

氏名(本籍)	塚田博 (茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博乙第1,017号
学位授与年月日	平成6年9月30日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Integrin $\alpha v \beta_3$ (vitronectin receptor) regulates lung endothelial hydraulic conductivity. (インテグリン $\alpha v \beta_3$ (ビトロネクチンレセプター)による血管透過性制御機構の研究)
主査	筑波大学教授 薬学博士 後藤勝年
副査	筑波大学教授 工学博士 大島宣雄
副査	筑波大学教授 医学博士 小山哲夫
副査	筑波大学教授 医学博士 杉下靖郎
副査	筑波大学教授 医学博士 杉田良樹

## 論文の要旨

### (目的)

肺微小循環系における血管透過性の昂進は血管外(肺実質内)体液の増加などを伴う肺内水分のアンバランスをきたし、肺水腫や成人呼吸促迫症候群といった極めて重篤な病態の本質をなすものである。従って、肺血管透過性に関する研究は、肺循環系における生理学的特性の基本を理解するためだけでなく、重篤な肺循環系疾患の病態の解明や新しい治療法の開発にもつながるもので、臨床的にも重要な意味を有するものである。肺循環系における血管透過性を昂進させる因子としては、トロンビンやサイトカイン類が知られてきてはいるが、実験技術上などの問題からそれらの作用機構や定量的評価に関する知見は未だ乏しい。本研究では、斬新な実験方法を駆使し、ビトロネクチンの肺血管透過性昂進作用の詳細な機構を解明することを目的とした。

### (対象及び方法)

ラット摘出灌流肺の胸膜直下後毛細管細静脈(直径20~40  $\mu\text{m}$ )に2本のマイクロピペットを用いたダブルマイクロパンクチュアによる split-drop 法を適用し、微小血管内圧(Pmv)に対する血管流出・入液速度(Jv)をプロットし、その勾配から単一微小血管の単位面積あたりの濾過係数(Lp)を算出して肺血管透過性の指標とした。補体活性化血清(ZAS)に含まれる多分子ビトロネクチン補体複合体(C5b-9)が結合した可溶性補体終末複合体(SC5b-9)がLpを昂進させることが示されており、ZAS、精製SC5b-9更には多分子ビトロネクチン(VN)のLpに対する影響を、インテグリン $\alpha v \beta_3$

(ビトロネクチン受容体：VNR) に対する抗体の存在下・非存在下で調べた。又、VNR 刺激後の細胞内シグナル伝達様式を探ることを目的として、Lp 変化に対するチロシンキナーゼ及びプロテインキナーゼ C の各特異的阻害薬の影響を調べた。

(結果及び考察)

1) ZAS 及び精製 SC5b-9 はいずれも Lp を著明に増加させた。これら Lp 増加反応は、 $\alpha_v\beta_3$  (VNR) に対するモノクローン又はポリクローン抗体により完全に制御された。しかし  $\beta_1$  サブユニットに対する抗体には影響されなかった。

2) 多分子 VN も ZAS などと同様に Lp を著明に増加させたが、分子内のジスルフィド結合が解離してアルキル化された単分子 VN ( $VN_{alk}$ ) は効果を示さなかった。VN よる Lp 増加は、やはり抗 VNR 抗体により完全に抑制された。又、この Lp 増加は、オリゴペプチド GRGDSP により抑制されたことから、血管内皮上の受容体が VN の RGD ペプチドを認識して結合し、受容体の凝集を促進して生じる反応であると考えられる。この Lp 増加は VN を血管内に投与後 5 秒以内に生じ始めるという、極めて早期に出現する反応で、VN が内皮細胞の管腔側に存在する受容体に作用することを示唆するものである。

3) チロシンキナーゼの特異的阻害薬である genistein や MDC は、ZAS 及び VN による Lp 増加反応を著明に抑制したが、プロテインキナーゼ C (PKC) の特異的阻害薬である calphostin C は影響を示さなかった。一方、 $\alpha$  トロンピンは PKC を活性化することにより Lp を増加させることが知られているが、この反応は calphostin C により著明に抑制され、genistein には影響されなかった。

以上の結果から、SC5b-9 などはその複合体に含まれる多分子 VN が血管内皮細胞の管腔側に存在する VNR に結合して受容体の凝集をもたらし、受容体自身の有するキナーゼ活性を上昇させてチロシン残基を特異的にリン酸化することにより細胞内の構造蛋白 (talín, vinculin, actin など) の再構築を促し、肺微小血管内皮細胞の形態変化を伴う Lp の増加が惹起されるものと推測される。

## 審 査 の 要 旨

肺微小循環系における血管透過性の昂進は、肺水腫や成人呼吸促迫症候群などの重篤な疾患をもたらすもので、その機構の解明は臨床的にも重要な意味を有するものである。補体活性化血清 (ZAS) などによる内皮細胞依存性の肺血管透過性の昂進も、重視される要因の一種である。著者は、ZAS に含まれる可溶性補体終末複合体 (SC5b-9) に結合している多分子ビトロネクチン (VN) が、血管内皮上の VN 受容体 (インテグリン  $\alpha_v\beta_3$ ) に結合して受容体の凝集をもたらし、チロシンキナーゼ活性を促すことにより肺微小循環系の透過性を昂進させることという仮説をたて、これを実証した。受容体凝集の実体やチロシンキナーゼによってリン酸化される細胞内蛋白の同定など、細部にわたる詰めが残されているが、本研究は臨床的にも意義深いものであり、博士 (医学) 学位論文として十分に評価されるものである。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。