

氏 名（本籍）	すず ぎ しょう 鈴 木 秀
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 3 1 1 7 号
学位授与年月日	平 成 10 年 9 月 9 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	平 成 2 年 3 月 28 日 東北大学医学部医学科卒業
学位論文題目	ブタ冠動脈におけるアゴニスト収縮の制御 —細胞内 Ca^{2+} 放出の役割について—

（主 査）

論文審査委員	教授 白 土 邦 男	教授 柳 澤 輝 行
	教授 田 林 暁 一	

論文内容要旨

ブタ冠動脈における, Prostaglandin F₂α (PGF₂α) のムスカリン収縮増強作用と, その細胞内機序について検討した。ブタ摘出冠動脈を用い, 張力及び細胞内 Ca²⁺ を測定した。Acetylcholine (Ach) は一過性の張力上昇とそれに引き続く持続的な張力上昇を起こした。前者の最高値を peak tension, 後者の安定した値を tonic tension として計測した。PGF₂α (1.0 μM) はそれ自体 5% 程度の張力上昇をもたらしたのみであったが, peak tension を 95 ± 27% 増加させた (n=12, p<0.1)。tonic tension に対しては影響しなかった。

Ach 収縮の peak tension は外液 Ca²⁺ を除去しても有意に減少しなかったが Thapsigargin (10 μM) を作用させると有意に減少した (86 ± 4%, p<0.01)。Tonic tension は Ca²⁺ を除去で有意に減少した (86 ± 7%, p<0.01)。Fura-2 蛍光比 (F340/380) を用いて平滑筋細胞内 Ca²⁺ 測定を試みた。PGF₂α 自体は有意な蛍光比の上昇を起こさなかったが, Ach による蛍光比の peak 値を 139 ± 44% 有意に上昇させた (n=7, p<0.5)。以上より, PGF₂α は, 細胞内 Ca²⁺ の放出増加を介して Ach 収縮の peak tension を増強させると推定した。この際の細胞内 Ca²⁺ プールは Thapsigargin 感受性であると考えられた。

細胞内 Ca²⁺ 放出以外の要因を考えるため Bay K 8644 または phorbol 12, 13-dibutylate (PDBu) が PGF₂α の効果を模擬できるか検討した。前者は外液からの Ca²⁺ 流入を増加させ, 後者は収縮要素の Ca²⁺ 感受性を増加させると考えられる。Bay K 8644 は, tonic tension のみを有意に増強し (177 ± 88%, p<0.01), peak tension は増強しなかった。PDBu は, peak tension (84 ± 22, p<0.1), tonic tension (100 ± 31, p<0.5) をともに増強した。これらの結果から Ca²⁺ 流入及び Ca²⁺ 感受性増加は PGF₂α の効果の主な要因ではないと考えた。

血管平滑筋に働くアゴニストの多くは phospholipase C (PLC) 活性増加を介して細胞内 Inositol 1, 4, 5-triphosphate (IP₃) を増加させ SR からの Ca²⁺ 放出 (ICR) を起こすとされる。本実験でも Ach による peak tension は外液 Ca²⁺ 非依存性であることから ICR を介することが推定される。PLC は脱分極によって活性が増加することが知られているので PGF₂α が膜電位を変化させるか否かを通常のガラス電極法で測定した。本実験条件における PGF₂α は膜電位に有意な変化を与えなかった。

以上の結果を次のようにまとめた。

- 1) PGF₂α は Ach による張力発生と細胞内 Ca²⁺ 増加を増強した, その機序として細胞内 Ca²⁺ 放出増加が考えられた。
- 2) この細胞内 Ca²⁺ 放出は Thapsigargin 感受性で外液非感受性であることから IP₃ による

Ca²⁺ 放出 (II CR) によるものと考えられた。

3) PGF2 α の II CR 増強機序に膜電位変化は関与していないと考えられた。

本実験結果からブタ冠動脈においてアゴニスト間に効果増強作用が認められ、その機序として II CR による細胞内 Ca²⁺ 放出増加が起こることが示唆された。どのような機序で II CR が増強されるかを解明することは今後の課題である。

審査結果の要旨

冠動脈は血管に到達する様々な血管収縮物質（アゴニスト）によって調節されている。冠攣縮性狭心症患者の運動負荷誘発試験は早朝で陽性率が高い。様々な冠動脈虚血イベントは日内変動を示し午前中に起きやすいことが知られている。このような冠動脈収縮性亢進の機序は未だ不明である。本論文は冠血管平滑筋の血管収縮物質に対する感受性が他のアゴニストによって変化し得ることを示したものである。

Prostaglandin $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) と Acetylcholine (Ach) の2つのアゴニストを用い、あらかじめ $PGF2\alpha$ で前処置した場合としない場合での Ach 収縮の大きさと細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を検討した。ブタ摘出冠動脈を用い、張力及び細胞内 Ca^{2+} を測定した。Acetylcholine (Ach) は一過性の張力上昇とそれに引き続く持続的な張力上昇を起こした。 $PGF2\alpha$ ($1.0\mu M$) は5%程度の張力上昇をもたらしたが、Achによる peak tension を $95\pm 27\%$ 増加させた ($n=12$, $p<0.01$)。Ach 収縮の peak tension は外液 Ca^{2+} を除去しても有意に減少しなかったが、Thapsigargin ($10\mu M$) を作用させると有意に減少した ($86\pm 4\%$, $p<0.01$)。Fura-2 蛍光比 (F340/380) を用いて平滑筋細胞内 Ca^{2+} 測定を試みた。 $PGF2\alpha$ 自体は有意な蛍光比の上昇を起こさなかったが、Achによる蛍光比の peak 値を $139\pm 44\%$ 有意に上昇させた ($n=7$, $p<0.05$)。以上より、 $PGF2\alpha$ は、細胞内 Ca^{2+} の放出増加を介して Ach 収縮の peak tension を増強させると推定した。この際の細胞内 Ca^{2+} プールは Thapsigargin 感受性であると考えられる。アゴニストの多くは Phospholipase C (PLC) 活性増加を介して IP_3 を増加させ SR からの Ca^{2+} 放出 (ICR) を起こすとされる。Achによる peak tension が液液 Ca^{2+} 非依存性であることから Ca^{2+} 非感受性の Ca^{2+} 貯蔵部位を介した Ca^{2+} の放出すなわち ICR 増強が主な役割を果たしていると推定される。

冠血管平滑筋でのアゴニストの相乗的な収縮反応増強についてはこれまで報告が無い。本論文は収縮反応増強現象の存在を示し、かつその機序に細胞内カルシウム貯蔵部位の関与していることを強く示唆しており興味深い結果と言える。冠血管収縮反応の亢進機序に新しい視点を加えたもので学位論文に値すると考える。