



Title	培養血管平滑筋細胞の細胞内情報伝達機構に関する研究
Author(s)	近藤, 隆雄
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39416">https://hdl.handle.net/11094/39416</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	近 藤 隆 雄
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 薬 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 6 0 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 2 月 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	培養血管平滑筋細胞の細胞内情報伝達機構に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 三 村 務 (副査) 教 授 眞 弓 忠 範    教 授 馬 場 明 道    教 授 溝 口 正

## 論 文 内 容 の 要 旨

血管組織は、主として、コラーゲンやエラスチンなどの構造蛋白質と、内皮細胞、平滑筋細胞、そして、繊維芽細胞などの細胞群によって構成されている。これらの血管構成細胞は、種々の刺激に応じて生理活性物質を産生し、また、血球細胞の接着や浸潤の場を提供して、種々の病態の形成に関与する。その一方で、治療薬剤の透過、あるいは、作用点としても重要である。近年、科学の進展に伴い病気の本質や薬剤の作用を細胞レベルで理解しようとする試みが盛んとなっているが、その前提として、これらの細胞の生理的機能を細胞内情報伝達の観点から解明する事は意義深い。

この様な背景から、血管平滑筋細胞を対象とした細胞内情報伝達機構の解明が、精力的に進められて来た。しかしながら、細部においては未だ不明の部分も多く残されており、一方、細胞増殖因子で刺激した場合の細胞内情報伝達については、余り明確にされていないのが現状である。本研究では、培養ラット血管平滑筋細胞を材料として、細胞内情報伝達機構に関する残された諸問題の解明を試みた。研究は内容的に3パートに分かれている。

最初の研究では、アンジオテンシンⅡ (Ang Ⅱ) 刺激細胞のジアシルグリセロール (DG) 生成に着目した。従来の DG 研究では、特定の放射性脂肪酸で標識した細胞をアゴニストで刺激して放射性 DG の生成を観察していたが、この場合、脂肪酸のリン脂質内分布が片寄るため限られた情報しか得られない。また、生成された DG の質に関する情報も得られない。そこで、本研究では、DGの二重結合数分析や二重標識法等の新しい手法を用い、DG の質的变化を含めた総合的な解析を行った。その結果、Ang Ⅱ刺激細胞で認められる二相性 DG の第二ピークは、ホスファチジルコリン (PC) に由来する事が確認され、ホスファチジルコリン特異的ホスホリパーゼ (PC-PLC) の関与が示唆された。過去において、PC-PLC は、細胞増殖活性を持つアゴニストの刺激時にのみ観察されて来たが、本研究の結果、細胞増殖活性を持たない Ang Ⅱの刺激でも活性化される事が新たに示唆された。また、第二ピークの DG は、ホスファチジルイノシトール4, 5-ビスホスフェート (PIP2) より生成される第一ピークの DG と比較して飽和度の高い脂肪酸側鎖を持つ事が確認された。現状として推定の域を越えないが、PC-PLC の作用により生成した飽和度の高い DG が P I代謝に組み込まれ、PI代謝を停止させる結果、レセプター刺激により惹起された初期の細胞内情報伝達の一部を遮断する可能性も有る。何れにせよ、新しい手法を用いる事により、第一ピークと第二ピークの DG の質的相違が明らか

となり、DG 研究の新たな一方向が示された。

血小板由来増殖因子 (PDGF) には、三種類のアイソフォーム、即ち、PDGF - AA, - AB, 及び - BB が存在する。これらのアイソフォームが生理的に同一であるか否かは議論の別れる所である。興味深い点であるが、血管平滑筋細胞は、PDGF - AB と - BB に対して同等の増殖反応を示すが、- AA には反応しない。一方、繊維芽細胞は三種類アイソフォームに対して同程度の増殖反応を示す。これらの事から、血管平滑筋細胞は、アイソフォーム間の相違を、特に、細胞内情報伝達の観点から検討する目的に適った実験材料と考えられた。第二の研究では、三種類の PDGF で惹起される細胞内情報伝達を総合的に比較して幾つかの相違点を発見し、それらの解析から、過去において知られていなかった新しい細胞内情報伝達系の存在を示唆した。従来、PDGF 刺激による細胞内情報伝達は、全て、蛋白質のチロシンリン酸化反応をトリガーとするカスケードと考えられて来たが、本研究の結果、レセプターを始めとする蛋白質のチロシンリン酸化反応は二分子のレセプターのダイメライゼーションを必要とするが、チャンネルを介した細胞外液からのカルシウム流入は、一分子の  $\beta$  レセプターを刺激するだけで十分に誘発される事が示唆された。つまり、従来より知られていた蛋白質のチロシンリン酸化反応に依存した細胞内情報伝達に加え、この反応に非異存性の全く新しい細胞内情報伝達機構の存在が示された。一分子のレセプターが、直接的、または、何らかの分子を介して間接的に一分子のカルシウムチャンネルカップリングしていると推定された。

第三の研究ではホスホリパーゼ D (PLD) に焦点を当てた。PLD は、リン脂質を分解してホスファチジン酸 (PA) とアルコールを生成する酵素であり、古くより植物や細菌で、その存在が知られていた。近年、本酵素が動物細胞にも存在する事が確認され、その生理的意義に関心が集まっている。細胞を増殖因子で刺激すると PLD が活性化される事、また、PA を細胞培養液に添加すると増殖が誘発される事等から、PLD の細胞増殖に於ける役割が推定されていたが、何れの場合も例外が多く見られ、統一した見解は得られていなかった。本研究では、血管平滑筋細胞の培養液に細菌由来の PLD を添加すると PDGF 刺激の場合と類似した DNA 合成が誘発される事、そして、過増殖を示す自然発症高血圧ラット由来の血管平滑筋細胞の PLD 活性が対照細胞のそれと比較して顕著に亢進している事を発見した。これらの結果は、PLD の生理的意義が、少ないとも一部は、細胞増殖にある事を新しい観点から示すものである。また、自然発症高血圧ラットの PLD 活性が亢進している事実は、本酵素と病態との関連を示唆するものである。

本研究は血管平滑筋細胞の細胞内情報伝達機構に関する幾つかの新知見を提供するものである。この分野に於ける研究の親展は目覚ましいものがあり、新しい技術や発想に基づく新発見や新理論の提案が相次いでいる。本研究の成果も微妙であるが、科学の進展に寄与出来るものと期待される。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は培養ラット血管平滑筋細胞を用いて細胞内情報伝達機構に関する研究を行ったもので以下の新知見を得ている。

- (1) Ang II 刺激細胞で認められる二相性ジアシルグリセロールの第二のピークの一部は、ホスファチジルコリンに由来していることが明かとなり、ホスファチジルコリン特異性のホスホリパーゼ C の活性化が示唆された。
- (2) 血小板由来増殖因子 (PDGF) には、三種類のアイソフォームすなわち PDGF - AA, - AB および - BB が存在するが、それらの細胞内情報伝達を比較した結果、細胞増殖にはカルシウムチャンネルを介した細胞外からのカルシウム流入が重要であることを明らかにした。
- (3) 血管平滑筋細胞の培養液にホスホリパーゼ D (PLD) を添加すると PDGF と類似した DNA 合成が誘発された。また、過増殖を起こしている自然発症高血圧ラットの平滑筋細胞では PLD が亢進していた。これらの結果から PLD は細胞増殖の情報伝達機構において重要な役割を果たしていると思われる。

以上のように本論文は細胞内情報伝達の研究に大きく寄与するものであり博士論文として充分価値あるものと認める。