

オルトバナデートはPKAに依存したMAPキナーゼの  
活性化を介して、ラット肝細胞中の  
cAMPホスホジエステラーゼ3を活性化させる

渡辺智康、佐藤洋文、小原和久、高見玲子、本屋敷敏雄、森田哲生、植木 寛

*Biol. Pharm. Bull.*, 27 (6), 789-796 (2004)

**Orthovanadate stimulates cAMP phosphodiesterase 3 activity  
in isolated rat hepatocytes through mitogen-activated protein kinase  
activation dependent on cAMP-dependent protein kinase**

Tomoyasu Watanabe, Hirofumi Satoo, Kazuhisa Kohara, Reiko Takami,  
Toshio Motoyashiki, Tetsuo Morita, and Hiroshi Ueki

**ABSTRACT** : Orthovanadate (vanadate) as well as insulin stimulated phosphodiesterase 3 (PDE3) in the particulate fraction of rat hepatocytes. The vanadate-induced activations of PDE3 and mitogen-activated protein kinase (MAPK) were inhibited by H-89 and PD98059, suggesting that the MAPK activation via cAMP-dependent protein kinase (PKA) and MAPK kinase is involved in the vanadate action. On the other hand, the insulin-induced activations of PDE3 and Akt were inhibited by wortmannin, suggesting involvement of the Akt activation via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) in the insulin action. The vanadate-induced activations of PKA and PDE3 were inhibited in part by propranolol or genistein, suggesting that vanadate may exert its actions via dual signaling pathways of beta-adrenergic receptors and receptor tyrosine kinases of growth factors. Vanadate, in contrast to insulin, did not promote the phosphorylation of insulin receptor substrate-1. The vanadate-induced increase in the phosphorylation of a main isoform of MAPKs, p44 protein, was detected by immunoblotting migration patterns of SDS-PAGE. A partially purified PDE3 activity was increased by addition of MAPK or Akt to the reaction mixture, suggesting that MAPK as well as Akt acts upstream of PDE3. The activation of PDE3 by insulin was independent of a transient increase in the MAPK activity, probably due to the dephosphorylated inactivation mediated by the induced activation of MAPK phosphatases (MKPs). Vanadate did not affect the MKP activity. These results indicate that vanadate stimulates the particulate PDE3 activity by activating mainly p44 MAPK via a PKA-dependent process, and that it differs from insulin with regard to a phosphorylation cascade of PDE3 activation.

抄録 オルトバナデート（バナデート）はラット肝細胞の顆粒画分中のホスホジエステラーゼ 3(PDE3)をインスリンと同様に活性化させた。バナデートによって活性化された PDE3 および MAP キナーゼ(MAPK)が、H-89 および PD98059 によって阻害されたことから、PKA および MAPK キナーゼを介する MAPK の活性化がバナデートの作用発現に含まれることが示唆された。これに対しインスリンによって活性化された PDE3 および Akt は、wortmannin によって阻害されたことから、PI3 キナーゼを介することが示唆された。また、バナデートによる PKA と PDE3 の活性化作用は、propranolol または genistein によって阻害されるので、beta- アドレナリン受容体およびチロシンキナーゼ受容体の両方から刺激が入っているものと思われる。バナデートは MAPK(p44) のリン酸化を促進した。部分精製した PDE3 画分の活性は、MAPK または Akt を加えることで活性化されることから、Akt と同様に MAPK が PDE3 の上流に位置することが示唆された。インスリンによる PDE3 の活性化は一過性の MAPK の活性化に非依存적であり、これはおそらく MAPK ホスファターゼ(MKPs)による脱リン酸化で失活するためと考えられる。バナデートはこの MKPs 活性には影響を与えなかった。これらの結果は、バナデートによる顆粒画分中の PDE3 の活性化機構が、インスリンの活性化機構とは異なるリン酸化経路、すなわち PKA を介した p44 MAPK の活性化によることを示している。