

【退任記念講義】

副腎皮質研究の醍醐味

—— ステロイドホルモンから ATP へ ——

川 村 将 弘

東京慈恵会医科大学薬理学講座

INTERESTING STUDIES BY USE OF ADRENOCORTICAL FASCICULATE CELLS : THE ATP RECEPTOR, ITS BIOLOGICAL FUNCTION, AND PHYSIOLOGICAL ROLE IN ADRENOCORTICAL CELLS

Masahiro KAWAMURA

Department of Pharmacology, The Jikei University School of Medicine

Primary cultured bovine adrenocortical fasciculate cells (BAFCs) are useful for studying the function of receptors for several physiologically active substances. We found that both the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) receptor and Gq protein-coupled ATP receptor ($P2Y_2$) were expressed in BAFCs. In BAFCs, extracellular ATP binds to $P2Y_2$ and increases the intracellular Ca^{2+} concentration by means of the store-operated calcium entry system. ATP potentiates both ACTH-induced cortisol and cAMP production via the $P2Y_2$ receptor. Concerning the physiological role of the ATP receptor, we hypothesize that in stressful conditions ATP is released into the blood stream from several kinds of cells, including adrenocortical cells. The released ATP acts on $P2Y_2$ in BAFCs and potentiates ACTH-induced cortisol production. This sensitizing effect of extracellular ATP on adrenocortical fasciculate cells to ACTH is a mechanism to protect us from stress.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2008 ; 123 : 333-46)

Key words: adrenal cortex, glucocorticoid, ATP, adrenocorticotrophic hormone, calcium

I. 副腎皮質との出会い

私は、昭和 44 年本学を卒業後直ちに薬理学教室（当時）に入室し、松葉三千夫教授（現名誉教授）に師事いたしました。本学の薬理学教室の研究テーマは初代教授石川雄三郎先生以来「内分泌薬理学」でありました。

さて、ストレスに対応する重要な機構の一つとして、視床下部－下垂体－副腎系があります。この系は、生体がストレスに曝露されたとき、その刺激により視床下部より corticotropine releasing hormone (CRH) が放出され、CRH は下垂体門脈系を介して下垂体前葉細胞に作用し、adreno-

corticotrophic hormone (ACTH) を血中に放出します。ACTH は血行を介して末梢の副腎皮質束状層細胞の ACTH 受容体に作用し、ストレス対応ステロイドホルモンである glucocorticoid (GC)（ヒトでは cortisol）産生を促進し、その血中濃度を高めストレスに対応する機構で、良く知られています (Fig. 1)。

松葉先生は副腎皮質ステロイドホルモン産生調節機序に関する研究をされており、細胞外に Ca^{2+} が存在しないと生理的濃度の ACTH は GC 産生を促進せず、また Ca^{2+} 濃度依存的にその作用は強くなることから、cAMP を細胞内情報伝達物質とするとされていた ACTH の GC 産生促進機序

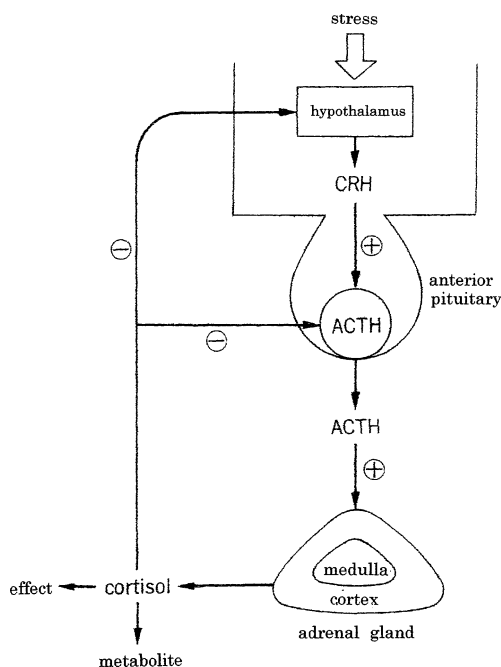


Fig. 1. Hypothalamus-pituitary-adrenal system.
CRH: corticotropine releasing hormone,
ACTH: adrenocorticotrophic hormone.

における Ca^{2+} の関与について研究をされておりました。私は、ウシ副腎皮質細胞のミトコンドリアに局在する GC 合成律速酵素に対する Ca^{2+} の影響に関する研究をテーマとして与えられ、品川の屠場で購入した多くのウシ副腎よりミトコンドリアを分離し、色々な実験を行いました。そんなわけで私は副腎皮質と Ca^{2+} に出会ったのです。

ところで、血中には多くの生理活性物質が存在し、種々細胞は各々に対応する受容体を発現しており、その受容体を介して生理活性物質は細胞機能に対し相互に影響を与えあっています。副腎皮質束状層細胞には、ACTH 受容体以外に鉱質コルチコイド産生を刺激する angiotensin II 受容体はもちろん、生理的な存在意義は不明ですが、GC 産生に促進的に作用する β 受容体、acetylcholine muscarin 受容体、histamine H1 受容体が発現しています。私は副腎皮質束状層細胞における ACTH と他の生理活性物質との GC 産生における相互作用を知りたいと考えるようになりました。その研究のためには、細胞膜表面の受容体が正常に近い細胞を用いる必要があります。通常、副腎皮質細胞を得るには、ウシやラットの副腎皮質

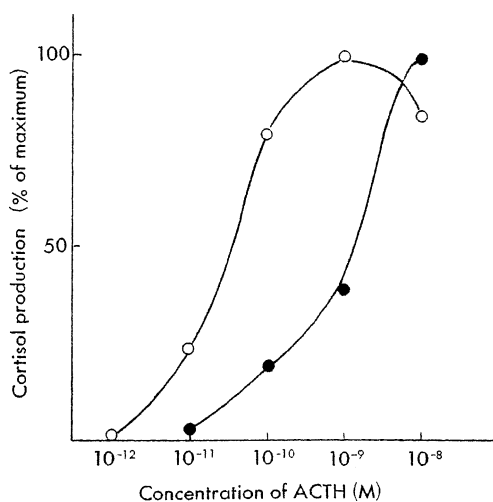


Fig. 2. Steroidogenic effect of ACTH on 2-day primary cultured (○) and freshly isolated bovine adrenocortical cells (●).
(From 川村将弘 慈恵医大誌 1983; 98: 1-12. Fig. 3)

組織を trypsin や collagenase のような酵素で処理し細胞を遊離させます。しかしながら、このような細胞標本は、細胞表面受容体がこれらタンパク分解酵素によりダメージを受けており、いわゆる正常状態の細胞ではありません。そこで、私は、ダメージを受けた細胞表面の受容体が修復されていると考えられる、遊離細胞を数日間培養した、初代培養副腎皮質細胞を用いることにしました。細胞は組織学的にヒトに類似しており、最終分泌 GC がヒトと同じ cortisol であるウシの副腎皮質束状層細胞にしました。なぜなら、ウシで得られた結果をヒトに外挿できるからです。そこで、独自の培養条件を構築し、培養皿に付着したままの初代培養ウシ副腎皮質束状層細胞 (primary cultured bovine adrenocortical fasciculate cell: 以後 BAFC と記載します) を実験試料といたしました¹⁾。Fig. 2 に示すように、採取当日の細胞に比較し初代培養 2 日目の細胞では、GC 産生に対する ACTH の容量反応曲線は左にシフトし、生理的濃度の ACTH により十分な GC が産生されております。すなわち、初代培養することで、酵素処理によるダメージを受けた細胞膜 ACTH 受容体が、正常に戻っていることを示しております。したがって、他の生理活性物質の受容体も正常に

戻っていると考えられます。私たちはこのような細胞を用いて研究を行ってきました。

II. 研究の流れ

1. 副腎皮質束状層細胞の ATP 受容体の発見

細胞内情報伝達物質として cAMP と Ca^{2+} が中心的な役割を果しております。そこで、cAMP を主たる情報伝達物質とする ACTH との相互作用を発現する生理活性物質として、Gq タンパクと共役した受容体に結合し Ca^{2+} を情報伝達物質とするものを選択することにしました。その候補として、先に述べた angiotensin II や acetylcholine がありますが、ストレス時などに血中濃度が高まる物質が無いかと考えました。研究を始めた当時、ATP が、神経伝達物質であることが確立されつつありました²⁾。また非興奮性細胞においても、細胞膜に ATP 受容体が存在し、細胞外 ATP は受容体を介し、細胞内への Ca^{2+} 流入を促進することにより細胞機能に影響を与えていることを示す報告が出始めていました。私は、ATP は細胞内で産生されるが細胞の外には出ないと教えられていましたので興味をひかれました。また、色々な条件下で ATP は種々細胞から放出され、特に非常に強いストレスを受けると ATP およびその代謝物の合計血中濃度が、数十 μM にも上昇することが示唆されていきました。したがって、BAFC に ATP 受容体が存在し、ATP が Ca^{2+} を介して GC 産生を促進するのならば、ATP は私達

の研究目的に合致した生理活性物質となります。そこで、ATP を BAFC に作用させますと、GC 産生を促進しましたが、ATP の分解産物である adenosine は反応を示しませんでした (Fig. 3)。この結果は BAFC の細胞膜に ATP 受容体が存在していることを示しています。しかしながら、遊離細胞を用いた場合、ATP はまったく GC 産生促進作用を発現しませんでした。これは始めて副腎皮質細胞における細胞膜 ATP 受容体の存在を示した報告です。

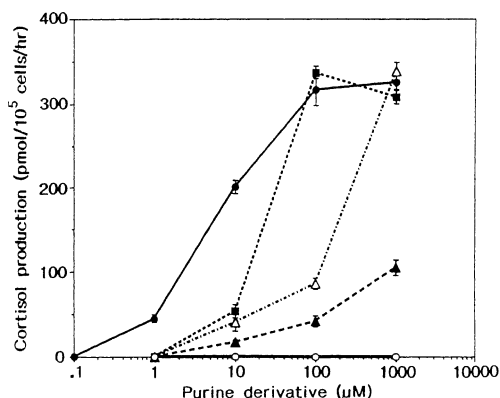


Fig. 3. Effects of purine derivatives on cortisol production in BAFCs. The 3-day primary cultured monolayer BAFCs were incubated in the presence or absence of ATP (●), ADP (■), AMP (▲), adenosine (△) and α, β -methylene ATP (○) at 37°C for 1 hr. (From Kawamura M et al. Jpn J Pharmacol 1991; 56: 543-5. Fig. 1)

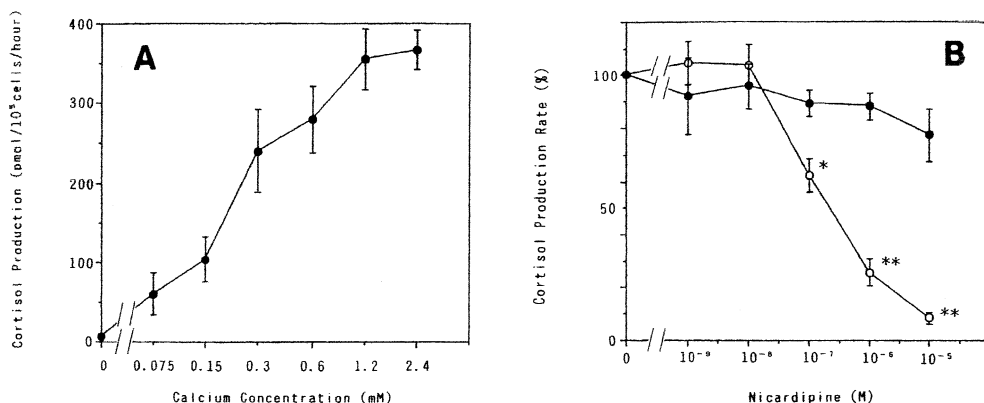


Fig. 4. A: Effect of Ca^{2+} on ATP-induced steroidogenesis in BAFCs. B: Effect of nicardipine (a voltage-dependent Ca^{2+} channel inhibitor) on ATP (●)- and high KCl (○)-induced steroidogenesis in BAFCs in the presence of 1.2 mM Ca^{2+} .

(From Niitsu A. Jpn J Pharmacol 1992; 60: 269-74. Fig. 2 and 4)

ところで, Fig. 4A に示すように, ATP の GC 産生促進作用発現には細胞外に Ca^{2+} が存在することが必須で, また Ca^{2+} 濃度依存性にその作用は強くなります. すなわち, ATP は何らかの機構で細胞外からの Ca^{2+} の BAFC 内への流入を刺激し, GC 産生を促進していることを示しております. そこで ATP 受容体と細胞内 Ca^{2+} 動態の関係に関する研究に入っていくことになりました.

2. 容量依存性 Ca^{2+} 流入機構の研究

ATP 受容体はイオンチャネル内蔵型の P2X と, 膜 7 回貫通型の Gq タンパク共役型の P2Y に大きくわけられます²⁾.

Gq タンパクに共役した受容体に生理活性物質が結合すると, phospholipase C (PLC) が活性化し IP_3 が産生されます. IP_3 は小胞体のその受容体に結合し小胞体内の Ca^{2+} を細胞質に放出し, 細胞質に放出された Ca^{2+} は sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} pump により小胞体内へ再び取り込まれます (Fig. 5). ATP は BAFC において IP_3 産生を用量依存性に増加させますので, その受容体は P2Y であります (Fig. 6).

さて, ウシ副腎皮質細胞に GC 産生に関連した電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VOC) が存在することがすでに本学薬理学教室で示されていました. しかし, ATP による GC 産生は VOC 阻害薬 (nicardipine) では抑制されませんでした (Fig. 4B). したがって, ATP により活性化するのは VOC では

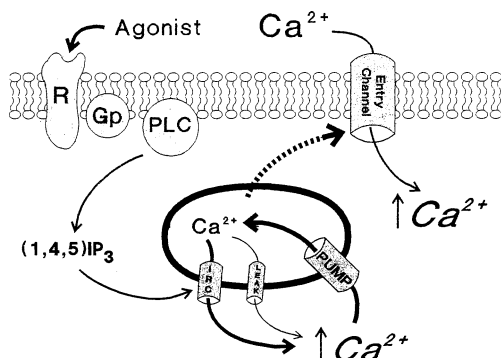


Fig. 5. Capacitative model for agonist-activated Ca^{2+} entry.

R: receptor, Gp: G protein, PLC: phospholipase C, IRC: IP_3 -receptor channel, PUMP: endoplasmic reticulum Ca^{2+} pump.

(From Putney JW Jr. Cell Calcium 1990; 11: 611-24. Fig. 5)

ありません. そこで, BAFC の細胞内 Ca^{2+} 動態を直接知るため, 細胞内蛍光性 Ca^{2+} 指示薬の一つである fura 2 を, カバーガラス上に密に培養した BAFC に取り込ませ, 細胞外に ATP を添加することにより, fura 2 の蛍光強度の変動を観察しました. 蛍光強度が増せば細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇していることを示します. さて, Fig. 7A に示したように, 細胞外 Ca^{2+} 存在下では, ATP により Ca^{2+} の一過性の上昇 (第 1 層) と, それに引き続いて起こる, 安定した持続的な上昇 (第 2 層) が観察されます. 一方細胞外 Ca^{2+} 非存在下の環境では, 第 1 層は観察されましたが, 第 2 層は完全に消失しました (Fig. 7B). そして, 第 2 層の途中で細胞外液に EGTA を投与し細胞外 Ca^{2+} を除去すると, それ以降の第 2 層は消失しました (Fig. 7C). これらの結果は, 第 1 層は細胞内小胞体からの Ca^{2+} 放出により発現し, 第 2 層は小胞体内 Ca^{2+} 涸渇による VOC を介さない機構による細胞外からの Ca^{2+} の流入によることを示唆しております.

そのころ, 容量依存性 Ca^{2+} 流入 (store-operated calcium entry: SOCE) 機構とよばれる新しい Ca^{2+} 流入機構が提唱され始めていました³⁾. SOCE は非興奮性細胞において観察されつつありました. SOCE 機構とは, Gq タンパクと共役した受容体にリガンドが結合すると, 産生された IP_3 により小胞体内の Ca^{2+} 放出が起こり小胞体内の Ca^{2+} が枯渇します. その結果細胞膜の未同定の Ca^{2+} チャネルが開き Ca^{2+} が流入するとい

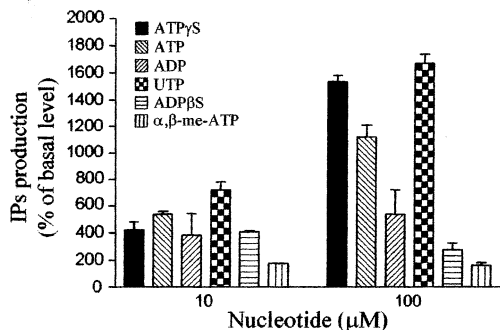


Fig. 6. Effects of purine and pyrimidine derivatives on IP_3 production in BAFCs.

(From Nishi H et al. Life Sci 2004; 74: 1181-90. Fig. 2(A))

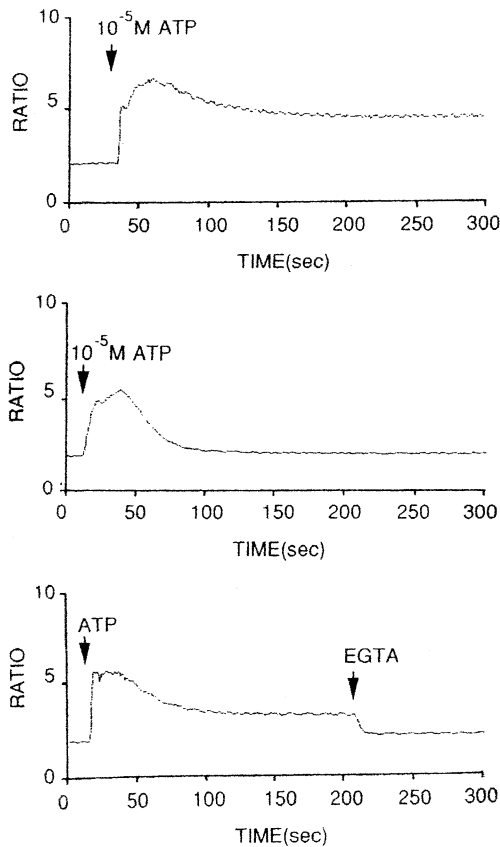


Fig. 7. Effect of ATP on $[Ca^{2+}]_i$ mobilization in BAFCs in the presence of extracellular Ca^{2+} (1.2 mM) (A, C) and in the absence of extracellular Ca^{2+} . (From Matsui T. Biochem Biophys Res Commun 1991; 178: 1266-72. Figs. 3(A), 4(A) and 5)

う考え方です (Fig. 5)。私たちが得た BAFC における結果は SOCE 機構に適合いたしました。しかしながら、現象としての SOCE は多くの非興奮性細胞でその存在が報告されつつありましたが、詳細な活性化機序については現在まで統一見解はありません。GC 産生と関連した ATP 受容体による副腎皮質細胞内 Ca^{2+} 動態調節機序の解明は興味あるテーマです。そこで先ず ATP による SOCE 活性化機序に関する研究を中心に行うことにいたしました。

より詳細な研究を進めるため、細胞内 Ca^{2+} イメージング装置を導入し、fura 2 を細胞内に負荷した BAFC を用いて、単一細胞における細胞内 Ca^{2+} 動態を観察することにしました。ここまで

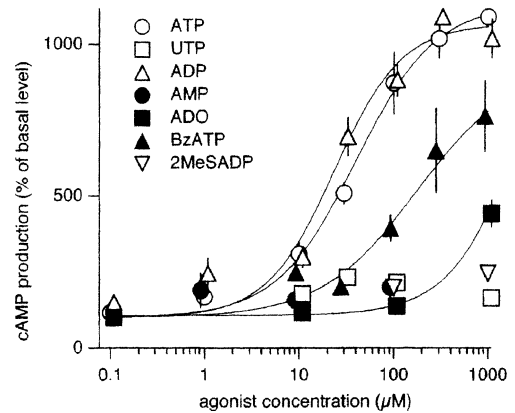


Fig. 8. Effects of purines and pyrimidines on cAMP production in BAFCs. (From Nishi H et al. Br J Pharmacol 2002; 137: 177-84. Fig. 1A).

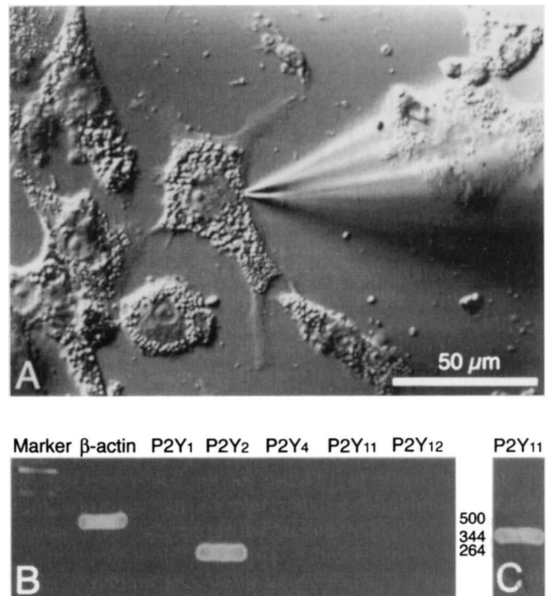


Fig. 9. RT-PCR of P2Y receptor mRNAs from BAFC cytoplasm derived from a single cell. (A) BAFC with a patch clamp glass pipette to collect cytoplasm. (B) PCR fragments for P2Y receptor mRNAs. (C) PCR product amplified from bovine P2Y₁₁ receptor-based primer for the tissue extracted from bovine placenta. (From Nishi H et al. Br J Pharmacol 2002; 137: 177-84. Fig. 7).

ATP を用いて細胞内 Ca^{2+} 動態について研究を行ってきましたが、ATP には弱いながら cAMP 産生を促進する作用があることが分かってきまし

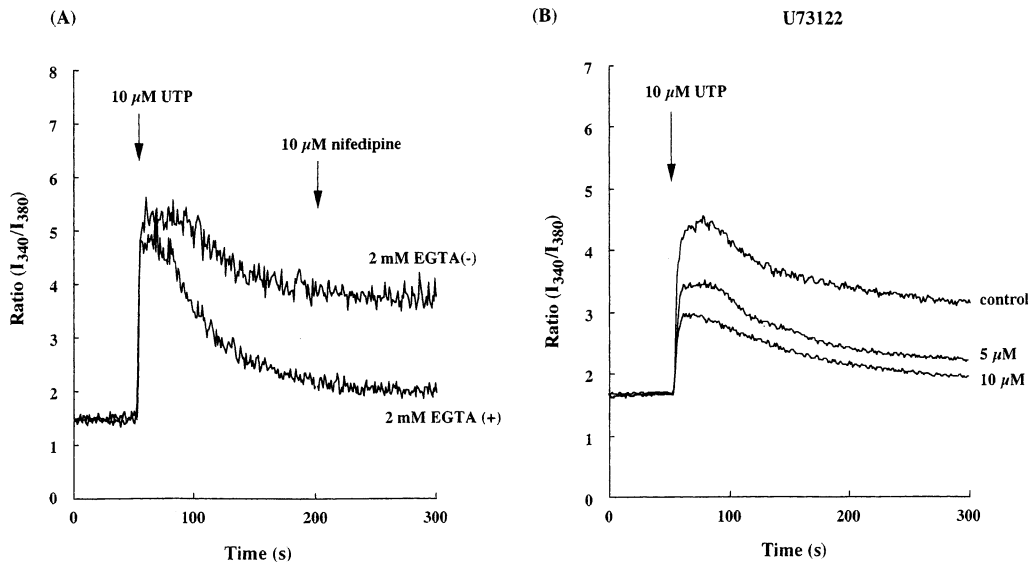
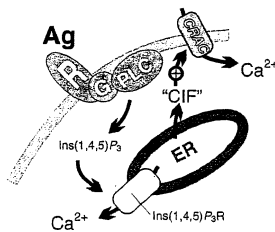


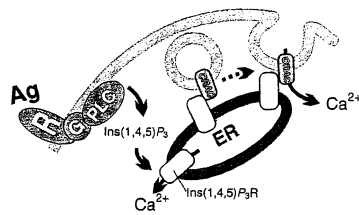
Fig. 10. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ mobilization by UTP ($10 \mu\text{M}$) in BAFCs.

(From Kawamura M et al. J Pharmacol Sci 2003; 91: 23-33. Fig. 1)

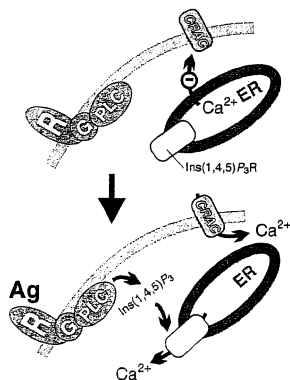
(A) "CIF"



(B) Exocytosis



(C) Ca^{2+} regulation



(D) Conformational coupling

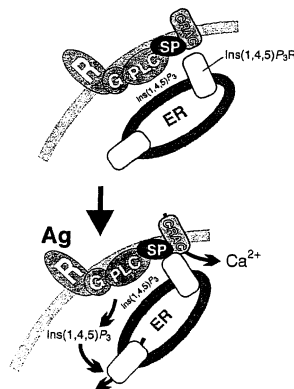


Fig. 11. Proposed mechanisms for signaling capacitative calcium entry.

CIF: Ca^{2+} -influx factor, R: agonist receptor, Ag: agonist, G: heterotrimeric G protein, PLC: phospholipase C, CRAC: Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel, ER: endoplasmic reticulum, $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$: inositol 1, 4, 5-trisphosphate, $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3\text{R}$: $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ receptor, SP: scaffolding protein.

(From Putney JM Jr et al. J Cell Sci 2001; 114: 2223-9. Fig. 1)

た。たしかに比較的高濃度の ATP は細胞内 cAMP を上昇させます。一方, pyrimidine 誘導体の UTP はまったく cAMP 産生を促進しません (Fig. 8)。すなわち, BAFC に存在する P2Y 受容体は, ATP または UTP が結合し SOCE を活性化する P2Y₂ と, ATP のみ結合し cAMP 産生を促進する未知の P2Y 受容体が存在することを示唆しております。後者については P2Y₁₁ が報告されておりますが, BAFC には, P2Y₂ の発現は検出されましたが P2Y₁₁ は検出されませんでした (Fig. 9)。したがって, cAMP 産生に共役した未知の P2Y 受容体が BAFC に存在することが考えられましたが, そのクローニングには成功しておりません。このような実験結果から, 単一細胞を用いた後の研究では, ATP のかわりに UTP を用いることにしました。

Fig. 10 (A) に示すように, 単一細胞においても UTP により一過性の Ca²⁺ 上昇と, それに続く持続的な Ca²⁺ 流入が認められました。そして, VOC 阻害薬である nifedipine により持続的な Ca²⁺ 流入は阻害されませんでした。また, PLC 阻害薬である U73122 により Ca²⁺ 流入は濃度依存的に抑制されました (Fig. 10 (B))。すなわち, 単一細胞

を用いて, BAFC において, ATP は IP₃ 産生を介して SOCE 機構を刺激することが確認されました。

SOCE 活性化機序については, Fig. 11 に示すように 4 つのモデルが提唱されていましたが⁴⁾, 現在では 1) calcium influx factormodel と 4) conformational (coupling) model にしぼられております。Conformational coupling model は, 小胞体内の Ca²⁺ が涸渇すると, 何らかの機序により細胞膜の未知の Ca²⁺ チャネルに小胞体の IP₃ 受容体が接近, 結合し Ca²⁺ 流入を引き起こすというモデルです (Fig. 11 (D))。Actin 繊維の integrity と SOCE 活性との関連性から, この説を支持する結果が他のいくつかの細胞において報告されておりましたことと⁵⁾, 私が細胞骨格, 特に actin と細胞機能との相互関係について興味を持っておりましたので, 私たちはまずこのモデルについて検討しました。Actin 重合を阻害する cytochalasin D で前処理しますと UTP による SOCE は完全に抑制されました (Fig. 12 (A))。また, actin 線維の形成に関与している, myosin light-chain kinase 活性を阻害する ML-9 および calmodulin 阻害薬である W-7, E6 berbamine は

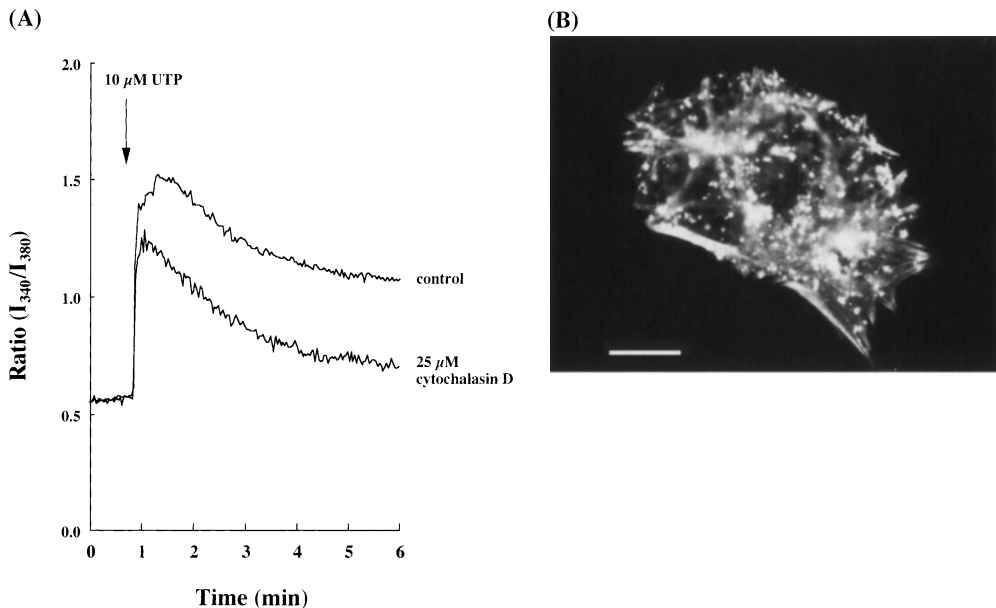


Fig. 12. Effect of cytochalasin D on UTP-induced $[Ca^{2+}]_i$ mobilization (A) and F-actin (B) in BAFCs. B: $\times 600$; Bar: 20 μ m.

(From Kawamura M et al. J Pharmacol Sci 2003; 91: 23-33. Fig. 8)

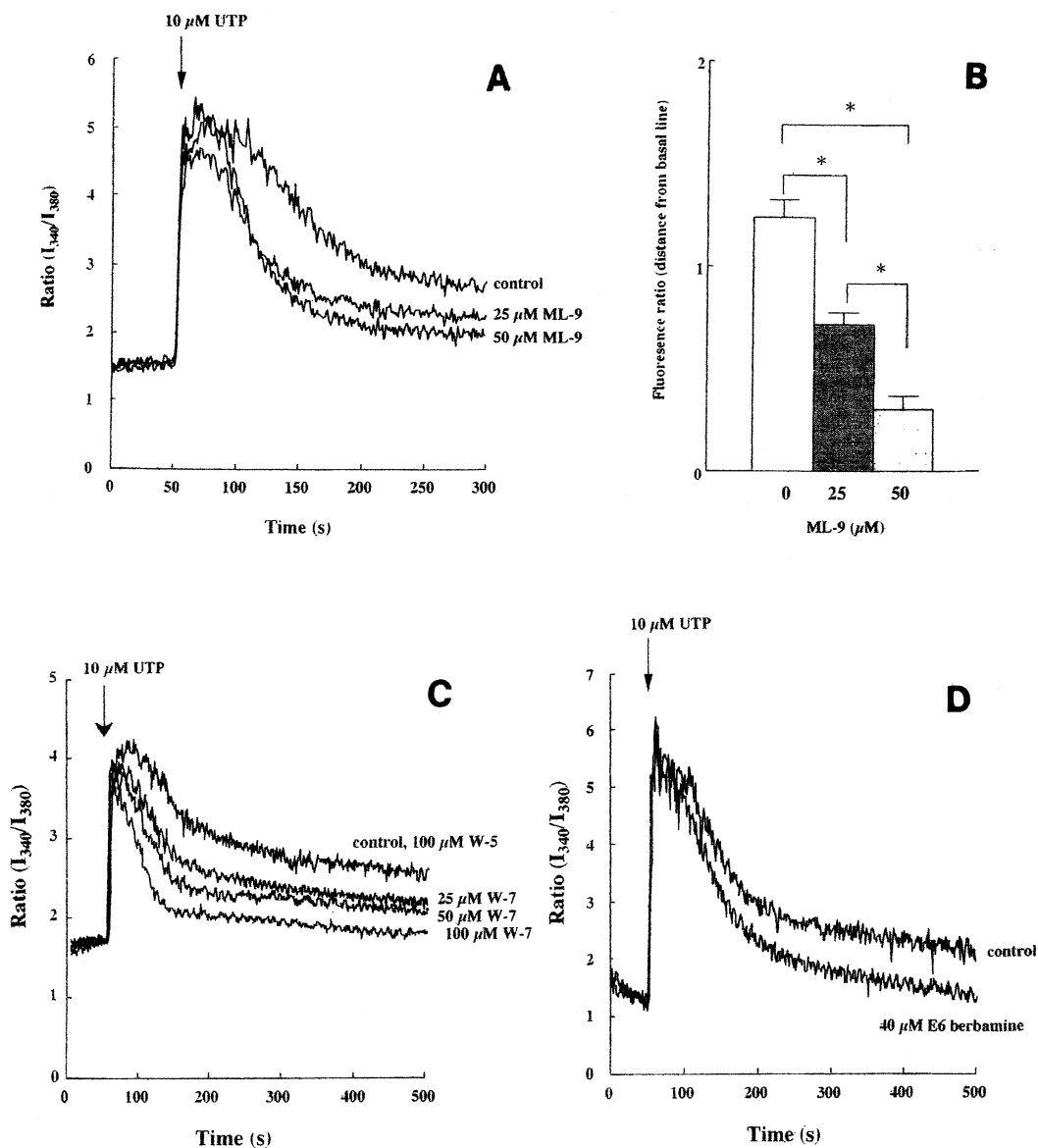


Fig. 13. Effect of ML-9 (A and B), W-7 C, and E6 berbamine D on UTP-induced $[Ca^{2+}]_i$ mobilization in BAFCs.

(From Kawamura M et al. J Pharmacol Sci 2003; 91: 23-33. Fig. 3 and Fig. 5)

ともに UTP による SOCE を阻害しました (Fig. 13). そこで、これらの薬物が BAFC の actin 線維形成に影響を及ぼしているか否かを、国領校・生物学研究室的寺坂教授にお願いし調べていただきましたところ、いずれの薬物も、SOCE を阻害する実験条件で、BAFC の actin 線維の形成を抑制いたしました (Fig. 12 (B), 14, 15). したがって、私たちは BAFC における SOCE 活性化機序は con-

formational coupling model が当てはまると考えております。

しかしながら、SOCE がどんな機序で活性化されるにしても、細胞膜の SOCE チャネルの存在が必須であり、現在多くの研究者がその実態の追及を行っておりますが、その候補の一つに TRP チャネルがあり、TRPA, TRPC, TRPM, TRPN, TRPML, TRPP, TRPV の 7 つの subfamily の

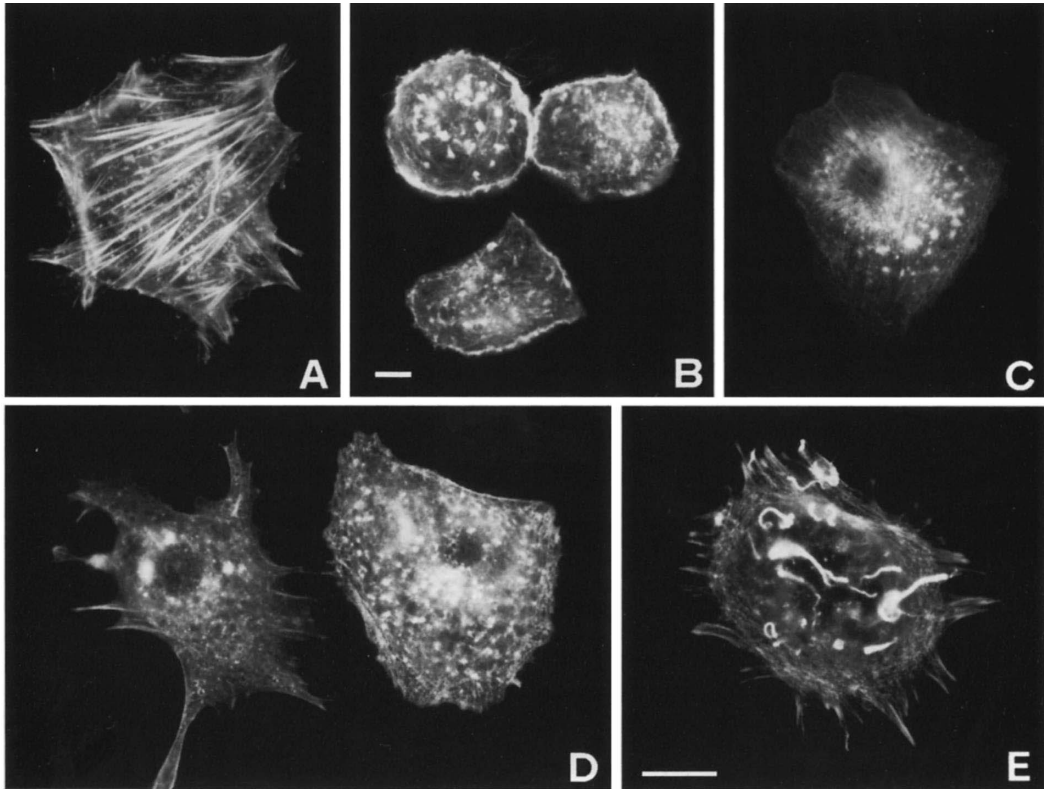


Fig. 14. Effect of ML-9 on F-actin in BAFCs. A: Typical fluorescent image of stress fibers, polygonal arrays and punctuate structure of actin are visible in the cell. B-E: BAFC treated with 50 μ M ML-9 for 10 min (B,C), 20 min (D), or 30 min (E). A, C-E: $\times 600$, B: $\times 375$; Bar: 20 μ m.

(From Kawamura M et al. J Pharmacol Sci 2003; 91: 23-33. Fig. 6)

存在が明らかにされております。その中で、TRPCがいくつかの細胞において、SOCEチャンネルであると報告されております⁶⁾。さて、SOCEチャンネルは Ca^{2+} に非常に特異性が高いのですが、TRPCは Ca^{2+} 特異性が低く、 Ca^{2+} と同様 fura 2 と結合しその蛍光強度を増加する Sr^{2+} 、 Ba^{2+} も容易に通過します。これらの性質を利用して実験を行いました。細胞外の Ca^{2+} を Sr^{2+} や Ba^{2+} に置換した条件下でUTPを添加しました。Fig. 16に示すように、細胞外に Ca^{2+} の代わりに Sr^{2+} および Ba^{2+} を添加した場合は、UTPを作用させますと、小胞体からの Ca^{2+} 放出により発現する第1層は変化しませんでした。細胞外からの2価イオン流入により観察される第2層は観察できませんでした。すなわち、BAFCにおいては Sr^{2+} 、 Ba^{2+} はUTP刺激により細胞内へ流入しないことを示しております。したがって、BAFCではTRPCは

SOCEチャンネルではないと考えられます。

現在、STIM1とOrilという新しい候補者が注目をあびておりますが⁷⁾、BAFCにおけるこれらの候補者の発現等々が今後の問題として残っております。

3. ACTH受容体とATP受容体の相互作用について

BAFCに Ca^{2+} を動かすATP受容体(P2Y_2)が存在することが判明したのですが、そのBAFCにおける生理的存在意義があるのか否かが大切な点です。そこで、ACTHとATPまたはUTPのGC産生に対する相互作用を検討する意味が出てきました。この研究は、SOCE研究と並行して私自身が行い、教室員および大学院生にはSOCEに関する研究に時間を割いてもらったため、現象の把握までで定年を迎えることになりいささか残念であります。

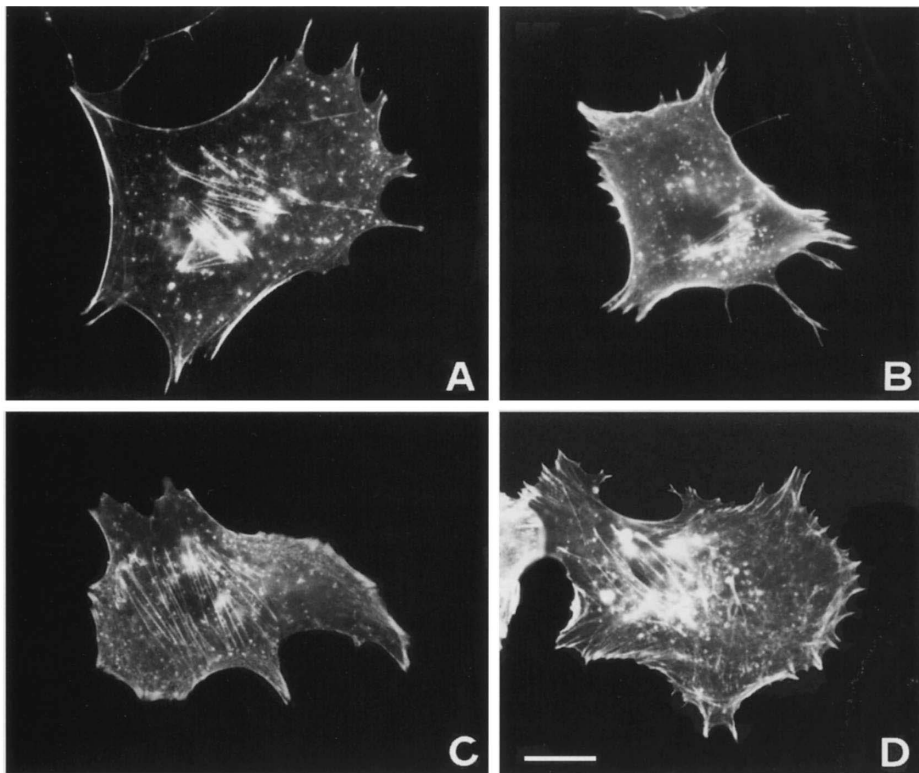


Fig. 15. Effects of W-7 and E6 berbamine on F-actin in BAFCs. A, B: BAFCs were treated with 100 μ M W-7 for 10 min. C, D: BAFCs were treated with 40 μ M E6 berbamine for 20 min. A-D: $\times 600$; Bar: 20 μ m.

(From Kawamura M et al. J Pharmacol Sci 2003; 91: 23-33. Fig. 7)

さて、まず GC 産生における ACTH と ATP の相互作用を検討しました。cAMP および GC 産生を明確に発現しない濃度の ATP は ACTH の GC 産生を相乗的に増強しました (Fig. 17A)。一方、ATP は Gs タンパクを直接活性化し cAMP 産生をおこす、NaF による作用に対しては増強効果を示しましたが (Fig. 17C)、cAMP 産生酵素の adenylyl cyclase (AC) を直接促進し糖質コルチコイド産生を刺激する forskoline の作用に対しては増強効果を示しませんでした。 (Fig. 17D) また、cAMP 産生を指標にみても、単独では cAMP 産生を刺激しない濃度の ATP は、ACTH による cAMP 産生を増強しました (Fig. 18)。AC には type 1~9 のサブタイプの存在が明らかになっております。BAFC の本酵素のサブタイプの発現を RT-PCR で調べますと、typ1, 3 および 2 の発現がみとめられました。Typ1, 3 は Ca^{2+} によりその活性が増強され、typ2 は G タンパクの $\beta\delta$

サブユニットによりその活性が増強されます (Table 1)⁸⁾。これらの実験は ACTH の最大活性を発現する濃度の Ca^{2+} の存在下で実験を行っていますので、私達は ATP による ACTH の GC 産生促進作用増強効果は、 P2Y_2 受容体に ATP が結合することにより Gq タンパクが活性化され、Gq α と Gq $\beta\gamma$ サブユニットが分離します。Gq α は PLC を活性化し、一方で Gq $\beta\delta$ は ACTH により活性化された typ2 AC に結合し、その活性を増強するため発現すると考えております (Fig. 19)。

III. 副腎皮質束状層細胞に存在する ATP 受容体の生理的意義について

ATP は種々の細胞からストレスを含むいろいろな刺激により細胞外へ放出されます。したがって、ストレス時には副腎皮質細胞またはその周囲の細胞からも ATP が放出され、血行を介したり

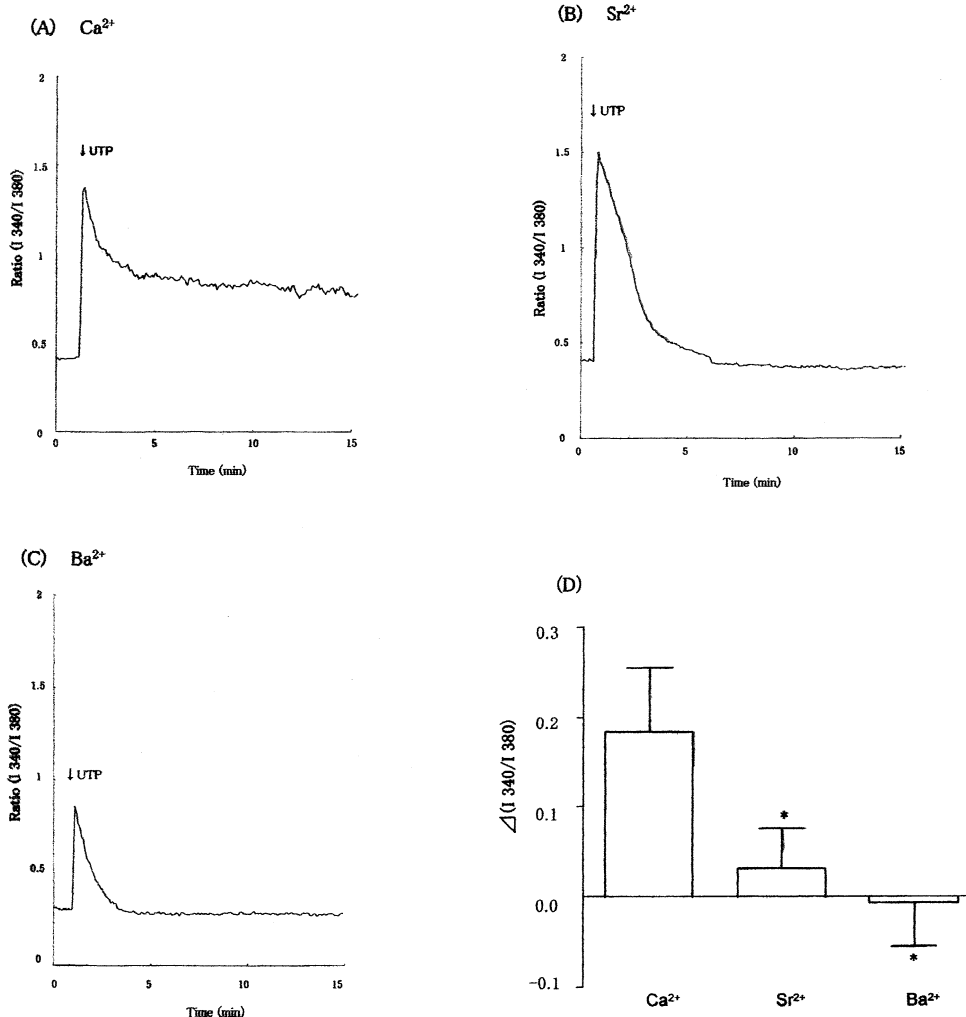


Fig. 16. Effect of Ca^{2+} , Sr^{2+} , and Ba^{2+} on UTP-induced intracellular fura-2 fluorescence intensity in BAFCs. (A) Ca^{2+} , (B) Sr^{2+} , (C) Ba^{2+} . (D): The ratio of the fluorescence intensity at 400 seconds after the beginning of fluorescence determination. Each value represents the mean \pm S.D.

(From Kagata M et al. Jikeikai Med J 2008; 55: 25-31. Fig. 2)

autocrine/paracrine 的に副腎皮質束状層細胞に作用し、ACTH の GC 産生促進作用を増強し、私達のストレス対応機序を強化しているのが副腎皮質束状層細胞における ATP 受容体の生理的存在意義であると考えております。

IV. 終わりに

以上、私のささやかな研究をお話いたしましたのが、ACTH の副腎皮質ステロイドホルモン産生調節機序の研究からはじまったものが、ATP を中

心とする研究に移り、最後はやはり副腎皮質ホルモン産生調節の研究にもどっていきました。私にとって副腎と ACTH、ステロイドホルモン、 Ca^{2+} 、そして ATP に出会ったことで、新しい研究テーマに携わることができたことは幸いでした。

以上、稿を終わるにあたり、私の研究および薬理学教室を支えていただいた、薬理学教室同窓諸先生、および教職員の方々、大学院生諸君に感謝の意を表します。

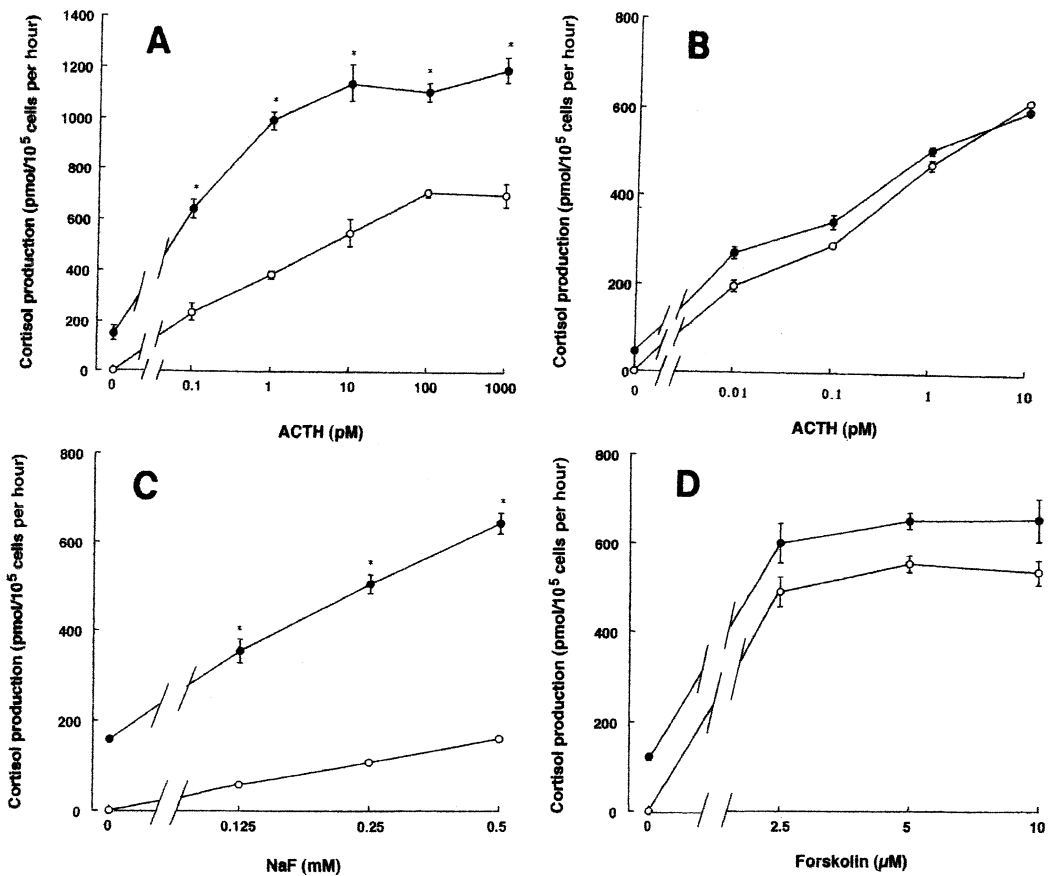


Fig. 17. Effect of ATP on A; ACTH-induced steroidogenesis, B; adenosine-induced steroidogenesis, C; NaF-induced steroidogenesis and D; forskolin-induced steroidogenesis in BAFCs in the absence (○), or the presence (●) of 5 μM ATP.

(From Kawamura M et al. Jpn J Pharmacol 2001; 85: 376-81. Figs. 1, 2, 4 and 5)

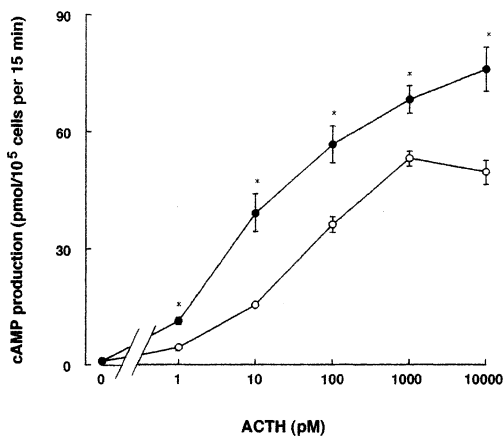


Fig. 18. Effect of ATP on ACTH-induced cAMP production in BAFCs in the absence (○), or the presence (●) of 5 μM ATP.

(From Kawamura M et al. Jpn J Pharmacol 2001; 85: 376-81. Fig. 6)

Table 1. Properties of adenylyl cyclase subfamilies^a

Subfamily	Splice variants	Activators		Inhibitors	Ca ²⁺ control	Tissue distribution
		Obligatory	Conditional			
Ca ²⁺ /calmodulin activated cyclases						
Type 1	—	Gsα Ca ²⁺ /CAM	Ca ²⁺ /CAM (synergy)	Gβγ, Giα, Gβγ	▲ nM	Brain, pituitary
Type 3	—	Gsα	Ca ²⁺ /CAM (weak)	Giα	▲, ▼ (?)	Olfactory epithelium (widespread)
Type 8	3	Gsα, Ca ²⁺ /CAM	Ca ²⁺ /CAM (synergy)	No data	▲ nM	Brain
Ca ²⁺ inhibitable cyclases						
Type 5	>3	Gsα, PKCα, PKCξ (isolated AC)	PKC (weak)	Giα, Ca ²⁺	▼ μM	Brain, heart
Type 6	—	Gsα	PKC (weak)	Giα, Ca ²⁺	▼ nM	Widespread
Type 9	2 (?)	Gsα		Giα, Ca ²⁺ (calcineurin)	▼	Widespread
Protein kinase C stimulated cyclases						
Type 2	—	Gsα, PKC PKC (isolated AC)	Gβγ, PKC (synergy) Gβγ (weak)	Giα (?)	▲ (PKC)	Brain, lung
Type 4		Gsα	Gβγ, PKC	No data	No data	Widespread
Type 7	2	Gsα	PKC (synergy)	Giα, Gβγ (?)	▲ (PKC)	Retina 1 variant ; otherwise widespread

^aProperties of mammalian adenylyl cyclases are listed. Obligatory activators are those that will increase enzymatic activity alone; conditional activators are those that require the presence of an obligatory activator. Note that there is some controversy about whether protein kinase C (PKC) activation is an obligatory stimulus for AC2; isolated cyclase indicates that this activation is only observed in the test tube and remains to be established in a cellular system. CAM, calmodulin; nM, submicromolar Ca²⁺ is effective; μM, Ca²⁺ effects only observed in the micromolar range; PKC, effects of Ca²⁺ are mediated through Ca²⁺-dependent PKC; calcineurin, effect of Ca²⁺ is through calcineurin; synergy indicates that the effects of the activators together are greater than the sum of the respective activation caused when the activator is given alone. (From Antoni FA. Trends Endocrinol Metab 1997; 8: 7-14. Table 1)

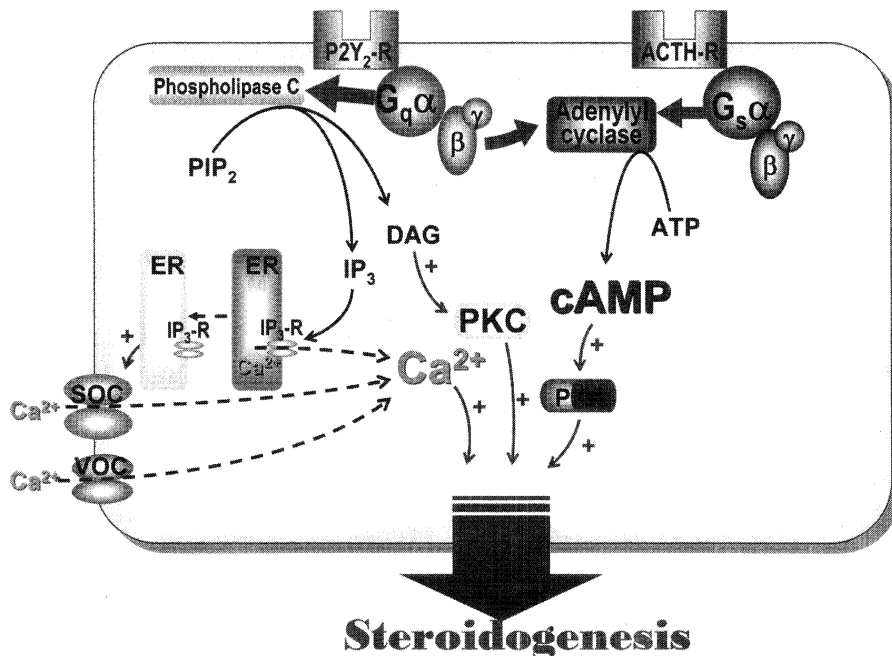


Fig. 19. Possible interaction between ATP receptor and ACTH receptor on cortisol production in BAFC. (西 晴久 (慈恵医大薬理学講座) 作)

文 献

(文献は関連のある総説のみ記載した。)

- 1) 川村将弘, 松井 隆. ウシ副腎皮質細胞の初代培養法. 日薬理誌 1994; 103: 43-8.
- 2) Burnstock G. Purine and pyrimidine receptors. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 1471-83.
- 3) Putney JW Jr. Capacitative calcium entry revisited. *Cell Calcium* 1990; 11: 611-24.
- 4) Putney JW Jr, Broad LM, Braun F-J, Lievremont J-P, Bird GStJ. Mechanisms of capacitative calcium entry. *J Cell Sci* 2001; 114: 2223-9.
- 5) Rosado JA, Sage SO. The actin cytoskeleton in store-mediated calcium entry. *J Physiol* 2000; 526: 221-9.
- 6) Pedersen SF, Owsianik G, Nilius B. TRP channels: an overview. *Cell Calcium* 2005; 38: 233-52.
- 7) Putney JM Jr. New molecular players in capacitative Ca^{2+} entry. *J Cell Sci* 2007; 120: 1959-65.
- 8) Antoni FA. Calcium regulation of adenylyl cyclase. Relevance for endocrine control. *Trends Endocrinol Metab* 1997; 8: 7-14.