

氏名	青 木 郁 夫		
授与した学位	博	士	
専攻分野の名称	薬	学	
学位授与番号	博 甲 第 1307 号		
学位授与の日付	平成6年9月30日		
学位授与の要件	自然科学研究科生体調節科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文題目	モルモット好酸球Major Basic Proteinに関する研究		
論文審査委員	教授 亀井 千晃	教授 山本 格	教授 土屋 友房
	教授 安福 精一	教授 佐藤 勝紀	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

好酸球顆粒タンパクのMajor Basic Protein (MBP) は、細胞あるいは組織の傷害性を有し、炎症との関連が重要視されている。しかし、MBPに関する詳しい研究はほとんどなされていない。著者は、モルモット好酸球より、2つの異なったタンパクの存在を見出した。これら2つのタンパクは、アミノ酸組成に若干の相違が認められた。cDNAライブラリーのスクリーニングの結果、full lengthのpre-pro MBPをコードしている2種類のcDNAを得る事に成功し、GMBP1およびGMBP2と命名した。GMBP1およびGMBP2のcDNAのヌクレオチド配列を解析することにより、その一次構造を解明した。さらに精製したMBP、GMBP1、GMBP2および一次構造を基に合成したpartial oligo-peptidesを用いてヒスタミン遊離作用を検討した結果、MBPは分子内にある塩基性アミノ酸の正電荷により肥満細胞表面の負電荷部位と結合し、ヒスタミン遊離を惹起させることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Major Basic Protein (MBP) は、好酸球の顆粒蛋白の50%以上を占め、アルギニンを多く含有し、強い塩基性を示す蛋白である。抗MBP抗体を用いての検討から、MBPはcrystalloid coreという顆粒内に三角形もしくは四角形をした電子密度の高い部分にのみ存在することが知られている。MBPは、細胞や組織の傷害作用を示す以外に、肥満細胞

や好塩基球からヒスタミン遊離を引き起こすことが知られているが、その詳しい作用機序についてはほとんど知られていない。モルモットは、各種のアレルギー性疾患のモデル動物として繁用されているが、モルモットのMBPの一次構造については全く報告されていない。これらの点の解明を目的として本研究は行われた。

まず、モルモット好酸球より単離したMBPは、逆相HPLCで分離することにより2つのサブタイプに分けることができた。申請者は、これをそれぞれGMBP1およびGMBP2と命名している。GMBP1およびGMBP2の分子量はともに11,000Daであり、アミノ酸組成分析の結果、2つのMBPは極めて類似したアミノ酸組成を示し、またヒトのMBPとも高いホモロジーを示すことを見出した。ラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離に対するMBP、GMBP1およびGMBP2の影響を検討した結果、細胞内Ca貯蔵部位からのCa²⁺の放出のみでなく、肥満細胞へのCa²⁺の流入も関与していることを見出した。

Polymerase Chain Reaction (PCR) で作成したGMBP1プローブおよびGMBP2プローブを用いて、モルモット好酸球cDNAをスクリーニングした結果、GMBP1、GMBP2のcDNAともにsignal peptide, propeptideおよびmature proteinの3つのドメインからなることが明らかとなった。

GMBP1およびGMBP2のmature部分におけるpartial oligopeptideを数種合成し、ヒスタミン遊離に及ぼす影響を検討した結果、ヒスタミン遊離を惹起するのに必要な構造は、連続した2つ以上の塩基性アミノ酸が分子内に存在すること、および疎水性アミノ酸が必須であることを見出している。Ca存在下の方がCa freeの条件下よりヒスタミン遊離率が低下するoligopeptideが多く認められることより、MBPのoligopeptideのヒスタミン遊離機構は、substance Pやhistoneなどの塩基性ポリマーと同様、塩基性アミノ酸の正電荷により肥満細胞表面の負電荷部位に、これらのoligopeptideが結合し、これによって何らかのシグナルが生じ、ヒスタミンが放出されるものと推定される。以上の研究は、アレルギー性疾患に重要な意義を持つモルモットMBPの構造解明、およびヒスタミン遊離機序の解明という点で有意義な発見であり、博士(薬学)の学位論文に値すると判断した。