



Effect of Atrial Natriuretic Peptide on the Release of β -Endorphin from Rat Hypothalamo-Neurohypophysial Complex

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 池田, 幸宏 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/945

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 92号	学位授与年月日	平成 2年 3月26日
氏 名	池 田 幸 宏		
論文題目	Effect of Atrial Natriuretic Peptide on the Release of β -Endorphin from Rat Hypothalamo-Neurohypophysial Complex (心房性ナトリウム利尿ペプチドの β -エンドルフィン分泌に及ぼす影響)		

Effect of Atrial Natriuretic Peptide on the Release of
 β -Endorphin from Rat Hypothalamo-Neurohypophysial Complex
 (心房性ナトリウム利尿ペプチドの β -エンドルフィン分泌に及ぼす影響)

論文の内容の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)は、心房で合成、貯蔵後、血中に分泌され、ナトリウム利尿作用、血管拡張作用により、体液、血圧の調節に重要な役割を果たしている。一方、視床下部にも、ANPの存在が証明され、脳内神経ペプチドとしてのANPの作用に関しても、生理的、病態生理的意義が、注目されている。ANPの下垂体ホルモン分泌に及ぼす影響については、種々の報告があるが、実験方法、ANP濃度の違い等により、一定の見解を得ていない。本研究は、ラット視床下部下垂体中後葉複合体(HNC)、および下垂体中後葉(NIL)の組織灌流法を用いて、ANPの β -エンドルフィン(β -END)分泌に及ぼす影響を検討し、その作用が、下垂体に対する直接作用か、視床下部因子を介する間接作用によるものかについて考察した。

〔方法〕

- 1) 組織の作製：ウイスター系雄ラットを用い、Sladekらの方法に準じて、HNCを作製し、HNCより視床下部を除去し、NILとした。
- 2) 組織灌流：Krebs Ringer bicarbonate bufferを灌流液として用い、95%O₂, 5%CO₂通気下に37℃の恒温にし、0.2 ml/分の流速で施行した。灌流液を5分毎に分画採取し、灌流液中の β -END濃度をradioimmunoassay(RIA)で測定した。 α -Rat ANPおよびドパミン(DA)を灌流液に溶解し、試験物質とした。 β -ENDの基礎分泌が安定するまで、150分間の平衡期間を置き、その後の30分間を基礎分泌とし、20分間試験物質で灌流し、その30分後に10分間、高カリウム灌流液で、脱分極刺激した。
- 3) ゲル濾過：Sephadex G-75カラム(1x55cm)を用いて、流速2ml/時で1mlずつ分画採取し、 β -ENDのRIAで測定した。

〔結果〕

- 1) β -END基礎分泌は、NILからの方が、HNCからよりも有意に高値を示した。
- 2) HNCからの灌流液のゲル濾過パターンでは92%以上が、合成 β -ENDの部位に溶出し、 β -lipotropin部位には溶出されなかった。
- 3) ANP 10^{-8} MはHNCからの β -END基礎分泌に明らかな影響を与えなかったが、 10^{-7} Mおよび 10^{-6} Mは β -END基礎分泌をそれぞれ25%、50%増加させた。一方、ANP 10^{-8} から 10^{-6} MはNILからの β -END基礎分泌には明らかな影響を与えなかった。
- 4) DA 10^{-6} MはHNCおよびNILからの β -END基礎分泌をそれぞれ50%、51%減少させたが、ANP 10^{-8} および 10^{-6} MはDAによる β -END分泌抑制に対して、HNC、NIL両者で、明らかな影響を与えなかった。

ANPはHNCからの β -END基礎分泌を刺激したが、NIL単独からの β -END基礎分泌には明らかな影響を与えなかった事と、ANPはDAによる β -END分泌抑制に対して、NILで、明らかな影響を与えなかった事より、下垂体レベルでの、DAとの拮抗の可能性は低いと考えられた。下垂体前葉のpro-opiomelanocortin由来ペプチド分泌調節はcorticotropin releasing factorやglucocorticoidのfeedbackによるが、中葉ではDAが主な役割を演じている。近年、ANPが視床下部DA含量を減少させると報告されたが、今回の検討により、ANPは、視床下部DAを抑制し、DAによる β -END分泌抑制を阻害する事により、 β -END基礎分泌を促進させる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)は、心房で合成、貯蔵後、血中に分泌され、ナトリウム利尿作用、血管拡張作用により、体液、血圧の調節に重要な役割を果たしている。一方、視床下部にも、ANPの存在が証明されており、脳内神経ペプチドとしてのANPの作用が、近年、注目されているが、不明の点が多い。

申請者は、ラット視床下部下垂体中後葉複合体(HNC)、および下垂体中後葉(NIL)の組織灌流法を用いて、ANPの β -エンドルフィン(β -END)分泌に及ぼす影響を検討し、その作用が、下垂体に対する直接作用か、視床下部因子を介する間接作用によるものか検討した。灌流法自体の妥当性については、灌流終了前に50mM K^+ に対するアルギニン・バソプレッシン分泌を検討し、実験毎に反応性を検討した。

その結果、

1. β -END基礎分泌は、NILからの方がHNCからよりも有意に高値を示し、視床下部からの抑制因子の存在が示唆された。
2. HNCからの灌流液のゲル濾過パターンでは92%以上が合成 β -ENDの部位に溶出し、 β -lipotropin部位には溶出されず、この β -ENDの分泌は前葉組織の混在によるものではないことが明らかであった。
3. ANP 10^{-8} Mの添加はHNCからの β -END基礎分泌に明らかな影響を与えなかったが、 10^{-7} Mおよび 10^{-6} Mの添加は β -END基礎分泌をそれぞれ25%、50%増加させた。一方、ANP 10^{-8} から 10^{-6} Mの添加はNILからの β -END基礎分泌には明らかな影響を与えず、ANPの作用は、視床下部を介することが示された。
4. ドパミン(DA) 10^{-6} Mの添加はHNCおよびNILからの β -END基礎分泌をそれぞれ50%、51%減少させ、DAは下垂体中後葉に直接抑制効果を有することが明らかとなった。しかし、ANP 10^{-8} および 10^{-6} Mの添加はDAによる β -END分泌抑制に対して、HNC、NIL両方で、明らかな影響を与えなかった。

ANPはHNCからの β -END基礎分泌を刺激したが、NILからの β -END基礎分泌には明らかな影響を与えなかったことと、ANPはDAによる β -END分泌抑制に対して、NILで明らかな影響を与えなかったことより、下垂体レベルでのDAとの拮抗の可能性は低いと考えられた。下垂体中葉の β -END分泌にはDAが主な役割を演じており、ANPが視床下部DA含量を減少させることが報告されている。今回の検討により、ANPの β -END分泌促進作用は、下垂体中葉に直接働くのではなく、視床下部DAを抑制し、DAによる β -END分泌抑制を阻害する事による可能性が示唆された。

以上の成果の発表に際し審査員より以下の質疑が出された。

1. この実験で示されたANPの視床下部に対する作用はDA作動性ニューロンへの直接作用か、あるいは他のニューロンを介した間接作用か。
2. 添加したANPの量は生理的条件として妥当であるか。
3. 実験系の安定性、特に溶媒の浸透圧濃度はどのように補正したか。

以上の質問に対し、申請者は妥当な回答を行い、また、この実験条件における推論の限界についても良く理解していた。

本論文は、従来、報告のなかった β -END分泌に対するANPの影響について、視床下部下垂体中後葉複合体の組織灌流法を用いて、明らかにしたもので、ANPは視床下部からのDA作用の抑制により下垂体中葉からの β -END分泌を増加させることが示唆された。

本論文は以上の新知見を明らかにしたもので、医学博士の学位授与に値すると審査委員会は全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 五十嵐 良 雄

副査 教授 市 山 新 副査 教授 森 田 之 大

副査 教授 山 崎 昇 副査 助教授 瀧 川 雅 浩