総説

血小板活性化因子の関与する疾患
——食物との関連及びレセプターについて——

脊 山 洋 右*

Platelet Activating Factor in Diseases in Relation to Food and Receptor

Yousuke SEYAMA

(Department of Physiological Chemistry and Nutrition, Faculty of Medicine, The University of Tokyo: 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan)

はじめに

血小板活性化因子 (PAF) は 1-アルキル-2-アセチル-3-ホスホリルコリンという構造を持ったリン脂質であって、そのものは多価不飽和脂肪酸を含んでいない。アルキル鎖の部分も飽和である。

しかし、PAF は生理活性が大変強い反面、生体内ではいたって不安定な物質であって、血漿中での半減期は 30 秒といわれている。PAF は生成されて作用を及ぼすと、たちどころにアセチルヒドロラーゼという酵素によって 2 位のアセチル基を失ってリゾ PAF となり、これも短寿命でアラキドン酸を結合して 1-アルキル-2-アラキドニル-3-ホスホリルコリンという安定な物質になる。この状態で通常は細胞膜に取り込まれて待機しているので、PAF は食物中のアラキドン酸、あるいはその前駆体としての必須脂肪酸と無縁ではない。

ところで、多価不飽和脂肪酸のうちでもリノール酸及び γ -リノレン酸のようにアラキドン酸になる (n-6 シリーズ) のものと、 α -リノレン酸のようにエイコサペンタエン酸 (EPA) に変換される (n-3 シリーズ) のものではプロスタグランジンになってからの効果が違うことはよく知られている。PAF は先に述べたようにアラキドン酸を結合した状態で待機していて、活性な PAF になる際には一方ではアラキドン酸を放出するので、プロスタグランジンのうちでも、アラキドン酸カスケード系の活性脂質 (n-6 シリーズ) の産生を介して二重の効果を及ぼす可能性を秘めている。

食物の脂肪酸組成が我々の体脂肪の組成に影響することは既知の事実である。このことを利用して、食物の脂肪酸を単にエネルギー源としてだけではなく、生理機能をもった脂質の供給源という考えも近年重視されるようになった。これは経口投与の場合だけではなく経静脈高カロリー輸液 (IVH) のような治療の手段にもあてはまり、肝再生時の輸液にはエネルギー供給と同時に体構成成分としての需要を満たすという考えもあって、大豆油を主成分とした脂肪乳剤の点滴が試みられている。この脂肪乳剤では、含有脂肪酸の 50% 以上が不飽和脂肪酸であるリノール酸で占められており、細胞膜の構成成分として有用であることが期待されている。

このような観点から、食物の多価不飽和脂肪酸の質と量を調節することによって PAF の作用あるいはそれに伴った機能をコントロールしようという試みも考えられよう。実際、食餌と PAF の関連の研究も行われている。

しかしながら我々はまだこの点については具体的な実験データを有していないので、本稿では主として PAF とそのレセプターに焦点を絞って述べ、その意味付けを明らかにする目的で PAF と疾患とのかわりや食餌との関連についても触れてみたい。

1. 血小板活性化因子 (PAF) とは

血小板活性化因子 (platelet activating factor, PAF) は感作したウサギ好塩基球に同じ抗原を加えると、ある種の化学因子が放出されて血小板を凝集させるところから名付けられたが、これは 1972 年のことである¹⁾。

その後、好酸球、マクロファージ、マスト細胞、血管内皮細胞などが刺激されてもこの物質が産出されて、し

* 東京大学医学部栄養学教室：〒113 東京都文京区本郷 7-3-

図1. 血小板活性化因子 (PAF) の構造

かも血小板だけではなく好中球やマクロファージなどの標的細胞に対して様々な生物活性を示すことが明らかになった。

その結果として、血圧降下作用、血管透過性亢進作用、平滑筋収縮が現れ、次の項目で述べるようにアレルギー、アナフィラキシー、炎症などに深くかかわっていることが分かり、医学的にも注目されるようになった物質である。

この物質が1-アルキル-2-アセチル-3-ホスホリルコリンという構造をもったリン脂質であることが報告されたのは1979年である(図1)。アメリカのDemopoulosら²⁾とフランスのBenvenisteら³⁾によって独立してほとんど同時に論文が発表された。また、時を同じくして別のアプローチから腎由来の降圧物質が同じ構造を持っていることもBlanckら⁴⁾によって報告されたので、この1979年はPAFの研究にとって記念すべき年といえよう。

2. PAFの関与する疾患

PAFは正常でも超微量ではあるが産生されている。しかし発見のいきさつからもわかるように、それぞれの細胞に対する特有な刺激に応じて通常の数十倍も産生され、これが近傍にある標的細胞に作用すると、時として病的な反応が引き起こされる。図2に見られるようにPAFの関連する疾患は多岐にわたっている。

2.1 アレルギー疾患

PAFが関与する病気として代表的なものはアレルギー疾患であり、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、じんましん、アレルギー性結膜炎などを挙げることができる。

気管支喘息は気道の収縮と気道反応性の亢進からなるが、モルモットにPAFを吸入させた実験から喘息発作の原因物質という推測ができる⁵⁾。患者の発作時にPAFの産生遊離が起こっている所見も得られているが、PAF産生細胞が好酸球かどうかはまだ分かっていない。

近年増加の傾向にある花粉症はアレルギー性鼻炎を伴うが、この際にリゾPAFが増加しているという報告⁶⁾があり、鼻粘膜の局所で産生されたPAFが関与していることは容易に想像される。

アトピー性皮膚炎、じんましん、アレルギー性結膜炎

図2. PAFの関与する疾患
DIC: 汎発性血管内凝固

でも局所にPAFの産生がみられるところから病態にかかわっているものと思われる。

2.2 エンドトキシンショック

グラム陰性桿菌による敗血症の際に見られるエンドトキシンショックは内皮細胞などで産生されたPAFによる血圧降下作用の結果と考えられている^{7), 8)}。このことはラットにエンドトキシンを投与する実験によって示されているし、PAFのアンタゴニストの投与によって血圧降下が改善することからエンドトキシンショックのメディエーターとして働いているものと思われる。

2.3 そのほかの疾患

そのほかにPAFが関与していると思われる疾患としては、虚血性疾患や胃潰瘍、あるいは腎炎などが挙げられる。いずれも該当する疾患の部位でPAFが増量しているという知見と、PAFの局所投与により類似の病像を作れること、さらにアンタゴニストによってPAFの作用が押さえられるという、三つの方向からの実験によってここに挙げたような疾患におけるPAFのかかわりが明らかになりつつある。

3. PAFの受容体

PAFは標的細胞に作用して特有な反応をもたらすところから、標的細胞には受容体があると推定されていた。生体内で微量にしか存在せず、また生物学的半減期が短いことも受容体の存在を示唆している。

しかしリン脂質であるPAFは疎水性が強く、細胞膜の脂質に非特異的に容易に吸着されるために、リガンドを用いた受容体結合実験はむずかしく、通常の方法でタンパク質として精製するのは困難であった。

3.1 イオンチャンネルによる受容体の検出

受容体は微量ながゆえに古典的なタンパク質化学的方法では精製が困難ことが多い。このような場合に受容体の存在を明らかにする手段として、イオンチャンネルの開閉によりリガンドの結合を電気生理学的に検出する方法がある。受容体そのものがイオンチャンネルと

しての構造を持つニコチン性アセチルコリン受容体の場合には最適であるが、受容体そのものはイオンチャンネルではなくとも、もしも G タンパク質などを介してイオンチャンネルと連携していれば、リガンドの結合を電気信号として捉え、受容体の有無をこの方法でスクリーニングすることが可能となる。

このイオンチャンネルの微小電流の変化を検出する独創的な技術を開発したのはドイツのエルウィン・ネーアとベルト・ザクマンで1976年のことである⁹⁾。彼らが考案したのはパッチクランプ法で、イオンがチャンネルを通るときに発生する1兆分の1アンペア程度の微小電流の変化を検出する方法であるが、その功績に対して彼らは1991年度のノーベル医学生理学賞を受賞している。

このイオンチャンネルの開口を制御している受容体として最初に cDNA が分離され、全一次構造が決められたのはニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) である¹⁰⁾。ネーアとザクマンによるパッチクランプ法は、精製せずに細胞膜の上にある受容体1個の分子の挙動の観察を可能にした。

また、アフリカツメガエルの卵母細胞は nAChR を本来持っていないが、nAChR の mRNA を注入するとこれを発現する能力を有している。また、比較的大きいので mRNA の直視下での注入に適している。nAChR の発現の有無、言いかえると注入した mRNA に nAChR をコードするものが含まれているかどうかは、注入してから数日後にアゴニストとしてアセチルコリンを用いてイオンチャンネルの開閉を調べれば検出することができる。クローニングの手段として有効である。

3.2 イオンチャンネルによる PAF 受容体の検出

我々もニコチン性アセチルコリン受容体の例にならって、モルモット肺由来の mRNA をアフリカツメガエルの卵母細胞に注入する方法を用いて PAF 受容体をコードする mRNA をスクリーニングすることを試みたところ、幸いなことにクローニングすることに成功した¹¹⁾。

アフリカツメガエルの卵母細胞は細胞質内に注入された mRNA を転写し、糖付加などの修飾をした後に本来のコンパートメントに輸送する能力をもつので、mRNA の中に受容体をコードする分子が含まれていれば細胞膜に機能的な受容体が発現される。

モルモット肺から得られた poly (A)⁺ RNA を卵母細胞に注入してから2~3日間培養した後、PAF に対する反応性を検知した (図3)。イオンチャンネルの開閉はパッチクランプ法ではなくボルテジクランプ法を用いてモニターした。すなわち、容量0.5 ml の bath を0.1%のBSAを含むリンゲル液で灌流し、実体顕微鏡下に卵母細胞を-60 から-100 mV にボルテジクランプする。

膜表面に PAF 受容体が発現していると、“受容体→G

図3. アフリカツメガエルにおける受容体発現の検出

PLC: ホスホリパーゼ C

図4. ボルテジクランプ法による PAF 受容体発現の電気生理学的な測定法

タンパク質→ホスホリパーゼ C 活性化→細胞内 Ca^{2+} 上昇→ Cl^- チャンネルの開口” という一連の反応が進み、シグナルとして内向きの膜電流 (I_m) が得られる (図4)。図4に見られる二相性の膜電流はタンパク質に関連した受容体に特有なものである。

ここで G タンパク質以降、 Cl^- チャンネルに到るまでの機構は卵母細胞自体が本来持ち合わせているものである。たまたま我々が目指した PAF 受容体がこの内在性のイオンチャンネルと連動したことは、ある意味では好運なことであった。

3.3 PAF 受容体のクローニング

PAF 受容体の発現を電気生理学的にモニターすることが分かったので、このスクリーニングの手段を用いてクローニングを行うことにした。

PAF 受容体をコードする mRNA 分画を濃縮する目的でモルモット肺 mRNA をショ糖密度勾配超遠心を用いて分画し、卵母細胞に注入して電気生理学的に陽性を示した画分 (18S~28S rRNA 画分の中間) を出発材料として用いた。オリゴ-dT をプライマーとして常法どおりに cDNA を合成し、 λ -ZapII に組み込んでファージライブラリーを作製した。

ライブラリーを 6×10^4 個のファージ群に分け、DNA を調製し Not I サイトで切断する。T7RNA ポリメラーゼを用いて 7-methyl GpppG の存在下に RNA を合成し、この RNA を卵母細胞に打ち込んで PAF に対する反応性をみたところ、30 万回のスクリーニングの後に 1 個の PAF 受容体遺伝子の全長を含むインサートをもつクローンの単離に成功した (図 5)。この卵母細胞はリゾ PAF には反応しなかった。

3.4 PAF 受容体の構造

クローン化された cDNA は 3,020 個の塩基からなり、メチオンで始まる最も長い読み枠 (1,026 bp) がコードしている 342 アミノ酸残基が PAF 受容体のタンパク質であった。この一次構造から計算される分子量は 38,982 である。

このアミノ酸配列に基づきハイドロパシープロットをしてみると (図 6)、受容体タンパク質は七つの疎水性領域とそれらを連結する極めて短い親水性のループからなっていて、いわゆる 7 回膜貫通型の構造をとっていることが分かる。G タンパク質との共役部位とされる第 3 細胞内ループは短く、全体の構造は極めてコンパクトである。

アミノ酸配列からホモロジー検索をしてみると、ロドプシン型の G タンパク質に連関する受容体と 20~30% のホモロジーをもっていたが、きわだってホモロジーの高いものは報告されておらず、新しいサブファミリーに属するものと考えられる。

第 2 膜貫通領域の Ala-Asp 配列、第 2、第 3 細胞外ループ間の S-S 結合を形成するとされる二つの Cys、リガンド結合の際のポケットとして α -ヘリックスの屈曲に重要とされる第 6、第 7 膜貫通領域の Pro など¹²⁾、多くの G タンパク質に連関する受容体に共通するアミノ酸配列はよく保存されている。これらの部分はこの種の受容体の構造、機能に必須と考えられる。

C 末端の細胞内親水性部分には四つの Ser と五つの Thr が存在しており、プロテインキナーゼ C のような受容体特異的なキナーゼでリン酸化される可能性がある。

PAF による脱感作はこれらの残基のリン酸化によるものと思われ、受容体の抑制調節の一例といえよう。

3.5 PAF 受容体の性質

我々は PAF には反応するがリゾ PAF には反応しないという基準でスクリーニングして PAF 受容体をコードする cDNA をクローニングし、その構造を決めた。そこで、これが本当に PAF の受容体であることを確認すること、その機能を調べるために cDNA の発現実験を行った。

ファージクローンから回収したプラスミドを鋳型として RNA を作製し、約 5 ng を卵母細胞に注入して発現した受容体について薬理学的性質を検討した。

図 7a はアゴニストについてみたものであるが、PAF に対しては ED_{50} は約 10 nM であった。PAF のグリセロール骨格の 2 位に結合するアセチル基を化学的に修飾すると¹³⁾ (○)、用量反応曲線は PAF よりも 1~2 桁右にシフトし、親和性の低下を示している。前述したように生理的に不活性であるリゾ PAF は $1 \mu M$ という高い濃度でも有意な膜電流を惹起しなかった。

図 7b は 2 種類の PAF アンタゴニストの効果をみたもので、あらかじめ卵母細胞を CV-6209¹⁴⁾、Y-24180 で処理すると、等モル濃度 (10 nM) の PAF に対する反応は 80~90% 抑制された。以上の実験データは我々が単離した cDNA が PAF の受容体をコードしていることを示している。

図 5. PAF によるアフリカツメガエル卵母細胞の膜電流

図 6. PAF 受容体タンパク質のハイドロパシー

図7. 膜上に発現した PAF 受容体の薬理的性質

- a. PAF (●), 1-O-octadecyl-2-acetamido-2-deoxy-glycero-3-phosphocholine (○) 及び lyso-PAF (□) の用量反応曲線
 b. PAF アンタゴニストによる膜電流の減少 10^{-8} M のアンタゴニストで卵母細胞を前処理した後, 等モルの PAF で刺激

3.6 哺乳動物細胞 COS-7 における発現

卵母細胞は微量注入された mRNA の絶対量が少ないため, PAF 受容体が発現しても放射性リガンドの結合実験には向かない。そこで, cDNA の全長を発現ベクターに組み込み, 哺乳動物由来の培養細胞である COS-7 にトランスフェクションした。COS-7 は本来 PAF 受容体を持っていないので, 発現実験には向いているが, PAF はリン脂質であるために $[^3\text{H}]\text{PAF}$ は細胞膜に非特異的に吸着され (全結合量の 70~80% を占める), 受容体への結合の解析には向いていない。そこで PAF の特異的なアンタゴニストである WEB-2086¹⁵⁾ を用いた実験を行ったところ, K_d は 6.4 nM であった (図 8)。これはモルモットの肺で得られたデータ¹⁶⁾ と相対応する値である。これらの結果は得られたクローンが確かに PAF 受容体の cDNA であることを裏付けている。

3.7 PAF 受容体の分布

このようにして得られた cDNA をプローブとして用いると, ノーザンブロット分析により PAF 受容体の分布を mRNA レベルで知ることができる。図 9 から明らかのように, 白血球に多く発現し, 脾臓や肺, 腎臓でもかなりの mRNA が存在していることが分かる。PAF が白血球や血小板だけに限らず, 血管間膜細胞 (mesangial cell) にも作用するという従来の知見と一致している。

3.8 ヒト白血球の PAF 受容体

ここまで述べてきたことはモルモットの肺における

図8. COS 細胞に発現した PAF 受容体に対する阻害剤の結合曲線

クローニングした受容体タンパク質を発現した COS7 細胞膜画分に対する ^3H -WEB-2086 の結合曲線 特異的 (○) 及び非特異的 (●) 結合を示す。

PAF 受容体について明らかにできたデータである。はたして、PAF 受容体の構造が組織や種を越えて共通のものかどうかということは分析対象を広げて初めて規則性が分かってくる。そこで、全く同じ手法をヒトの白血球に適用してみた¹⁷⁾。

得られた cDNA は 342 個のアミノ酸をコードしており、この一次構造から計算される受容体タンパク質の分子量は 39,203 である。アミノ酸の数はモルモット肺の

受容体と同数であるが、アミノ酸の種類は多少異なっていた。全体としては 83% が同じで、膜貫通部位だけに限れば 90% の相同性が見られる。

先に述べた、G タンパク質関連受容体に共通したアミノ酸はヒト白血球の PAF 受容体でも保存されている。

ところがモルモット肺とヒト白血球の PAF 受容体のアミノ酸配列を見比べると著しい相違が認められる。それは前者の N 末端ペプチド (第 1 細胞外ループ) に見られるアスパラギン (Asn) がヒト白血球の PAF 受容体には見られないことである。PAF 受容体が糖タンパク質であるという確証はないが、これまで多くの G タンパク質関連の受容体ではこのアスパラギンに糖鎖が付いているのではないかと想像されてきた。このアスパラギンがヒトの白血球の受容体に無いということは、受容体の機能発現に糖鎖の存在が不可欠ではないことを意味している。

図 10 はヒト白血球 PAF 受容体の細胞膜における存在様式を推定したものである。モルモット肺の受容体と共通のアミノ酸は 1 文字表記で示されている。

3.9 PAF 受容体は G タンパク質を介して PI 代謝回転をたかめる

モルモットの肺からの mRNA もヒト白血球からの mRNA もイオンチャネルの開閉でモニターしてクローニングを行った。受容体刺激とイオンチャネルの間には G タンパク質、ホスホリパーゼ活性化という卵母細胞に内在するブラックボックスがあって、PI 代謝回転の介在を前提に実験を進めてきた。この度のヒト白血球の受容体発現実験では、PAF 刺激に伴うイノシトール

図9. PAF 受容体の RNA プロット解析

各レーンに 5 μ g の poly(A)⁺ RNA をアプライしている。

図10. 細胞膜におけるヒト白血球 PAF 受容体の存在様式
上方が細胞外、下方が細胞質

1,4,5-三リン酸の産生と、グアノシン 5'-O-(2-thio) ニリン酸の細胞内注入による Cl^- チャンネルの開口、の2点を証明することができた。このことはGタンパク質の過程がPAFの情報伝達機構としても生理的に働いているとする仮説を裏付けるものといえよう。

4. PAFと食餌の関連

PAFは炎症や免疫に関連する細胞が産生するが、このPAFは産生細胞の近傍にある標的細胞の受容体に結合して刺激を与えた後、速やかにアセチルヒドロラーゼによって2位に結合したアセチル基を加水分解されて生理活性のないリゾPAFになる。このリゾPAFは直ちにアシル化され、特にアラキドン酸をもつアルキルアシルGPC(グリセロフォスフォルコリン)に変換されてから細胞膜に取り込まれる。これがPAF消去系であり、PAF活性は速やかに消去される($T_{1/2}=30$ 秒)¹⁸⁾。

このように、PAFとして存在し活性を現すのは極めて短時間であり、大部分の時間はアラキドン酸を結合したアルキルアシルGPCとして待機の状態にあるといえよう。

この2位にアラキドン酸を結合したアルキルアシルGPCはPAFの貯蔵型前駆体であると同時に、アラキドン酸の供給源としてアラキドン酸カスケードの基質をも供給する物質として重要である。

数か月間無脂肪食で飼育したラットの多型核白血球では、アラキドン酸が正常ラットのその10%にまで減少しており、PAFの合成能も対照ラットの16%にまで減少していたという報告がある¹⁹⁾。また、アラキドン酸カスケードの一つであるロイコトリエン LTB_4 も10%にまで減少していたところから、アラキドン酸とPAF産生は強い関係にあると思われる。

また、“はじめに”のところで述べたように、多価不飽和脂肪酸の中でも(n-6シリーズ)のアラキドン酸系列と(n-3シリーズ)のエICOSAPENTAEN酸(EPA)系列では生理的効果が相反する場合がある。食物の多価不飽和脂肪酸のPAF産生能もその一例で、 α -リノレン酸を多く含むシソ油あるいは魚油がPAFの産生を抑制するという報告がある^{20), 21)}。

これらのデータをうのみにするとアラキドン酸はPAF産生能をたかめ、エICOSAPENTAEN酸は抑制するということになり、PAFが引き金になっているアレルギー症状を押さえるという意味では、アラキドン酸が少なくエICOSAPENTAEN酸が多い食餌が治療効果が大きいのかのように感じられよう。

このような観点から研究を企画することは理にかなっているが、やはり最後にものをいうのは実際の臨床効果での判定であり、そのための客観的な実験が積み重ねられなければならない。

その判定の一手段として今回開発したPAF受容体の発現系はPAFのアゴニスト、アンタゴニストのスクリ

ーニングに有効であり、食物の脂質の影響を検討する系に組み込むことも考えられよう。今後の応用を期待したい。

おわりに

食物のアラキドン酸やエICOSAPENTAEN酸がPAF産生能に影響があるからといって、動物実験の結果から直ちに我々の食餌の中の必須脂肪酸とPAFの関係を推論することはできない。これまでのところ、PAFがかかわっているアレルギー疾患の治療の面では、むしろ様々なPAFのアンタゴニストの開発が行われていて、研究の主流は薬物療法の検討である。しかし、食餌療法の途が開かれれば多くの患者にとってはこの上もないことであり、今後の研究の方向は食物の多価不飽和脂肪酸の利用が焦点となろう。

これら薬物療法と食餌療法の両面の研究におけるスクリーニングの系として、我々が開発した卵母細胞におけるPAF受容体発現系が応用できれば幸いである。

謝 辞

本稿の大半をなす血小板活性化因子(PAF)の受容体に関する研究は清水孝雄氏(東京大学医学部第2生化学教授)の指導のもと、本田善一郎氏(東京大学医学部)、中村元直氏(日本たばこ産業(株))の両名をはじめ文献11, 17に名を連ねる多数の教室員の協力の賜物である。ここに諸氏の努力に対して謝意を表します。

文 献

- 1) Benveniste, J., Henson, P. M., Cochrane, C. G.: J. Exp. Med. **136**, 1,356~1,377 (1972).
- 2) Demopoulos, C. A., Pinckard, R. N., Hanahan, D. J.: J. Biol. Chem. **254**, 9,355~9,358 (1979).
- 3) Benveniste, J., Tence, M., Varenne, P., Bidault, J., Bouillet, C., Polonsky, J.: C. R. Acad. Sci. Ser. D. **289**, 1,037~1,040 (1979).
- 4) Blank, M. L., Snyder, F., Byers, L. W., Brooks, B., Muirhead, E. E.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **90**, 1,194~1,200 (1979).
- 5) Page, C. P., Paul, W., Morley, J.: Int. Arch. Allergy Apply. Immunol. **74**, 347~350 (1984).
- 6) Miadonna, A., Tedeschi, A., Arnoux, B., Sala, A., Zanussi, C., Benveniste, J.: Am. Rev. Respir. Dis. **140**, 142~147 (1989).
- 7) Doebber, T. W., Wu, M. S., Robbins, J. C., Choy, B. M., Chang, M. N., Shen, T. Y.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **127**, 799~808 (1985).
- 8) Chang, S., Feddersen, C. O., Henson, P. M., Voelkel, N. F.: J. Clin. Invest. **79**, 1,498~1,509 (1987).
- 9) Neher, E., Sackmann, B.: Nature (London) **260**, 799 (1976).
- 10) Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosato, M., Furutani, Y., Hirose, T., Asai, M., Inayama, S., Miyata, T., Numa, S.: *ibid.* **299**, 793~797 (1982).
- 11) Honda, Z., Nakamura, M., Miki, I., Minami, M., Wata-

- nabe, T., Seyama, Y., Okado, H., Toh, H., Ito, K., Miyamoto, T., Shimizu, T.: *ibid.* **349**, 342~346 (1991).
- 12) Dohlman, H. G., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J.: *Biochemistry* **26**, 2,657~2,664 (1987).
- 13) Hayashi, S., Kudo, I., Inoue, K., Onozaki, K., Tsushima, S., Nomura, H., Nojima, S.: *J. Biochem.* **97**, 1,737~1,745 (1985).
- 14) Terashita, Z., Imura, Y., Takatani, M., Tsushima, S., Nishikawa, K.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **242**, 263~268 (1987).
- 15) Casals-Stenzel, J., Muacevic, G., Weber, K. H.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **241**, 974~981 (1987).
- 16) Dent, G., Ukena, D., Sybrecht, G. W., Barnes, P. J.: *Eur. J. Pharmacol.* **169**, 313~316 (1990).
- 17) Nakamura, M., Honda, Z., Izumi, T., Sakanaka, C., Mutoh, H., Minami, M., Bito, H., Seyama, Y., Matsumoto, T., Noma, M., Shimizu, T.: *J. Biol. Chem.* **266**, 20,400~20,405 (1991).
- 18) Wardlaw, M. L., Cox, C. P., Meng, K. E., Greene, D. E., Farr, R. S.: *J. Immunol.* **136**, 3,441~3,446 (1986).
- 19) Ramesha, C. S., Pickett, W. C.: *J. Biol. Chem.* **261**, 7,592~7,595 (1986).
- 20) Pickett, W. C., Nytko, D., Dondero-Zahan, C., Ramesha, C. S.: *Prostagl. Leukotr. Med.* **23**, 135~140 (1986).
- 21) Horii, T., Kobayashi, Y., Satouchi, K., Saito, K., Watanabe, S., Yoshida, Y., Okuyama, H.: *Tokyo PAF Symposium on Allergic, Respiratory and Cardiovascular Diseases, Abstracts*, p. 150, Tokyo (1991).