

学位論文概要

学位論文題名 プロスタグランジン輸送体 PGT を介した PGE₂ 調節機構

(英訳)

Regulatory mechanism of PGT-mediated PGE₂ secretion

生命科学 専攻 分子作用学 講座

氏 名 笠井 拓

主任指導教員氏名 玉井 郁巳 教授

プロスタノイドの中でも特にプロスタグランジン (PG) E₂ は炎症および酸化ストレス関連因子による刺激時に主に産生される生理活性物質である。酸化ストレスを起因とした慢性炎症と癌の発生には密接な関係があり、潰瘍性大腸炎をはじめとした炎症性腸疾患は大腸癌発生の危険因子となる。PGE₂ は様々な生理活性に加えて炎症誘発および大腸癌の進展に関与するが、細胞膜表面に発現する PGE₂ 受容体 (EP) 近傍における PGE₂ 濃度の調節機構は明らかでない。そこで本論文では PG 類に選択性の高い輸送体として Prostaglandin Transporter (PGT/SLCO2A1) に着目し、炎症および大腸癌における PGT の役割を解明することを目的とし、炎症刺激または酸化ストレスが及ぼす PGT への影響ならびに PGE₂ 調節との関連について検討を行った。まず、炎症誘発時における PGE₂ 分泌における PGT の役割について、ヒト気道上皮 BEAS-2B 細胞を用いて LPS を曝露による炎症モデルを作製し検討した。LPS 曝露による PGE₂ 排出は PGT 阻害剤である Bromocresol green (BCC) および Bromosulphophthalein (BSP) により抑制され、それとともに炎症性サイトカインである IL-6 の発現量も抑制された。それゆえに、PGT の輸送活性制御により炎症反応を抑制できる可能性が示唆された。次に大腸癌における PGT の役割について、ヒト大腸癌細胞株として CoLo320DM、LoVo および Caco-2 細胞を用いて検討した。Caco-2 細胞では PGT は主に細胞膜に発現していた。一方、CoLo320DM および LoVo 細胞では PGT は主に細胞内に発現しており、酸化ストレスとして SnCl₂ または H₂O₂ 曝露すると、細胞膜近傍へと局在が変化した。このような細胞内に発現する PGT の役割はわかっていない。そこで、酸化ストレスにより細胞内に発現する PGT の局在性が変化したことから、細胞内 PGT も細胞内外の PGE₂ 量の調節に関与しているのではないかと考え、PGT の発現が高く局在性変化が観察された LoVo 細胞を用いて酸化ストレスの影響について評価した。細胞内外 PGE₂ 量を測定したところ、H₂O₂ 曝露により PGE₂ 量は細胞内では減少し、細胞外では増大した。さらに、PGE₂ の総量には変化がなかったことから、PGT の局在性変化は PGE₂ の細胞外への分泌と関連すると考えられた。PGT と PGE₂ の細胞内局在性について、PGT-EGFP 融合タンパク質ならび抗 PGE₂ 抗体によって調べた。その結果、両者が一部細胞内オルガネラに共局在することが示された。即ち、共局在するオルガネラに PGE₂ が PGT を介して貯留される可能性がある。以上より、酸化ストレスにより細胞内オルガネラが細胞膜に移行し、PGE₂ が細胞外に放出されると考えられた。そこで膜動輸送阻害作用を有する EGTA および cytochalasin D の影響を検討したところ、H₂O₂ 曝露時の PGT の細胞内局在性と PGE₂ 量の変化は抑制された。一方、血管新生因子である vascular endothelial growth factor (VEGF) の mRNA 発現量は、H₂O₂ および TNF- α 曝露により誘導され、その効果は PGT ノックダウンにより有意に抑制されたことから、膜動輸送により分泌される PGE₂ を抑制することで大腸癌の進展を制御できる可能性が示唆された。

以上、本論文で明らかにされた PGT を介した PGE₂ の調節機構は、PGT による PGE₂ 分泌の新しいメカニズムを提唱するとともに、PGT を標的とした新たな炎症性疾患および大腸癌治療のための新たな知見を与える成果である。