

氏 名	しげりやすし 茂 里 康
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学位記番号	論 工 博 第 2787 号
学位授与の日付	平 成 5 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	受容体を介する neuropeptide Y (NPY) の作用機序に関する 研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 上原悌次郎 教 授 一瀬光之尉 教 授 齋藤 烈

論 文 内 容 の 要 旨

Neuropeptide (NPY) は代表的なペプチド神経伝達物質の一つであり、末梢神経では交換神経系に分布し、その系の主な神経伝達物質であるノルエピネフリンと共存し、ともに強い血管収縮作用を示す。この作用は、交換神経終末から放出された NPY が、平滑筋細胞上の受容体に結合することによって起こると言われている。従って NPY の受容体のアンタゴニストを見出すことは、新たな作用点を持つ高血圧治療薬の開発につながると期待される。このためにも、まず NPY 受容体の構造と、それを介する NPY の作用機構の解析が必要である。本論文は、血管収縮に関わる NPY の受容体と、それを介する情報伝達系について、平滑筋細胞および同種の受容体を持つ神経腫瘍細胞を用いて研究した結果をまとめたもので、緒論、5章および総合結論より成る。

第一章では、末梢タイプの受容体が発現しているブタ中枢平滑筋の膜画分を用いて受容体の解析を行い、陽イオン感受性、GTP アナログ感受性、NPY アナログの親和力、NPY の C 末端フラグメントの親和力などがブタ海馬膜画分の中枢タイプの受容体とは異なることを初めて明らかにしている。NPY の C 末端フラグメントの親和力から、平滑筋の NPY 受容体は、いわゆる Y1 受容体と呼ばれるものと性質が一致することがわかった。

第二章では、Y1 受容体を介する情報伝達系に関する研究結果を示している。一般に平滑筋の収縮には細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が前提となるので細胞内 Ca^{2+} 濃度に及ぼす NPY の効果を調べた。その結果、NPY は細胞内のプールから Ca^{2+} を動員して一過性に Ca^{2+} 濃度の上昇をもたらすことがわかった。しかし、この場合は、一般に Ca^{2+} の内部動員を起こすと言われているイノシトール 1,4,5三リン酸の細胞内濃度の上昇は見られなかった。つまり NPY は新しい未知の機構によって細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させることが示唆された。またこの作用は、細胞を百日咳毒素で処理すると消失するので、NPY の受容体はこの毒素に感受性の GTP 結合蛋白質にリンクしていることが示された。

第三章では、培養ブタ平滑筋細胞における NPY 受容体の結合部位と NPY による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を解析した結果を述べている。すなわち、NPY アナログを用いて、この細胞には機能的な NPY の結

合部位が存在し、それが Y1 タイプであり、その活性化によって実際に細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が起こることを示している。

第四章では、NPY の Y1 受容体にリンクした GTP 結合蛋白質について述べている。ホルボールエステルが NPY の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇作用を阻害することを見出し、その作用点は GTP 結合蛋白質であることを示している。Y1 受容体を介する情報伝達系としては、ここで初めて見出された Ca^{2+} 動員系のほかに、cAMP 産生阻害を起こす系が知られている。ホルボールエステルはこの系にも作用するが、 Ca^{2+} 動員系の方が感受性が高く、また百日咳毒素に対する感受性も Ca^{2+} 系の方が強いことがわかった。従って、Y1 受容体には少なくとも二つの異なる GTP 結合蛋白質がリンクしていることが示唆された。

第五章では、平滑筋細胞に対する NPY の増殖作用が述べられている。交感神経に高頻度、連続的な刺激、すなわちストレスを与えると NPY が持続的、漸増的に放出される。従って NPY は動脈硬化に関わっていると考えられる。一方、動脈硬化の引き金は血管の平滑筋細胞の血管中膜への遊走と増殖であると言われている。そこで、平滑筋細胞に対する NPY の増殖効果を調べた。NPY は単独では DNA 合成に影響しなかったが、細胞周期の G_0/G_1 移行を進めるインシュリンが共存すると DNA 合成を促進した。つまり、NPY は G_0/G_1 移行のコンピーテンス因子であることが示唆された。この NPY の作用にも Y1 受容体と GTP 結合蛋白質が介在することがわかった。

総合結論では、本論文の概要を述べ、特に NPY が Y1 受容体を介して末梢の血管活動を多彩に調節することから、Y1 受容体のアンタゴニストは新しい作用機構を持つ高血圧と動脈硬化の治療薬となる可能性が高く、本研究の成果はその基礎となることを強調している。

論文審査の結果の要旨

Neuropeptide (NPY) は代表的なペプチド神経伝達物質の一つであり、その構造、分布や生理作用については広く研究されているが、作用機構、特に受容体と、それにつながる情報伝達系に関する研究は少ない。本論文は、血管収縮に関わる末梢神経タイプの受容体と情報伝達系について、主に平滑筋細胞を用いて研究した結果をまとめたもので、主な成果は次のとおりである。

1. ブタ血管平滑筋の中膜画分で末梢タイプの受容体を解析し、陽イオン感受性、GTP アナログ感受性、NPY アナログの親和力、NPY C 末端の親和力などから中枢タイプ受容体とは異なることを初めて明らかにした。また、C 末フラグメントの親和性から、Y1 タイプ受容体であることを示した。

2. Y1 受容体を介する情報伝達系を調べ、NPY は新しい機構で細胞内プールから Ca^{2+} を動員して一過性に細胞内 Ca^{2+} 濃度を上げることを見出した。この NPY の作用は百日咳毒素で阻害されたので、受容体にはこの毒素に感受性の G 蛋白質がリンクしていることが示された。

3. ブタ平滑筋の培養細胞で NPY アナログを用い、この細胞には Y1 タイプの機能的な NPY 結合部位があり、その活性化によって実際に細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が起こることを示した。

4. ホルボールエステルが NPY による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を阻害し、その作用点は G 蛋白質であることが示された。NPY の Ca^{2+} 動員効果は既知の cAMP 産生阻害作用よりもホルボールエステルや百日咳毒素に感受性が高く、従って Y1 受容体に少なくとも二つの異なる G 蛋白質の関与が示唆された。

5. NPY を細胞周期で G₁/S の移行を進めるインシュリンと共に平滑筋細胞に与えると DNA 合成が促進された。従って、NPY はこの細胞の増殖を促進して動脈硬化の引き金となる可能性が示された。

以上、本論文は、血管細胞で NPY の受容体と情報伝達系の存在と性質を明らかにし、動脈硬化の治療にもつながる内容を含んでおり、博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 5 年 10 月 19 日、論文とそれに関連する事項について試問を行い、合格と認めた。