

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	
Issue Date	
oaire:version	
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	福	尾	恵	介
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、特に血管のスパズムスの病態にも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°C、5%CO₂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°Cでインキュベートした後、37°Cで細胞を常にスター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PGF_{2α}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 2 mM 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 添加から 5 分後に再び同じ濃度の $\text{PGF}_{2\alpha}$ を添加しても $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の再上昇が認められた。又、1 回目に添加する $\text{PGF}_{2\alpha}$ 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 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の添加により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の再上昇が認められた。すなわち、2 回目の添加による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の再上昇が 1 回目に添加する $\text{PGF}_{2\alpha}$ の濃度に依存的に抑制された。このことは PG による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇が receptor の down regulation 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 $\text{PGF}_{2\alpha}$ は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を著明に上昇させたが、その $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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

プロスタグランジン (PG) は血管のスパズ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 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の変化を初めて直接測定し、PG による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 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する。