

氏 名 (本 籍)	柳 沢 正 史 (埼玉県)
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	博 甲 第 592 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 63 年 9 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	A novel potent vasoconstrictor peptide by vascular endothelial cells (エンドセリン：血管内皮由来の新しい血管収縮ペプチド)
主 査	筑波大学教授 医学博士 東 恵 彦
副 査	筑波大学教授 医学博士 工 藤 典 雄
副 査	筑波大学教授 医学博士 小 町 喜 男
副 査	筑波大学教授 医学博士 田 村 昇
副 査	筑波大学教授 医学博士 山 下 亀 次 郎

論 文 の 要 旨

(1) 目 的

ブタ大動脈内皮細胞の培養上清中に、強力なペプチド性血管収縮因子を新しく発見し、その単離、精製を行って構造を決定した。ついで同ペプチド前駆体の cDNA をクローニングしてその構造を明らかにし、このものが内因性の循環調節因子として作動している可能性を追究した。

(2) 実験方法および結果

ブタ大動脈内皮細胞のコンフルエント単層培養 2～6 日目の培養上清が、ブタ冠状動脈螺旋条片に対して収縮活性を示した。そこで陰イオン交換、および逆相高速液体クロマトグラフィーにより活性物質を精製・単離し、分析した結果、このものは 21 個のアミノ酸からなるペプチドで、分子内に 2 組のジスルフィド結合を有することが判明した。この新しい特異な構造の生理活性ペプチドはエンドセリン endothelin と命名された。

エンドセリンのブタ冠状動脈収縮能は、既知のアンジオテンシン II やバゾプレッシンより 100 倍程度も強力であり、最大張力はカリウム拘縮に匹敵した。収縮は緩徐に立ち上るが持続性で、インプロテレノールや亜硝酸で完全に弛緩したが、 α -アドレナリン性、ムスカリン性、ヒスタミン性、セロトニン性の各種拮抗薬、あるいはアラキドン酸代謝阻害薬に対しては抵抗性であった。またジヒドロプリジン系の Ca^{2+} チャンネル拮抗薬によって効果は抑制され、同チャンネル作動性物質である可能性が示唆された。さらにエンドセリンは in vivo でも強い昇圧作用を示した。

エンドセリンの第7～20位のアミノ酸に対応する DNA プローブを合成し、ブタ大動脈内皮細胞 mRNA に対して作成した cDNA ライブラリーから、エンドセリン前駆体 cDNA をクローニングし、その構造を解析した。その結果から、エンドセリンも大きな前駆体として内皮細胞で合成され、既知の生理活性ペプチドの場合とはやや異なったプロセッシングを受けて放出されることが考えられた。また、エンドセリンの mRNA がブタ大動脈内皮細胞に於ても低レベルながら存在していること、培養内皮細胞においてアドレナリン、トロンピン、 Ca^{2+} イオノフォア等によって誘導されることも実験によって証明された。

エンドセリンの構造は哺乳動物由来の活性ペプチドとしては極めて特異であり、むしろサソリ、ヘビ、ハチ等のペプチド神経毒と共通点がある。これらの神経毒がいずれも種々の膜イオンチャンネルに結合してこれをブロックすることを考えると、エンドセリンの作用も Ca^{2+} チャンネルを介する Ca^{2+} の流入によって惹起される可能性が最も高いと思われる。

審 査 の 要 旨

本研究は、内皮細胞が産生する血管収縮性因子を初めて発見したものとして、極めて高く評価されるべきものである。ペプチドである同因子の一次構造を確定し、遺伝子をクローニングして生合成の過程を推論した実験の水準も高度である。既知の昇圧ペプチドに比べて遥かに効力の強い本エンドセリンが、内因性循環調節因子として脚光を浴びる日の近いことを信じ、研究の速か度かつ大いなる発展を期待する。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。