

氏 名	あし たか え み こ 芦 高 恵 美 子
学位(専攻分野)	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	乙 第 21 号
学位授与の日付	平成 6 年 7 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	プロスタグランジン D ₂ の情報伝達機構に関する研究
審 査 委 員	(主査) 教 授 宗 川 吉 汪 教 授 清 原 壽 一 教 授 村 上 章

論 文 内 容 の 要 旨

プロスタグランジン (PG) はホルモンや神経伝達物質など種々の刺激に伴い細胞膜から切りだされたアラキドン酸から産生される一群の生理活性物質である。その一つである PGD₂ は、特異的な受容体を介して血小板凝集抑制、気管支収縮、睡眠、痛覚、体温など、多彩な生理活性および中枢作用を有すると考えられている。しかしながら、その受容体含量が非常に少ないことから、他の PG に比べて PGD₂ の研究は大きく立ち遅れている。本論文は PGD₂ に特異的に反応する培養細胞系を確立して、PGD₂ 受容体を介する情報伝達機構を検討したもので、本文は 4 章から構成されている。

第 1 章 プロスタグランジン D₂ の特異的な受容体を介した cAMP 産生機構

ウシ副腎髄質初代培養中の非クロマフィン細胞とウシ胎児気管由来の株細胞 EBTr が PGD₂ に特異的に反応して細胞内 cyclic AMP (cAMP) レベルを刺激前の 200 倍に上昇させた。また、これらの細胞においてヒト血小板 PGD₂ 受容体で解析された PG の誘導体 ZK110841 と BW245C が PGD₂ アゴニスト活性、AH6809 と BWA868C が PGD₂ アンタゴニスト活性を有していた。このように非クロマフィン細胞および EBTr 細胞が PGD₂ に特異的に反応する培養細胞モデル系になることが明らかとなった。

第 2 章 プロスタグランジン D₂ による Ca²⁺ 上昇機構

PGD₂ アゴニストおよびアンタゴニストを用いて、PGD₂ が PGD₂ 受容体を介して細胞内 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) の上昇を引き起こすことを非クロマフィン細胞において証明した。それはアデニレートシクラーゼを直接活性化するフォルスコリンでも見られること、PGD₂ とフォルスコリンの連続添加により相加的な上昇が見られないこと、cAMP の上昇が [Ca²⁺]_i の上昇よりも先行すること、イノシトール-1, 4, 5-三リン酸 (IP₃) を産出しないことから、cAMP を介するものであることが判明した。さらに、PGD₂ による [Ca²⁺]_i 上昇の大部分は電位依存性の Ca チャンネルとは別の機構による細胞外からの Ca²⁺ 流入であり、一部分がブラジキニンと共通の IP₃ 感受性の細胞内 Ca²⁺ ストアからの遊離によるものであった。

第 3 章 プロスタグランジン D₂ のプロスタグランジン F_{2α} 受容体を介した情報伝達機構

PGD₂ はマウス Swiss 3T3 細胞において、PGD₂ 受容体以外の PGF_{2α} / PGD₂ 受容体を介して、イノシトールリン脂質代謝亢進を促すことが明らかとなった。また、PGD₂ のアゴニストおよびアンタゴニストを用いることにより、PGD₂ のアデニレートシクラーゼ / cAMP 系へのカップルとイノシトールリン脂質代謝 / Ca 動員系へのカップルを区別することができた。

第 4 章 プロスタグランジン D₂ による細胞増殖抑制作用

PGD₂ の DNA 合成および細胞増殖に及ぼす影響を 24 時間血清を除去して静止 (G₀ / G₁) 期にした EBTr 細胞を用いて検討した。PGD₂ は血清再添加により誘導される DNA 合成を 21 時間で 30~40% 抑制した。PGD₂ による DNA 合成抑制は血清再添加後 2~4 時間目に添加したときが最も強く、また最初の

4時間の処理で最大効果が見られた。PGD₂がDNA合成だけでなく細胞増殖と*c-myc* mRNAの発現も抑制した。PGD₂によるcAMPレベルの上昇、DNA合成抑制および*c-myc*の発現抑制が同一のPGD₂に対する濃度依存性を示し10 nMという低い濃度で見られた。また、DNA合成抑制はフォルスコリンによっても見られ、ホスホジエステラーゼの阻害剤により増強された。これらの事実はPGD₂の抑制作用がcAMPを介していることを示唆している。これまでPGD₂の細胞増殖抑制効果はその脱水物である Δ^{12} -PGJ₂と考えられてきたが、確立した培養細胞系で Δ^{12} -PGJ₂は10 μ MでDNA合成を完全に抑制したが、1 μ MではcAMPレベルをわずかに上昇させるのみで、DNA合成抑制および*c-myc*の発現には影響を与えなかった。

本論文において、PGD₂の情報伝達機構の解析が培養細胞系を用いて初めてなされた。本論文で明らかにしたPGD₂の情報伝達様式は、様々の組織で生産され多彩な生物活性を示すPGD₂の作用機構の解明に寄与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

プロスタグランジン D₂ (PGD₂) の作用に関する研究の多くは、従来、血小板を用いてなされてきたが、本論文の研究において初めて培養細胞系が導入され、PGD₂による情報伝達機構をより詳細に解析することができるようになった。すなわち、ウシ副腎髄質初代培養中の非クロマフィン細胞ならびにウシ胎児気管由来の株化細胞EBTrに、ヒト血小板と同じタイプのPGD₂受容体が存在することが見いだされた。この系を用いてPGD₂による情報伝達機構が詳細に解析された。

(1) PGD₂の結合によって、GTP結合タンパクGsを介するアデニレートシクラーゼ系が活性化され、細胞内cAMP濃度が上昇する。上昇したcAMPは、従来からよく知られている電位依存性のCaチャンネルとは別の機構で細胞外からCaイオンを流入させる。

(2) PGD₂は、PGD₂受容体以外のPGF_{2 α} /PGD₂受容体を介してイノシトールリン脂質代謝を亢進する。

(3) PGD₂によって上昇したcAMPは*c-myc* mRNAの発現を抑制し、細胞増殖を抑制する。

これらの研究成果はプロスタグランジンの研究に関して多くの新しい知見を含むと同時に、細胞の普遍的な情報伝達機構の解明に寄与するものと評価された。論文は慎重かつ丁寧に作成されており、論旨は極めて明解であった。