OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	血管平滑筋細胞質内遊離カルシウム濃度に及ぼすプロスタグランディンの影響
Author(s)	福尾, 恵介
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35599
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【67】

氏名・(本籍)	福尾(ふくお)　恵介(けいすけ)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第7582号
学位授与の日付	昭和62年3月12日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	血管平滑筋細胞質内遊離カルシウム濃度に及ぼすプロスタグランディンの影響
論文審査委員	(主査) 教授 熊原 雄一 (副査) 教授 多田 道彦　教授 吉田 博

論文内容の要旨

［目　的］

プロスタグランディン（ＰＧ）はさまざまな刺激によって血小板や血管壁より産生されることから局所における正常な血流の維持機構に重要な役割を果たしていると考えられているが，病的な状態，特に血管のスパスムスの病態にもＰＧが深く関与していると考えられている。しかしながら，ＰＧの血管平滑筋に対する作用機構，特に細胞内情報伝達機構に関してはほとんど明らかではない。そこで，血管平滑筋培養細胞を用いてＰＧ添加後の細胞質内遊離カルシウム濃度（$[Ca^{2+}]i$）の変化をfluorescent Ca^{2+} indicator fura 2を用いて測定し，ＰＧの血管平滑筋細胞に対する作用機構に検討を加えた。

［方　法］

1. 細胞培養

血管平滑筋細胞は雌性Wistarラットの大動脈平滑筋よりexplant法にて単離し，10%ウシ胎仔血清を含むＤＭＥＭ培地にて37℃，５％CO_2気相下で培養した。

2. $[Ca^{2+}]i$の測定

細胞がconfluentに達した後，24時間血清不含ＤＭＥＭ培地にて培養後，細胞をＥＤＴＡを含むトリプシン溶液にて剥がし，4 μMのfura 2 ＡＭを含む測定用緩衝液に細胞を浮遊させ50分間37℃でインキュベートした後，37℃で細胞を常にスタラーで攪拌させながら分光蛍光光度計を用いて測定した。

［成　績］

1. 血管平滑筋細胞におけるＰＧによる細胞質内遊離カルシウムの動員機構

強力な血管収縮作用をもつＰＧ$F_{2\alpha}$を作用させると血管平滑筋細胞の$[Ca^{2+}]i$は急速にphasicか

つそれにつづくtonicな2相性の上昇を示し，しかもその上昇は濃度依存的に認められた。又，緩衝液からCa^{2+}を除き，さらに2mM ＥＧＴＡを添加することにより細胞外Ca^{2+}を除いた条件下でも$[Ca^{2+}]$ｉのphasicな上昇が濃度依存的に認められたが，この時tonicな上昇は認められなかった。細胞外Ca^{2+}を除いた条件下では細胞外から細胞内へのCa^{2+}influxは生じないので，この条件下でのphasicな上昇は細胞内Ca^{2+}storeからのCa^{2+}の遊離によって生じ，tonicな上昇は細胞外から細胞内へのCa^{2+}influxによって生じた可能性がある。すなわち，血管平滑筋細胞におけるＰＧによる$[Ca^{2+}]$ｉ上昇のメカニズムとして細胞内Ca^{2+}storeからのCa^{2+}の遊離と細胞外から細胞内へのCa^{2+}influxの2機構が関与している可能性がある。

2. 血管平滑筋細胞におけるＰＧによる細胞質内遊離カルシウムの動員とレセプターとの関係

細胞外Ca^{2+}を除いた条件下で1.4×10^{-5}MのＰＧＦ$_{2\alpha}$添加から5分後に再び同じ濃度のＰＧＦ$_{2\alpha}$を添加しても$[Ca^{2+}]$ｉの再上昇は認められなかった。しかし，このさらに5分後に強力な血管収縮物質であるAngiotensin Ⅱを作用させると$[Ca^{2+}]$ｉの再上昇が認められた。又，1回目に添加するＰＧＦ$_{2\alpha}$の濃度を1.4×10^{-7}Mに低下させると，2回目の1.4×10^{-5}MのＰＧＦ$_{2\alpha}$の添加により$[Ca^{2+}]$ｉの再上昇が認められた。すなわち，2回目の添加による$[Ca^{2+}]$ｉの再上昇が1回目に添加するＰＧＦ$_{2\alpha}$の濃度に依存的に抑制された。このことはＰＧによる$[Ca^{2+}]$ｉの上昇がreceptorのdown rgulationをうける可能性を示した。さらに，強力な血管収縮作用をもつＰＧであるトロボキサンＡ$_2$（ＴＸＡ$_2$）のanalogue，ＳＴＡ$_2$も$[Ca^{2+}]$ｉを著明に上昇させたが，この上昇がＴＸＡ$_2$のreceptorレベルでの拮抗物質である13 aza-prostanoic acidの前処置によって著明に抑制された。以上の結果より，ＰＧによる$[Ca^{2+}]$ｉの上昇はその特異的なreceptorを介して生じる可能性が示された。

［総　括］

血管平滑筋細胞において，強力な血管収縮作用を示すＰＧＦ$_{2\alpha}$は$[Ca^{2+}]$ｉを著明に上昇させたが，その$[Ca^{2+}]$ｉ上昇のメカニズムとして細胞内Ca^{2+}storeからのCa^{2+}の遊離と細胞外から細胞内へのCa^{2+}influxの2機構が関与している可能性がある。又，ＰＧによる$[Ca^{2+}]$ｉの上昇は，その特異的なreceptorを介して生じる可能性がある。

論文の審査結果の要旨

プロスタグランディン（ＰＧ）は血管のスパスムスの病態に深く関与していると思われるが，本研究はfluorescent Ca^{2+}indicator fura 2を用いて，血管平滑筋細胞におけるＰＧ作用後の細胞質内遊離カルシウム濃度（$[Ca^{2+}]$ｉ）の変化を初めて直接測定し，ＰＧによる$[Ca^{2+}]$ｉの上昇の機序を明らかにしたものである。

以上の研究は血管の収縮調節機構の分子レベルでの解析に新たな知見を提供するものであり，今後血管の生理的あるいは病的な収縮機構の解明に貢献するものと判断できる。従って，本論文は学位論文として価値あるものと考える。