

氏名(本籍)	粕谷善俊 (千葉県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	博甲第804号
学位授与年月日	平成2年10月31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	Mechanism of contraction to endothelin in isolated porcine coronary artery (エンドセリンによる単離ブタ冠状動脈の収縮機構) (掲載誌: American Journal of Physiology 257: H1828-H1835, 1989)
主査	筑波大学教授 医学博士 三輪正直
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 成田光陽
副査	筑波大学教授 理学博士 坂内四郎
副査	筑波大学教授 医学博士 山下亀次郎

## 論文の要旨

### 〈目的〉

1980年にFurchgottらによって血管内腔を1層で覆う血管内皮細胞からの血管弛緩因子(EDRF)の遊離が発見されて以来、血液循環調節における内皮細胞の重要性がクローズアップされてきた。そして、我々の研究室において血管内皮細胞由来の血管収縮因子が単離・精製されエンドセリン(ET)と命名された。ETはこれまで発見されているどの血管収縮物質よりも血管を強力かつ持続的に収縮させることが判明し、血管攣縮や本態性高血圧などの病態生理との関連性について研究が進められている。しかし、血管収縮物質による作用機構は依然として不明な点が多い。

本研究では、ETの血管収縮作用機構を単離ブタ冠状動脈を用いて薬理的、生化学的、電気生理学的手法によって明らかにすることを目的とした。

### 〈方法ならびに結果〉

ブタ心臓より摘出した右冠状動脈の螺旋標本を作製し内皮細胞を除去後、95%酸素/5%炭素ガスを通気した37℃の栄養液中に懸垂し、その等尺性収縮を記録した。ETの $EC_{50}$ は $5.2 \times 10^{-10} M$ であり、既知の血管収縮物質に比べはるかに強力な収縮活性を示した。この収縮は標本の外液 $Ca^{2+}$ を除くことによって著しく抑えられたため、外液 $Ca^{2+}$ の流入がETの収縮には一義的に重要であると考えられ、この点を詳細に検討した。外液の $K^+$ 濃度を上げていくと血管平滑筋細胞膜は脱分極し電位依存性 $Ca^{2+}$ チャンネル(VDC)が開口して血管は収縮する。そこで、 $K^+$ の用量作用曲線に対するETの効果

を検討したところ、微量のETの存在下で $K^+$ の用量作用曲線は最大反応を変えずに有意に左に移動した。すなわち、ETは $K^+$ によるVDCの活性化に伴う外液の $Ca^{2+}$ 流入を促進する効果を示した。また $^{45}Ca^{2+}$ 取り込み実験からも、最大収縮反応を引き起こす用量のETとそれと同程度の収縮を引き起こす $K^+$ はともに標本の $Ca^{2+}$ の取り込みを有意に増強し、その増強の時間経過および最大取り込み量は両者ではほぼ等しかった。さらにETの収縮作用はジヒドロピリジン誘導体のニカルジピン等のL型VDCに対するブロッカーによって有意に抑制された。また、ETによって増強された標本の細胞内への $Ca^{2+}$ 取り込みもニカルジピンによって有意に抑制された。これらの結果から、ETがVDCのうちL型の $Ca^{2+}$ チャンネルを活性化し外液 $Ca^{2+}$ の流入を促進することによって血管平滑筋を強化かつ持続的に収縮させることが実証された。

次に、標本の静止膜電位に対するETの作用様式を検討したところ、ETはわずかに膜を脱分極しただけであり、この程度の膜の脱分極ではL型VDCの活性化は説明できない。従って、ETのL型VDCに対する作用機構は、 $Ca^{2+}$ チャンネルに直接結合して膜電位変化を伴わずにこれを開口する、BAYK8644やYC-170といったジヒドロピリジン誘導体でありながらニカルジピンとは逆の作用を持つ $Ca^{2+}$ アゴニストの作用様式に極めて似通っていた。また、ETによる収縮に対するニカルジピンの拮抗様式が $Ca^{2+}$ アゴニストに対する拮抗様式と似ていたことから、ETはジヒドロピリジン受容体（つまりL型 $Ca^{2+}$ チャンネル自身）に対するアゴニストと考えられた。ところがETは、ジヒドロピリジン誘導体の1つであるイオジピンの受容体への特異的結合に何ら影響しなかった。このことから、ETの作用は機能的には、ジヒドロピリジンの誘導体 $Ca^{2+}$ アゴニストと似通っているにもかかわらず、VDCのジヒドロピリジン受容体とは異なる独自の受容体を持つことが示唆された。

#### 〈結 論〉

ETは、ブタ心臓の単離冠状動脈の系において既知の血管収縮物質と比較して、はるかに強力な収縮活性を有する。また、その作用様式は、L型 $Ca^{2+}$ チャンネルの活性化とそれに伴う外液 $Ca^{2+}$ の流入による細胞内 $Ca^{2+}$ レベルの上昇による。さらに、ETの作用部位はジヒドロピリジン受容体とは異なる独自の受容体に結合することが示唆される。

### 審 査 の 要 旨

本研究は薬理学グループによって新たに見いだされた血管内皮由来の血管作動物質であるETを用いて、心臓の冠状動脈においてその強力な血管収縮作用を確認し、さらにその作用機構に関して薬理的、生化学的、電気生理学的に詳細な解析を行ったものである。その結果、ETの作用はL型 $Ca^{2+}$ チャンネルの活性化、外液 $Ca^{2+}$ の流入による細胞内 $Ca^{2+}$ レベルの上昇にあることなどETの作用機構を初めて明らかにした点で高く評価される。また、ETが新しい受容体を持つことを示唆した点は、電位依存性 $Ca^{2+}$ チャンネルの構造解析や、さらに、特異的なETの阻害剤の開発などにおいても貢献するものであり学術的価値がある。

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。