胞が機能的、形態的に束状層様細胞に転換する可能性、ACTH投与により過剰に産生されるデオキシコルチコステロンとBがレニン・アンギオテンシン系を抑制し、又、K欠乏を惹起し、アルドステロン合成のlate stepを抑制する可能性、などが示唆されてきた。しかし、レニン・アンギオテンシン系の刺激条件下、あるいは血清Kを維持した条件下でも、エスケープ現象を来すことから、これらの可能性は否定されている。一方、in vitroの検討ではあるが、高濃度の糖質ステロイドがフリーラジカル作用を示し、cytochrome P-450_{11β}の活性を低下させることが知られている。牛副腎球状層培養細胞を用いた検討では、コルチゾールによるアルドステロンの合成抑制がアンチオキシダントを添加することによって防止されたという。これらの結果は、P-450_{11β}と構造的に類似しているP-450_{ald}が、過剰に産生されたBのフリーラジカル作用に影響される可能性も示唆している。

そこで申請者らは、このアルドステロンエスケープ現象が、ACTH長期投与時、過剰に産生されるBのフリーラジカル作用により解除される可能性、あるいはステロイドタイプII受容体を抑制することにより解除される可能性、について、アンチオキシダントであるDMSO、ビタミンE、またグルココチコイド受容体拮抗薬であるRU486を用いて検討した。

対象と方法

体重200gのWistar系雄ラットを用い、ACTHの用量依存性（z-ACTH；5, 10, 20, 40 μg/100g体重）、時間依存性（5 μg/100g体重のz-ACTHを1, 2, 5日間投与）を検討した。ついで、アルドステロン エスケープ現象の成因を検討するため、RU486（1 mg/100g体重）、DMSO（1.3 mmol/100g体重）、ビタミンE（2 mg/100g体重）を、それぞれ単独もしくは5 μg/100g体重のz-ACTHとともに投与した。いずれも5日目の午後4時から5時の間に断頭し、血液と副腎外層組織を採取した。副腎外層からのステロイド分泌は、副腎外層組織に2 mlのKrebs-Ringer Phosphate buffer solutionを加え、5% CO₂+95% O₂ガス下、37°C 1時間プレインキュベート、その後、mediumを交換、同条件下で、2時間インキュベーションし、上清のステロイドを測定した。血漿ならびに副腎外層反応上清中のB、アルドステロン、18-ヒドロキシBはRIAキットで、血漿ACTHは、IRMAキットにより測定した。

結果と考察

1. ACTH 単独投与の影響

5-40 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重の z-ACTH 5 日間投与によって、副腎重量、血漿 B 濃度、および副腎外層組織からの B 分泌は用量依存性に増加した。しかし、血漿アルドステロン濃度や副腎外層組織からのアルドステロン、18-ヒドロキシ B 分泌は逆に用量依存性に減少した。一方、血漿アルドステロン濃度と副腎外層組織からのアルドステロン分泌は、5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重の z-ACTH 投与によって、1 日目、2 日目では対照群と比べ減少しなかったが、5 日目で有意な減少がみられた。これらの結果に基づいて、以下の RU486、DMSO、ビタミン E の作用の検討は、z-ACTH、5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重、5 日間投与で行った。

2. RU486 の影響

RU486 単独 5 日間投与により、血漿 ACTH および B 濃度は対照群と比べ有意に増加した。血漿アルドステロン濃度も増加したが、対照群と有意の差を示さなかった。RU486 と z-ACTH の同時投与では、z-ACTH 単独投与時に比べ血漿アルドステロン、B 濃度は各々約 5 倍、4 倍増加した。しかし、RU486 単独投与時の副腎外層組織からの B 分泌は、血漿 B の結果と異なり対照群に比し有意に減少し、アルドステロンには変化が見られなかった。z-ACTH との併用投与時の副腎外層組織からの B、アルドステロン分泌は、z-ACTH 単独投与時に比較して有意に低下した。

3. DMSO、ビタミン E の影響

DMSO 単独投与により、血漿 ACTH、B、アルドステロン、および副腎外層組織からの B、アルドステロン分泌は対照群と比べそれぞれ有意に増加した。また、ビタミン E 単独投与により、血漿 ACTH、B は有意に増加し、副腎外層組織からの B 分泌も増加したが、アルドステロンは血漿濃度、副腎外層組織からの分泌とも変化はなかった。血漿アルドステロン濃度は、ビタミン E + ACTH、DMSO + ACTH いずれの場合も、z-ACTH 単独投与時に比べ、有意に高値となった。また、副腎外層組織からのアルドステロン分泌も、z-ACTH 2 日間単独投与時の値までは増加しなかったが、z-ACTH 5 日投与時に比較し、両者共に有意に増加した。

以上より、1) z-ACTH 5 日間連日投与により、アルドステロンエスケープ現象が惹起される。2) RU486 は B のステロイドタイプ II 受容体を介した作用を阻害することによって、また、DMSO、ビタミン E はアンチオキシダント作用により、それぞれアルドステロンエスケープ現象を抑制するものと考えられた。アルドステロンエスケープ現象の発現機序として、ACTH 慢性投与時過剰に産生される B のフリーラジカル作用による、P-450_{aldo} 活性抑制の関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者 俣 弁屏は、ACTH 長期投与によりアルドステロン分泌が抑制されるという、アルドステロンエスケープ現象が、RU486、DMSO、ビタミン E により一部解除されることを示し、その機序として、同時に過剰に産生される B のフリーラジカル作用による P-450_{aldo} 活性低下による可能性を示した。本研究は、アルドステロンエスケープ現象のメカニズムとして、新しくコルチコステロン過剰によるフリーラジカル作用の可能性を提起した成績であり、内分泌学の進歩に少なからず貢献するものと認める。

[主論文公表誌]

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 9 月発行 岐阜大医紀 42 (6) : 437~445