

氏 名	高 木 政 貴 たか き まさ き
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬 博 第 186 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	がん化肥満細胞の増殖と形質発現の調節機序に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教授 富田謙吉 教授 高木博司 教授 山科郁男

論 文 内 容 の 要 旨

細胞の増殖と形質発現の調節に関与している因子を検索し、その相関について考察をすることは、特殊な活性物質を産生分泌し、それに伴って特有な症状ないし症候群を呈するいわゆる機能腫瘍の機作の解明の一助となるものと考えらる。炎症、アナフィラキシー等の生体の防衛反応に関与する正常の肥満細胞にくらべてマウスのがん化肥満細胞 (Mastocytoma P-815) は、セロトニン、ヒスタミン、ヘパリンの産生能を低いながら保持しており、且つ異常な増殖能を示す特異な機能腫瘍の一つである。そこで本来浮遊型の培養細胞であるこの細胞の増殖と形質発現の体液性調節因子の検討を試み以下の成果を得た。

(I) 細胞分裂速度と機能発現の相関及び環状ヌクレオチドの役割

細胞分裂速度の異なるがん化肥満細胞のヒスタミン、セロトニン、ヘパリンの含量及び生成量を比較した結果、細胞分裂速度が遅くなるにつれてそれらの機能発現の示標の程度がより大きくなることが判明した。更に同調培養細胞法を用いて細胞周期と機能発現の関係を調べ、分裂後の第1間期(G₁期)からヘパリン生成、ついで両アミン合成が行われることを明らかにした。また分裂速度、及び機能発現の変化に伴い細胞内の環状 3', 5'-AMP(cAMP) 含量及びその生成酵素(アデニレート シクラーゼ) 活性が著しく変動すること、プロスタグランディン等で細胞の cAMP を増加させたり、cAMP の誘導体で cAMP 分解酵素で分解されない N⁶, O^{2'}-dibutyryl cAMP (Bt₂ cAMP) を培地に附加することによって細胞の分裂抑制と同時に著しいヒスタミン合成等の機能発現が亢進されることが認められた。更にヒスタミン生成増加は、Bt₂ cAMP によるヒスタチデン脱炭酸酵素活性誘導の増加によることも明らかにした。

従って、この細胞においては、cAMP が調節因子として作用しているものと推定される。

(II) cAMP と AMP, アデノシンの分裂抑制効果の比較

培地に加えた cAMP が細胞分裂を抑制する効果を検討した結果、培地の血清中に含まれる cAMP ホスホジエステラーゼにより生じた 5'-AMP あるいは、その代謝産物であるアデノシンを介しての効果であることを見出した。この結果は、胸腺細胞、線維芽細胞等のいくつかの例を除いて、多くの細胞が AMP, アデノシンによる影響をうけないこと、又最近、肥満細胞が胸腺組織由来であるとの報告があることから

注目すべき事実である。アデノシンと 5'-AMP 作用を比較検討した結果、5'-AMP は膜周辺のヌクレオチダーゼでアデノシンとなり膜透過をし、再びリン酸化されて DNA, RNA 合成を阻害することを明らかにした。阻害機作に関しても過剰の 5'-AMP あるいはアデノシンがピリミジン生合成のオロト酸からウリジル酸の生成過程を阻害し、ウリジンのプールを低下させることを明らかにした。

(Ⅲ) グルコサミンによる分裂阻害と ATP の役割

さらにウリジンのプールの低下と分裂阻害、機能発現との関連を明らかにするために、細胞内ウリジンプールをグルコサミン附加により低下させると、分裂阻害と共にヘパリン合成を始めとする本細胞の機能発現が促進された。N-アセチルグルコサミンには、この効果はなく、グルコサミンに特異的である。グルコサミンの細胞分裂抑制効果を検討した結果、前述の 5'-AMP, アデノシンとは異なりグルコサミンにより短時間に細胞内 ATP 含量が減少し、グルコースのとりこみ及び酸化代謝が阻害される一方、附加したグルコサミンの細胞内代謝は、グルコサミン-6-リン酸あるいは N-アセチルグルコサミン-6-リン酸への代謝で停止する。以上の事実はグルコサミンによる分裂阻害は、グルコサミン酸化による ATP の消失、ならびにグルコサミンによるグルコース利用の阻害によると考えられる。ついでこれらの 5'-AMP, アデノシン, グルコサミン等による分裂阻害と cAMP との関連について検討を加えた。アデノシンはいくつかの組織(神経, 線維芽細胞)において cAMP 生成を促進するが、逆にある組織(脂肪細胞)では、これを阻害することが知られている。肥満細胞ではメチルキサンチン類との共存下に、5'-AMP, アデノシンともに cAMP 含量を数倍に増加させる。しかしアデノシン, 5'-AMP による cAMP 増加作用は、アデノシンの膜透過を阻害するジピリダモールの存在下に於ても認められること、更にアデノシン, 5'-AMP ともにアデニレートシクラーゼそのものを活性化しないことから、細胞外の受容体を通して作用すると考えられる。

以上の諸事実から、がん化肥満細胞の分裂調節因子として、いくつかの体液性因子(ホルモン, ヌクレチオド, ヌクレオシド, 糖, 等)が作用していることを明らかにすることができた。これらのうち、あるものは細胞外から作用して細胞内 cAMP 含量の変動を誘起し、あるいは細胞内でのプリン代謝の異常を起し、ひいてはピリミジン生合成を阻害する。あるいは ATP プールの変化などの細胞質での代謝異常などの原因が核レベルにおける分裂と機能の調節に関与していると考えられる。また、機能変化は、細胞の分裂と相反的關係にあり、細胞内 cAMP 含量の変動によって調節されることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

旺盛な増殖能と特殊な生理活性物質の産生分泌能を持ち、特有な症候群を呈する所謂、機能腫瘍の機作の解明はいまだ十分ではない。著者は、マウスのがん化肥満細胞(Mastocytoma P-815)が約10時間で分裂し、且つ炎症、アナフィラキシー等の生体防御反応に関与する正常肥満細胞の機能指標である histamine 等の生理活性物質生成能を低いながらも保持し、継代培養も容易であることに注目、これを利用して、増殖と機能分化の相関とこれを制御する諸因子の検討を行い以下の成果を得た。①本細胞のヒスタミン含量等の機能活性は分裂の盛んな対数増殖期に低く、増殖定常期では高い。また、種々の細胞の分裂、形態、機能発現の制御に関与しているといわれる adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP) の細胞内含

量も同様の変動を示す。②培地に dibutyryl cAMP や prostaglandin E_1 等を添加するか、cAMP phosphodiesterase の阻害剤を併用して細胞内 cAMP 含量をあげると分裂は抑制され、機能活性 (histamine, serotonin の生成, protease 活性, $[^{35}S]SO_4^{2-}$ の細胞内とりこみ, acidic glycosaminoglycan の硫酸化) が促進されるので、cAMP が本細胞の増殖と機能発現の制御に関与していることは明らかである。③ cAMP の分解産物である AMP と adenosine も分裂阻害をするが、adenine は無効である。AMP と adenosine の阻害は培地にウリジンを加えると解消されるが、これらの物質の pyrimidine nucleotide 生成阻害の機作は複雑である。Adenosine とりこみ抑制剤 dipyridamole または adenosine deaminase を加えると adenosine のみならず AMP の分裂阻害も解消される。従って培地中の AMP は細胞膜の 5'-nucleotidase により徐々に adenosine となって膜を透過、細胞内で直接間接に AMP に再生され、5'-phosphoribosylamine 生成等を阻害して nucleotide 生合成を抑制し細胞毒になると考えられる。

一方、agarose に結合させた AMP, adenosine も細胞内 cAMP 含量を上昇させるので、これらの物質は細胞外から作用して、cAMP を増加させて分裂を抑制する面をもつことが明らかとなった。④ Glucosamine も細胞分裂を抑制し、グルコースの代謝を阻害し、諸機能を促進するが、cAMP 含量増加は最も初期に認められる効果の一つである。Glucosamine の分裂阻害効果はウリジン添加では解消されない。Glucosamine はチミジンのリン酸化とその DNA へのとりこみを抑制するので、pyrimidine nucleotide 生合成の de novo ならびに salvage 経路を共に阻害することになる。以上の成果はがん化肥満細胞を用いて、細胞分裂と形質発現の調節機序の解明したもので、基礎的にまた応用面に資するところが極めて大きい。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。

