

氏名	福 田 俊 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2146 号
学位授与の日付	平成 11 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Ultrastructural localization and translocation of nitric oxide synthase in the endothelium of the human cerebral artery (ヒト脳血管内皮細胞における一酸化窒素合成酵素の微細局在およびその細胞内移動に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 成宮 周 教授 北 徹 教授 橋本信夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

一酸化窒素 (NO) は、血管平滑筋を弛緩させることにより脳血流量を増加させ、また抗凝固作用をも司る脳血流調節において重要な役割を担う物質である。この NO の合成酵素である NO synthase (NOS) は、脳血管内皮細胞内に内皮型 NOS (eNOS) として常在している。しかるに、生体内において実際に eNOS が内皮細胞内にどのように局在しているかについては未だ不明な点が多く、またヒト血管での局在の検討は全く報告がない。そこで、免疫電顕法によりヒト中大脳動脈 (MCA) および浅側頭動脈 (STA) の血管内皮細胞における eNOS の超微細構造的局在について検討を行った。STA-MCA 吻合術時に採取したヒト MCA (n=8) および STA (n=5) に対し、抗 eNOS 抗体と proteinA で label した金粒子を用いた免疫染色を行い、電子顕微鏡にて観察したところ、細胞内小器官である小胞体、Weibel-Palade 小体および subplasmalemmal vesicle 等の表面や、細胞膜、そして可溶分画に eNOS の局在が認められた。しかしながら、subplasmalemmal vesicle 内部の局在は STA 内皮細胞には認められず、脳血管内皮細胞のみに見られる特徴と考えられた。次に、最近 eNOS の酵素活性の制御機構として、この酵素がリン酸化を受けることにより、膜・顆粒分画から可溶分画へと細胞内を移動して不活化される可能性のあることが報告されたことより、生体内で実際にリン酸化によって eNOS がどのように細胞内局在を変化させるのかについて、金粒子数が eNOS の分子数に比例することを利用して検討を行った。NOS 活性化物質である bradykinin (BK) 投与により NOS を活性化させた群における細胞内小器官・可溶分画・細胞膜のそれぞれ 3 部位に局在する金粒子数を control 群と比較したところ、BK 投与群では可溶分画での有意な金粒子の増加と細胞内小器官部での粒子の有意な減少が認められたのに対し (P < 0.001)、細胞膜部では明らかな粒子数の変化は見られなかった。したがって、NOS 活性化物質の投与により、eNOS は、細胞膜からではなく、細胞内小器官から可溶分画へと細胞内を移動している可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

血管内皮細胞における内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) の局在は未だ不明な点が多く、またヒト血管での検討は報告がない。そこで申請者は、抗 eNOS 抗体と proteinA 標識金粒子を用いた免疫電顕法により、ヒト脳血管内皮における eNOS の微小局在について検討した。またアゴニスト刺激により、eNOS が膜・顆粒分画から可溶分画へと移動することで活性制御を受けている可能性が報告されたことより、NOS 活性化物質による eNOS の細胞内移動を、金粒子数が eNOS 分子数に比例することを利用して検討した。eNOS は、細胞膜・可溶分画や subplasmalemmal vesicle、Weibel-Palade 小体、小胞体等の細胞内小器官に局在していた。control 群と比べ NOS 活性化物質投与群の粒子数は、細胞膜部では変化なく、可溶分画で増加し、細胞内小器官部で減少していた。このことより eNOS は細胞膜からではなく、細胞内小器官から可溶分画へと移動する可能性が示唆された。

以上の研究は、ヒト内皮細胞内 eNOS の微小局在および細胞内移動による酵素活性制御機構の解明に貢献し、脳血管の組織生理学的基礎研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 6 月 14 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。