

氏 名	もり 森 千よし 潔
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1837 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Gene expression of the human prostaglandin E receptor EP ₄ subtype : differential regulation in monocytoid and lymphoid lineage cells by phorbol ester. (ヒトのプロスタグランジン E 受容体 EP ₄ サブタイプの遺伝子発現に関する研究 : ホルボールエステルによる単球系及びリンパ球系細胞における異なる遺伝子発現調節)

論文調査委員	(主 査) 教 授 大 熊 稔 教 授 伊 藤 和 彦 教 授 中 尾 一 和
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

プロスタグランジン(PG)E₂は多彩な作用を有し、免疫系においては細胞内 cAMP の上昇を介して、マクロファージ、T 細胞、B 細胞等の機能調節に関与している。PGE 受容体には、リガンド結合特性及び細胞内シグナル伝達経路の異なる少なくとも 4 種類のサブタイプ (EP₁, EP₂, EP₃, EP₄) が存在するが、免疫系における PGE₂ の作用がいずれの受容体サブタイプを介するかは不明であった。このうち EP₄ 受容体はアデニル酸シクラーゼと会合し、免疫系細胞において機能している PGE 受容体サブタイプの有力候補であった。本研究では、免疫系細胞における EP₄ 受容体の生理的、病態生理的意義を解明するために、ヒトの EP₄ 受容体をクローニングし、免疫系細胞における遺伝子発現を検討した。更に単球系細胞を用いて、免疫系細胞の活性化作用を有するホルボールエステル (PMA) による PGE 受容体サブタイプの発現調節を解析した。

1) ヒトの EP₄ 受容体の構造決定及び機能解析

ヒトの肺 cDNA ライブラリーから、クロスハイブリダイゼーション法により EP₄ 受容体 cDNA をクローニングした。その結果、ヒトの EP₄ 受容体は 488 アミノ酸からなる 7 回膜貫通型の G 蛋白共役型受容体であることが明らかとなった。COS-7 細胞にこの cDNA を発現させ、PGE₁, E₂ あるいは PGE 受容体サブタイプに特異的なリガンドを用いて行った結合実験の成績は、既報の薬理学的検討とよく一致した。また、この細胞において PGE₂ の添加により濃度依存性に細胞内 cAMP 濃度の上昇が認められた。

2) 免疫系細胞における EP₄ 受容体遺伝子の発現及び調節

ノーザンブロット解析により、EP₄ 受容体遺伝子はヒトの末梢血単核球に多量に発現していることが明らかとなった。培養細胞株では単球系の THP-1 と U937 細胞、T 細胞系の MOLT-4 と Jurkat 細胞、B 細胞系の Raji 細胞のすべてにおいて遺伝子発現が認められた。更に PMA 添加により、THP-1, U937,

Raji 細胞では遺伝子発現が増大するにもかかわらず、MOLT-4, Jurkat 細胞では発現が減少し、EP₄ 受容体遺伝子の発現調節は種々の免疫系細胞において異なることが明らかとなった。

3) PMA による単球系細胞における PGE 受容体の発現調節

THP-1 細胞は PMA 添加により単球様細胞からマクロファージ様細胞に分化することが知られており、この過程における PGE 受容体サブタイプの発現調節を解析した。PMA 添加により、EP₄ 受容体遺伝子発現と PGE₂ 結合部位の増加が認められ、PGE₂ による細胞内 cAMP 上昇も著しく増強した。一方、他の PGE 受容体サブタイプ (EP₁, EP₂, EP₃) の遺伝子発現及び PGD₂, PGI₂ 受容体を介するシグナル伝達には変化が認められなかった。以上より、受容体数の増加は EP₄ 受容体に特異的であることが明らかとなった。PMA により分化誘導された THP-1 細胞では PGE₂ 産生が増加することが報告されていることから、PGE₂ のオートクリン、パラクリン作用の増強が推測され、単球系細胞の分化における PGE₂/EP₄ 受容体系の意義が示唆された。

本研究により、ヒトの EP₄ 受容体の構造が明らかとなり、ヒトの EP₄ 受容体遺伝子が種々の免疫系細胞において異なる発現調節を受けることが明らかとなった。更に PMA 添加により THP-1 細胞では、PGE 受容体サブタイプのうちで、EP₄ 受容体の遺伝子発現と受容体数が選択的に増加することが初めて証明された。以上の成績は、免疫系における EP₄ 受容体の生理的、病態生理的意義の解明に重要な知見と考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究では、免疫系細胞におけるプロスタグランジン (PG)E₂ の意義を解明するために、ヒトの PGE 受容体 EP₄ サブタイプをクローニングし、免疫系細胞における遺伝子発現及び細胞活性化作用を有するホルボールエステル (PMA) による遺伝子発現調節を検討した。

ヒトの EP₄ 受容体は 488 アミノ酸からなる 7 回膜貫通型受容体であり、この受容体を発現させた細胞では PGE₂ 添加により細胞内 cAMP 濃度の上昇を認めた。

EP₄ 受容体遺伝子は、末梢血単核球及び単球系、T 細胞系、B 細胞系の培養細胞株に発現していた。PMA 添加により、単球系と B 細胞系株では EP₄ 受容体遺伝子の発現亢進を認めたが、T 細胞系株では逆に発現が減弱した。

単球系の THP-1 細胞では、PMA 添加により、EP₄ 受容体遺伝子の発現亢進に伴い、PGE₂ による細胞内 cAMP 上昇が増強したが、他の 3 種類の PGE 受容体サブタイプの遺伝子発現及び PGD₂, PGI₂ 受容体を介するシグナル伝達には変化が見られず、受容体の増加は EP₄ 受容体に特異的であった。

以上の研究は、免疫系における EP₄ 受容体の生理的、病態生理的意義の解明に貢献し、新たな臨床応用の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 9 年 1 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。