The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	肥満細胞からのhistamine遊離機序の解析
Author(s)	見尾, 光庸
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/35692
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【14】

氏名・(本籍)	見尾光庸（みおみつのぶ）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 8037 号
学位授与の日付	昭和63年3月17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	**肥満細胞からのhistamine遊離機序の解析**
論文審査委員	(主査) 教授 岩田平太郎 (副査) 教授 近藤雅臣　教授 三浦喜温　教授 佐々木喜男

論文内容の要旨

肥満細胞からのhistamine遊離反応においては，抗原抗体反応やhistamine遊離物質により刺激情報を細胞表面で認識することが，反応開始の第一段階である。これに続いて，細胞膜を介した情報伝達が生じる。細胞内でsecond messengerとして作用するのは，Ca^{2+}であると考えられており，細胞骨格やcalmodulinなどのCa^{2+}に依存した細胞機能調節因子を活性化し，最終的にhistamine遊離が惹起されると考えられている。しかし，その詳細な機構や抗アレルギー薬のhistamine遊離抑制機序については，不明な部分が多い。肥満細胞からのhistamine遊離とその抑制機序を解明する事を目的として本研究を開始した。

Histamine遊離の際に生じる肥満細胞の形態変化を電子顕微鏡により検討したところ，多くの顆粒が腫大し顆粒が細胞膜表面へと突出しているのが観察された。細胞膜の膜内粒子は隆起した顆粒を取り囲むように側方移動しており，細胞膜表面の抗原抗体結合物も腫大した顆粒を取り囲むようにその周辺に分布していることが判明した。細胞膜流動性の測定により，この様な形態変化と一致して，肥満細胞膜リン脂質二重層の流動性が亢進していることが明かとなった。これらの所見より，肥満細胞からのhistamine遊離には，細胞膜リン脂質二重層の流動性が著しく亢進することが明かになった。

人工的なモデル膜に抗原抗体反応を起こさせたり，histamine遊離物質であるcompound 48／80（48／80）を作用させると，black lipid membrane（ＢＬＭ）の電気抵抗が減少することを認めた。また，histamine含有liposomeに抗原抗体反応を惹起させたり，48／80を作用させると，速やかにhistamineが遊離された。更に，抗原抗体反応あるいは48／80により，モデル膜リン脂質二重層の流動性が亢進することも判明した。これらの知見より，肥満細胞にhistamine遊離物質を作用させた際には，細胞膜リン

脂質二重層の流動性及び膜透過性が亢進することが明かとなった。

Histamine遊離の際に観察される肥満細胞の流動性上昇が，細胞膜におけるphosphatidylethanolamine（ＰＥ）のメチル化反応により誘発されるという仮説の当否を検討するため，phosphatidylcholine（ＰＣ）及びＰＥ liposomeの膜流動性と相転移に及ぼすＮ－methyl ＰＥ（ＭＰＥ）添加の影響を調べた。ＭＰＥの混在は，dipalmitoyl ＰＣ（ＤＰＰＣ）liposomeの膜流動性を低下させた。dipalmitoyl ＰＥ liposomeの膜流動性は，ＭＰＥを混在させても殆ど影響されなかった。ＤＰＰＣにＭＰＥを添加したliposomeの相図より，両者が均一な固溶体を形成している事が判明した。これらの所見は，ＰＥのＮ－methyl化が細胞膜リン脂質二重層の膜流動性を，むしろ低下させている事を示唆している。

ラット腹腔肥満細胞に対するlysophosphatatidylcholine（lyso－ＰＣ）の影響を，histamine遊離及び^{45}Ca uptakeについて検討したところ，4 μM以下のlyso－ＰＣは，48／80によって惹起される肥満細胞からのhistamine遊離及び^{45}Ca uptakeを濃度依存的に抑制した。同じ濃度範囲で，lyso－ＰＣはcarboxyfluorescein（ＣＦ）含有liposomeからの48／80によるＣＦ遊離を抑制し，ＤＰＰＣ liposomeの液晶状態の膜流動性を低下させた。この結果，lyso－ＰＣは4 μM以下の濃度においては，リン脂質二重膜に対して膜安定化効果を発揮し，肥満細胞のCa^{2+} uptake及びhistamine遊離を抑制することが明らかになった。8 μM以上の濃度では，lyso－ＰＣは細胞膜を障害し，肥満細胞からhistamineやlactate dehydrogenaseを遊離させた。これらの知見は，lyso－ＰＣが生理的な濃度範囲では，むしろ内存在の細胞膜安定化物質である可能性を示している。

肥満細胞からのhistamine遊離を抑制する抗アレルギー薬のＤＰＰＣ liposomeに対する作用を，示差走査熱量分析法と，膜流動性の測定により検討した。抗アレルギー薬の多くは，ＤＰＰＣの相転移温度を低下させ，相転移幅を拡大した。この知見は，これら抗アレルギー薬の細胞膜リン脂質二重層に対する分配の高さを反映しており，肥満細胞膜の情報伝達に関与する協同性の高いclusterの大きさが，抗アレルギー薬の存在下に減少し，リン脂質二重層における情報伝達が抑制される事を示唆している。また，抗アレルギー薬の多くは，ＤＰＰＣ liposomeの液晶相における流動性を低下させ，細胞膜リン脂質二重層を安定化する効果を持つことが明らかとなった。

肥満細胞内Ca^{2+}の分布とその変化をmicrofluorometryと画像処理によって解析した。Ca^{2+}・感受性蛍光色素があるquin 2を取り込ませたラット腹腔肥満細胞にCa－freeの媒液中で48／80あるいはsubstance Ｐを作用させたところ，肥満細胞内quin 2の蛍光は著しく増大し，細胞内Ca storeからCa^{2+}が遊離していることが示された。対照細胞内のCa^{2+}濃度は，核及び顆粒で低く，顆粒間隙の細胞質に分布していたが，histamine遊離条件下に細胞全体のCa^{2+} levelが上昇した。theophylline, dibutyryl cAMP, terfenadine, oxatomide, disodium cromoglycateといった抗アレルギー薬の作用下に，細胞内Ca storeからのCa^{2+}遊離は抑制された。同様の効果はCa antagonistを作用させた際にも観察されたが，遙かに高い濃度を必要とした。

本研究における肥満細胞の刺激応答機構の解析から，肥満細胞からのhistamine遊離反応においては，細胞膜リン脂質二重層のperturbationが生じて細胞膜の流動性及び膜透過性が亢進する事，これに続いて細胞内Ca storeからのCa^{2+}の遊離や細胞外Caの流入を生じ，histamine遊離反応を抑制することが

明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

本論文は肥満細胞からのhistamine遊離反応における細胞膜リン脂質二重層，細胞内カルシウムイオンの動態を解析し，遊離反応にたいする抗histamine等の作用機序についても検討を加えたもので，薬学博士の学位を授与するに値するものである。