The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	グリア細胞プロスタノイド受容体の構造と機能調節に関する分子薬理学的研究
Author(s)	北中, 純一
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3100625
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【3】

氏　　名	北　中　純　一（きた　なか　じゅん　いち）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　11841　号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学　位　論　文　名	**グリア細胞プロスタノイド受容体の構造と機能調節に関する分子薬理学的研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　馬場　明道 （副査） 教　授　真弓　忠範　　教　授　前田　正知　　教　授　溝口　　正

論文内容の要旨

プロスタノイドは，アラキドン酸カスケード系代謝産物のうちプロスタグランジンエンドペルオキシド合成酵素を介して生合成されるトロンボキサン類（TX）およびプロスタグランジン類（PG）の総称である。これら一群の化合物は，すべての生体組織において生合成され，速やかにその生理作用を発揮する点において一種のオータコイドと考えられる。それらの作用は，炎症，平滑筋収縮および弛緩，血小板凝固などの末梢組織における反応から，神経機能調節まで多岐にわたって報告されている。これら反応の作用機作として，それぞれのプロスタノイドに特異的な受容体の存在が薬理学的に示唆されてきた。1991年にプロスタノイドの受容体としてヒトTXA 2受容体がはじめてクローニングされ，その分子としての実体が明らかにされた。その後のマウスにおけるプロスタノイド受容体クローニングにより，プロスタノイド受容体の薬理学的分類の正しさが確認された。プロスタノイド作用の末梢組織における研究に比べると，中枢神経系における研究は立ち遅れている。これは適切な実験系が少ないこと，およびプロスタノイドの標的細胞が不明であったことによる。最近，中枢神経系を構成する細胞のうちグリア細胞特にアストロサイトがプロスタノイドの標的細胞の一つであることが報告され，その意義について論じ始められた。

本研究では，中枢神経系プロスタノイド受容体の分子構造とその調節機構を明らかにすることを目的として，まず培養ラットアストロサイト（タイプ1）cDNAライブラリーからプロスタノイド受容体cDNAのクローニングを行った。陽性クローンを解析した結果，3種類のプロスタノイド受容体cDNA（EP 3，FP，およびTP）を得た。EP 3受容体に関しては，C末端のアミノ酸配列のみが異なる2つのアイソフォーム（EP 3 βおよびEP 3 γ）が得られた。この成績は，ラットアストロサイトに少なくとも2種類のEP 3受容体アイソフォームが発現していることを示している。またいずれのクローンのコードする受容体も，末梢組織由来のcDNAクローンの成績と比較して推定アミノ酸配列で90%以上の相同性を示し，中枢性プロスタノイド受容体は末梢組織のものと同一であると考えられた。

次にcDNAの解析情報をもとにreverse transcriptase-polymerase chain reaction法により，各種グリア細胞におけるプロスタノイド受容体メッセンジャーRNA（mRNA）の発現分布と発現量の変化について検討し，末梢組織のそれと比較した。まずEP 3受容体mRNAはC 6グリオーマ細胞以外でその発現が認められた。発現量は，アストロサイト，オリゴデンドロサイト，およびミクログリアで腎臓の約40%であった。また特に副腎髄質褐色細胞由来のPC12細胞では腎臓と同程度のEP 3受容体mRNAの発現が認められた。FP受容体mRNAの発現は，グリア細胞ではアストロサイトおよびオリゴデンドロサイトでのみ認められ，ミクログリアには発現していなかった。TP受容体

mRNA は調べた 3 種類のプロスタノイド受容体 mRNA のなかで最も普遍的に存在しており，その発現量も培養細胞と腎臓では同程度であった。アストロサイトは細胞内 cyclic AMP の濃度上昇やホルボールエステル処置により形態分化する。この形態分化は PGF 2 α による情報伝達活性の増強をともなうことを見い出した。そこで，アストロサイトの形態分化にともなう各プロスタノイド受容体 mRNA 量の変化について検討を行ったところ，FP 受容体 mRNA 量のみ 2 ～ 5 倍に増加した。以上のように 3 種類のプロスタノイド受容体 mRNA は細胞種によりその発現パターンが異なっており，また形態分化により特定のプロスタノイド受容体 mRNA 量が反応したことから，各々のプロスタノイドがグリア細胞に対して特異的な作用を有することが推察された。

さらにプロスタノイド受容体蛋白質の発現に関わる調節機構と，発現後の情報伝達系活性化における調節機構について薬理学的に検討した。N-結合型糖鎖付加過程のうち，リボソームでの蛋白質合成中に糖鎖付加コンセンサス配列（Asn-X-Ser／Thr）にオリゴ糖を付加する過程を選択的に阻害する薬物ツニカマイシンは，濃度依存的に培養アストロサイトにおける PGF 2 α によるイノシトールリン脂質代謝回転を抑制した。さらにこの反応は可逆的であり，オリゴ糖が蛋白質に付加した後の糖鎖修飾過程を選択的に阻害する薬物によっては FP 受容体機能が抑制されなかった。アストロサイト FP 受容体の推定アミノ酸配列には 3 つの糖鎖付加部位が認められることから，そのうちのいくつかの部位が糖鎖付加を受けていることが推察されるが，以上の成績はこの推察を支持するものである。つぎにリガンドの前処置に対する FP 受容体の機能調節について検討を行った。培養アストロサイトを PGF 2 α で前処置すると濃度時間依存的に情報伝達系の活性低下が認められた。この活性低下は可逆的であり，FP 受容体に作用するリガンドに選択的に認められることから同種脱感作であると考えられる。反応性の低下が約40％であり，最大反応が 4 時間のリガンド前処置によって認められることは，速やかな脱感作が認められる他の神経伝達物質受容体とは機構が異なることを示唆している。アストロサイト FP 受容体の推定アミノ酸配列には第 1，第 2 細胞内ループおよび C 末端に合計 5 つの蛋白質リン酸化部位が認められるが，リガンド結合後に速やかにその脱感作が認められないことは，それらの部位が，受容体と GTP 結合蛋白質との共役が解かれておこる脱感作に関与していないことを示唆している。さらに，FP 受容体機能を薬理学的に検討するためアンタゴニストを検索したところ，フロレチンがプロスタノイド特異的にその情報伝達系活性を抑制することを見い出した。この化合物により FP 受容体の脱感作が抑制されたことから，その機構はリガンド結合後に作動するものであることが示された。

論文審査の結果の要旨

本論文は，中枢神経系の細胞に初めてプロスタグランジン（PG）F 2 α 受容体反応を見いだしたことから，その反応の見られた培養アストログリア細胞の cDNA のクローニングにより PG の FP 受容体，トロンボキサン（TX）受容体，PGE 2（EP 3）受容体のアミノ酸配列を決定した。更に，その mRNA の発現を種々の細胞系との比較を行いグリア細胞の種類により特定の PG 受容体が発現することも明らかにした。その他，これら受容体と神経系発育との関係なども明らかにしている。又，これら受容体のエフェクター系の解析も発現系，培養系ともに詳細に検討している。これらの研究は中枢神経系のPG受容体の総合的な検討としては世界で初めてのもので高い評価を受けている。

以上の研究は，大阪大学課程博士（薬学）に相当する優れたものであると認定した。