

氏 名	こむろ たろう 小室 太郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1859 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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	The involvement of a novel mechanism distinct from the thrombin receptor in the vasocontraction induced by trypsin (トロンビン受容体以外の新たな機構を介したトリプシンの血管収 縮作用に関する研究)

論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 北 徹 教 授 菊 池 晴 彦
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

生物活性物質が受容体を介して情報伝達を誘発する際、両者の結合が唯一の情報伝達機序であるとされてきたが、最近になってこれとは全く仕組みの異なるトロンビン受容体を介した情報伝達機序が発見された。トロンビンが蛋白分解作用によって細胞膜表面にある受容体の N 末端側の一部を切断すると、新たに露出された N 末端が同受容体の一部に作用して細胞内情報伝達を開始され、血管収縮作用などを示すと考えられている。このユニークな情報伝達を実際に起こす物質としては、現在たでのところ唯一トロンビンが知られているだけであるが、他にも数多くのプロテアーゼが同様の情報伝達を起こすものと想定されている。セリンプロテアーゼの一種であるトリプシンは比較的基質特異性が低く、その基質となる物質は豊富である。このため生理的には他のプロテアーゼが関与しているはずの反応をもトリプシンを用いて実験的に再現が可能な場合がある。このたび我々はトリプシンが血管収縮作用を有することを見出した。本研究では、トリプシンがトロンビン受容体を活性化することが知られているため、トリプシンの血管収縮作用がトロンビン受容体のみを介したものであるのか、または未知の機序をも介したもののなのかについての検討を中心に実験を行った。実験の方法は、トリプシンの血管収縮作用とそのメカニズムについて、ウサギ胸部大動脈の輪状標本を用いた血管張力測定法、及び血管平滑筋の細胞内カルシウム濃度測定法を用いた。

トリプシンもトロンビンも、内皮を除去した血管標本を用量依存性に収縮させた。トリプシンの血管収縮作用はその蛋白分解活性に依存しており、ダイズ由来のトリプシン阻害剤やセリンプロテアーゼの阻害剤 (PMSF) によって蛋白分解作用・血管収縮作用共に強く抑制された。

トリプシンはノルアドレナリンや高濃度の KCl による収縮に影響を及ぼさなかった。即ち、トリプシンによる血管収縮作用は、トリプシンの蛋白分解作用による破壊的なものではないことが示された。

トリプシンによる血管収縮は、トロンビンによるものと同様、収縮全体の70%が細胞外カルシウムの流

入に由来しており、その内の約半分がL型の電位依存性カルシウムチャンネルを介したカルシウム流入に由来していた。

一般に最大効果を誘発する量の生理活性物質を血管に作用させ、その収縮が最大になっている時に同一機序を介する生理活性物質を血管に作用させても、血管収縮の増強は起こらない。しかしながら、後から加える生理活性物質が別の機序を介して血管を収縮させる物質であれば、血管収縮の増強が認められることがある。この性質を利用して、トリプシンがトロンビンによる血管収縮機序と同一の機序のみを介して血管を収縮させているのか、または別の機序をも介しているのかについて検討を加えた。最大効果を誘発する量のトロンビンを血管に作用させ、その収縮が最大になっている時にトリプシンを作用させたところ、有意な収縮の増強が認められた。血管収縮に先立って起こる細胞内カルシウム濃度の変化についても同じ検討を行ったところ、同様の結果が得られた。

以上の結果から、トリプシンはトロンビン受容体を介した血管収縮機序に加えて、別の蛋白分解酵素依存性血管収縮機序を介した作用をも有していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

セリンプロテアーゼは、炎症・血液凝固線溶系で働くことが知られている。これに属するトロンビンは、古典的なリガンド・受容体関係とは異なる蛋白分解作用依存性の受容体活性化機序を示す。セリンプロテアーゼの一種であるトリプシンは基質特異性が低く、生理的には他のプロテアーゼが関与している反応をもこれを用いて実験的に再現が可能な場合がある。トリプシンが血管収縮作用を有し、これがトロンビン受容体のみを介するのか否かについての検討を行った。トリプシンは内皮を除去した血管を用量依存性かつ蛋白分解活性依存性に収縮させた。トリプシンによる血管収縮は、細胞外 Ca^{2+} 依存性及びL型の電位依存性 Ca^{2+} チャンネル依存性に関して、トロンビンによる収縮とほぼ同じであった。血管収縮・細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化について検討を行った結果、トリプシンはトロンビン受容体を介した血管収縮機序に加えて、別の蛋白分解酵素依存性血管収縮機序を介した作用をも有していることが明らかとなった。

以上の研究はプロテアーゼによって活性化される新たな受容体の解明に貢献し、炎症・血液凝固線溶系における病態の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9年2月3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。