

論文の内容の要旨

論文題目 Characterization of a Mouse Second Leukotriene B4 Receptor, mBLT2

マウスロイコトリエン B4 第二受容体 mBLT2 の機能解析

指導教官 横溝 岳彦 助教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 14 年 4 月進学

医学博士課程

分子細胞生物学専攻

飯塚 佳子

ロイコトリエン B4 (LTB4) は、アラキドン酸から 5-リポキシゲナーゼ、LTA4 水解酵素によって産生される脂質であり、白血球の炎症部位への遊走、好中球からの活性酸素産生・リソゾーム酵素の放出などを促す強力な白血球走化性因子として知られている。LTB4 受容体 (BLT) は G タンパク質共役型受容体であり、1997 年に当研究室においてヒト白血病細胞 HL-60 から単離された (BLT1)。その後、この受容体遺伝子の近傍から新たな GPCR が単離され、第 2 の LTB4 受容体 (BLT2) であることが見いだされた。本研究では BLT2 の生体内での役割を明らかにする目的でマウスゲノムライブラリーからマウス BLT2 遺伝子を単離し、機能解析を行った。

マウス BLT2 を安定的に発現させた CHO 細胞は BLT1 発現細胞に比べて高濃度の LTB4 に対して細胞内カルシウム上昇、百日咳毒素感受性の G タンパク

質を介したアデニル酸シクラーゼ抑制、extracellular-signal regulated kinase (ERK)のリン酸化を示した。ノザンブロットティング、定量的 RT-PCR によって小腸、皮膚に BLT2 の発現が認められた。この結果は脾臓に最も強い発現を認め、卵巣、肝臓、白血球を始めとする広い臓器分布を示すヒト BLT2 と大きく異なっていた。マウス BLT2 の発現は好中球、マクロファージ、好酸球を高発現部位とするマウス BLT1 と大きく異なっていた。さらに In situ hybridization によってマウス BLT2 は皮膚の表皮ケラチノサイトに発現していることが確認された。初代培養ケラチノサイトを用いて LTB₄、BLT2 特異的アゴニスト濃度依存的な ERK のリン酸化が確認された。また 10 μ M BLT1 特異的拮抗薬 (CP105696) で前処理したケラチノサイトにおいても 100 nM LTB₄ 刺激によって未処理と同等の ERK のリン酸化が見られた。また LTB₄、BLT2 特異的アゴニスト刺激の両者において、濃度依存的なケラチノサイトの細胞遊走が認められたことより、BLT2 は皮膚で何らかの生物学的役割を担っているものと推定される。