

氏 名 (本籍)	もり 豊 樹
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 第 2490 号
学位授与年月日	平成 5 年 2 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	昭和 55 年 3 月 31 日 大阪府立大学大学院農学研究科獣医学専攻 修士課程修了
学 位 論 文 題 目	ブタ冠動脈平滑筋のホルボールエステルによる収縮の機構とヒスタミン収縮におけるプロテインキナーゼ C 活性化の関与

(主 査)

論文審査委員	教授 平 則 夫 教授 渡 辺 建 彦
	教授 白 土 邦 男

論文内容要旨

ブタ冠動脈平滑筋において、カルシウム蛍光指示薬である fura-2 を用いた顕微測光法により細胞内カルシウム濃度の変化と、収縮張力の変化とを同時に観察し、冠攣縮の原因のひとつと考えられるヒスタミンレセプター刺激を介する冠血管収縮の機構について再検討した。

1) ヒスタミンによるブタ冠動脈の収縮と細胞内カルシウム濃度の変化

ヒスタミンはブタ冠動脈平滑筋において、細胞内カルシウム濃度を増加させるとともに収縮張力を増加させた。ヒスタミンによる冠動脈収縮はフォスファチジルイノシトール代謝回転と連関している H₁-レセプターを介しており、細胞内貯蔵カルシウムを遊離させるイノシトールトリリン酸とプロテインキナーゼCを活性化させるジアシルグリセロールの産生を伴うといわれている。ヒスタミンによる冠動脈収縮は細胞外液のカルシウムを除去した条件や、カルシウムチャンネル遮断薬であるベラパミール存在下で強く抑制されたことから、電位依存性カルシウムチャンネルを通る細胞外からのカルシウムの流入が大きく収縮張力の増加に関与していることが示唆された。しかし、細胞外からのカルシウムの流入が抑制された条件でも一過性の収縮が生じたことから、細胞内カルシウム貯蔵部位から遊離したカルシウムの冠動脈収縮への関与も示唆された。これは、イノシトールトリリン酸による直接的なカルシウム遊離の可能性を示している。これらの種々の条件で検討したヒスタミンによるブタ冠動脈収縮の張力と細胞内カルシウム濃度との関係を KCl による張力と細胞内カルシウム濃度との関係と比べると、ヒスタミンでは、KCl に比べて、より低い細胞内カルシウム濃度で大きな収縮張力が発生していた。

2) ホルボールエステルによるブタ冠動脈の収縮と細胞内カルシウム濃度の変化

同じブタ冠動脈平滑筋の実験系で、プロテインキナーゼCを活性化させるホルボールエステルであるホルボール12,13-ジブチルエステルは、低濃度では細胞内カルシウム濃度をわずかに減少させ、高濃度ではわずかに増加させた後に軽度に減少させたが、収縮張力は濃度依存的に増加させた。種々の条件で検討した収縮張力と細胞内カルシウム濃度との関係はホルボールエステルが存在することで、より低い細胞内カルシウム濃度で大きな収縮張力が発するようになっていた。この結果は、レセプター刺激時に産生されたジアシルグリセロールによるプロテインキナーゼCの活性化が、収縮タンパクのカルシウムに対する感受性の増加をひきおこし、冠動脈収縮に関与する可能性を示唆する。

以上、ヒスタミンおよびホルボールエステルの結果から、ヒスタミンによるブタ冠動脈平滑筋の収縮機構には、以前から知られていた(1)細胞外からのカルシウムの流入、(2)細胞内カルシウム貯蔵部位からのカルシウムの遊離に加えて、(3)プロテインキナーゼCの活性化を介する収縮タン

バクのカルシウムに対する感受性の増加の3つが関与していることが、インタクトな平滑筋において示された。中でも、ヒスタミンによるブタ冠動脈平滑筋の収縮においては、細胞外からのカルシウムの流入、それもベラパミール感受性の電位依存性カルシウムチャンネルを通るカルシウムの流入が大きな役割を果たしていることが示唆された。

これら、3つの機構の平滑筋収縮への関与は、フォスファチジルイノシトール代謝回転を情報伝達機構としているレセプター刺激において共通のものと考えられる。

審査結果の要旨

平滑筋の収縮において細胞内カルシウム濃度の上昇は重要な役割を演じているが、受容体刺激による収縮の場合は細胞膜の単なる膜分極による収縮の場合に比べ、収縮に至る機構ははるかに複雑である。本論文は、ブタ冠動脈平滑筋がヒスタミンによって収縮する事実をふまえ、ブタ冠動脈摘出標本の発生張力と細胞内カルシウム濃度を同時に観察しながら、種々のインターヴェンションを加え、ヒスタミン受容体刺激を介する収縮機構を解明しようとしたものである。細胞内カルシウム濃度の測定には fura-2 を用いた顕微測定法によっているが、現在では適切な方法と考えられる。実験結果は、ヒスタミン H₁ 受容体刺激による収縮は細胞内カルシウム貯蔵部位から遊離したカルシウムと電位依存性カルシウムチャンネルを通して細胞外から流入したカルシウムの両方で起こり、前者は一過性の収縮に、後者は、主として収縮の持続相に強く関与していることを示唆するものであった。そして、ヒスタミン H₁ 受容体刺激はフォスファルチジルイノシトール代謝回転を誘発することが知られているので、細胞内カルシウム貯蔵部位からのカルシウム遊離はフォスファルチジルイノシトール代謝回転の結果生じたイノシトールトリリン酸によるものと推論している。しかし、最も注目すべき結果はヒスタミンによる収縮は、KC1 脱分極収縮に比べ、低い細胞内カルシウム濃度で大きな収縮張力が発生することであった。すなわち、ヒスタミンによる収縮には収縮タンパクのカルシウム感受性の増加が起こっているらしいということであった。この収縮タンパクのカルシウム感受性の増加にはプロテインキナーゼ C の関与が示唆されているので、本論文提出者は、さらにプロテインキナーゼ C を活性化させるホルボールエステルホルボール 12, 13 ジブチルエステルを用い、この可能性を検討した。結果はホルボールエステルは極めて低い細胞内カルシウム濃度でも大きな収縮張力を発生することであった。ヒスタミン H₁ 受容体刺激によるフォスファルチジルイノシトール代謝回転の結果プロテインキナーゼ C を活性化するジアシルグリセロールが生じる事が知られているので、これが収縮タンパクのカルシウム感受性亢進に関与していると推論している。

以上本論文は平滑筋の受容体刺激による収縮機構の解明の 1 つにブタ冠動脈平滑筋のヒスタミン H₁ 受容体刺激による収縮を取り上げ、その機構を現在可能な方法を駆使して明らかにした点で学位に値すると考えられる。