

Title	Pregnenolone Biosynthesis in the Rat Salivary Gland and Its Inhibitory Effect on Secretion
Author(s)	宮下, 卓
Journal	歯科学報, 111(6): 644-645
URL	http://hdl.handle.net/10130/2664
Right	

氏名(本籍)	宮下卓 (栃木県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1832号(甲第1103号)
学位授与の日付	平成21年3月31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	Pregnenolone Biosynthesis in the Rat Salivary Gland and Its Inhibitory Effect on Secretion
掲載雑誌名	J Pharmacol Sci 第115巻 56~62頁 2011年
論文審査委員	(主査) 中川 寛一教授 (副査) 一戸 達也教授 柴原 孝彦教授 川口 充教授 田崎 雅和教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

近年の研究では、中枢神経細胞のような非副腎系細胞でも、コレステロールを元にしたステロイドホルモンの生合成代謝過程を有すること、最初に合成される中間代謝産物のプレグネノロンは、ニューロステロイドとして抑制性のGABA_A受容体のサブユニットに結合し、受容体機能を促進することが知られている。唾液腺にもGABA_A受容体が存在することから、これらニューロステロイドの産生機構が存在し、局所的に受容体の感受性調節に関与している可能性が考えられる。本研究では、唾液分泌に対するステロイドホルモンの作用を明確にし、唾液分泌抑制性調節機構であるGABA_A受容体に対する機能修飾の効果を調べ、さらに生合成酵素の遺伝子とタンパク質の存在を明らかにすることを目的として実験を行った。

2. 研究方法

本研究ではウイスター系雄性ラットを用い以下の実験を行った。1) ステロイドが生体内で代謝されることを避けるため、また、唾液腺に直接作用させるためにペントバルビタール麻酔下にて、顎下腺動脈にカニューレーションし灌流系を作成した。その後、各種ステロイドを還流、唾液分泌量変化の測定を行った。2) メタンフェタミンを2週間腹腔内投与後、1週間の休薬を行った。それにより禁断症状を発現させ、擬似的なストレス状態を作った。その後、唾液腺を摘出し、ステロイド代謝酵素であるCYP11A1の発現をqRT-PCR法、Western blot法にて検索した。

3. 研究成績および結論

HBSS-Hで灌流したラット顎下腺にカルバコール刺激を与え、プレグネノロン、プレグネノロン硫酸エステル、GABA_Aアゴニストのムスカリン、アンタゴニストのピククリンによる影響を調べたところ、全ての薬物処置において唾液分泌量の減少が認められた。その結果、以下の3つの結果が導き出された。1) プレグネノロンとムシモールは、カルバコールによる唾液分泌を、用量依存性に抑制したが、プレグネノロン硫酸エステルはほとんど影響を与えなかった。2) ピククリンは、プレグネノロンとムシモールの唾液分泌抑制作用を回復したが、プレグネノロンでは、回復効果は弱かった。3) ムシモールによる唾液分泌抑制作用は、プレグネノロンの併用により増強したが、プレグネノロン硫酸エステルの併用により減弱した。また、qRT-PCRによるCYP11A1 mRNAはメタンフェタミン断薬ストレス負荷群において大脳皮質、唾液腺全てでコントロール

群より有意に多く発現した。唾液腺では耳下腺での発現が最も多く、舌下腺は最も少なかった。Western blot による CYP11A1 タンパク質発現の検索でも同様であった。

今回の実験ではステロイドを直接唾液腺に作用させることで、ステロイド自身が唾液分泌を調節している可能性を示し、またストレスモデルにおける唾液腺でのステロイド代謝酵素活性の変化を示した。データでは代謝系の初期に生成されるプレグネノロン、プレグネノロン硫酸エステルによって唾液分泌が抑制、あるいは増加するという傾向が認められた。またコレステロールからプレグネノロンへ生合成を行う際の代謝酵素である CYP11A1 の遺伝子、たんぱく質量の増加を認めた。

以上の結果からステロイドの生合成機構が唾液腺にも存在し、GABA_A 受容体とカップリングして唾液分泌の抑制性の調節に関与していることが示唆された。

論文審査の要旨

本研究では、ラットの唾液分泌に対するステロイドホルモンの作用を明確にし、GABA_A 受容体に対する機能修飾の効果を調べ、さらに生合成酵素の遺伝子とタンパク質の存在を明らかにするために、顎下腺の灌流による唾液分泌および唾液腺のステロイドホルモン生合成酵素の遺伝子発現とタンパク質発現を調べたところ、プレグネノロンが GABA_A 受容体とカップリングし唾液分泌を抑制すること、プレグネノロンの生合成に関わる CYP11A1 が発現していることを認めた。以上の結果から、ステロイドホルモンの生合成機構が唾液腺にも存在し、唾液分泌の抑制性調節に関与していることが確認された。

この発表に対して、本審査委員会では、1) 薬物投与の全身的、局所的影響の差異、2) 他のステロイドによる唾液分泌の影響、3) ストレス負荷の与え方、4) qRT-PCR と Western blot の分析結果の相関性、5) 統計処理の方法、6) 論文構成と英文表記についての質問がなされたが、概ね適切な回答がなされた。本研究で得られた知見は、歯科医学の進歩発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定された。