

氏 名	Ayman Ibrahim Mohamed Mohamed Geddawy
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 第650号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成24年 3月9日
学位論文題目	Mechanism Underlying Endothelium-Dependent Relaxation by 2-methylthio-ADP in Monkey Cerebral Artery  (サル脳動脈における 2-methylthio-ADP による内皮依存性弛緩作用機 序について)
審査委員	主査 教授 堀 池 喜八郎  副査 教授 寺 田 智 祐  副査 教授 宇田川 潤

## 論文内容要旨

*整理番号	655	氏名	アイマン イブラヒム モハメド モハメド ゲッドウェイ Ayman Ibrahim Mohamed Mohamed Geddawy
学位論文題目	<p style="text-align: center;"><b>Mechanism Underlying Endothelium-Dependent Relaxation by 2-methylthio-ADP in Monkey Cerebral Artery</b></p> <p style="text-align: center;">サル脳動脈における 2-methylthio-ADP による 内皮依存性弛緩作用機序について</p>		
<p>(背景と目的)</p> <p>ヌクレオチドは、細胞内ではエネルギーや核酸合成の原料であるが、細胞外に遊離されると細胞間情報伝達物質として作用し、多彩な生体機能を調節している。内因性のヌクレオチドが脳の各部位から遊離されることや脳血管が他の部位の血管よりもヌクレオチドに対して強く反応することが知られている。また、虚血やシアーストレスに対して、血球や活性化された血管内皮細胞からヌクレオチドが遊離される。これらのことから、ヌクレオチドが脳血管の生理的な緊張調節や血管が原因の脳疾患（偏頭痛、脳卒中、クモ膜下出血後のれん縮など）に関与すると考えられている。ヌクレオチドの血管作用はP2受容体を介するが、最近の研究により、血管内皮細胞や平滑筋細胞における同受容体サブタイプの局在が明らかにされつつある。</p> <p>脳循環は、脳機能の安定に必要なエネルギーを供給するために、適切に調節されている。脳動脈の生理的な緊張調節に多くの機序が関与するが、中でも支配神経由来の一酸化窒素(NO)が重要な役割を果たしている。他方、血管作動物質による内皮依存性血管拡張作用も重要であり、NOのみならず、プロスタノイドや内皮依存性過分極因子(EDHF)の関与が報告されているが、血管部位や作動物質によって異なる成績が報告されている。特に脳動脈におけるEDHFの関与についてはほとんど報告がない。</p> <p>我々はサルとイヌの脳動脈でピリミジン型ヌクレオチド(UTP)とプリン型ヌクレオチド(2MeSADP)の作用を比較した際に、2MeSADPが動物種にかかわらず、脳動脈においてEDHF様の内皮依存性弛緩作用を生じることを見いだした(参考文献1)。本論文では、サル脳動脈における2MeSADPによる内皮依存性弛緩作用について、その作用機序を明らかにすることを目的とした。</p>			

(方法) 脳より脳底部の動脈を摘出し、周囲組織を除去した後、血管内膜面に損傷を与えないように留意してラセン状条片標本を作製した。必要に応じて、内膜面を綿花で擦過した内皮除去標本も作製した。標本はマグナス装置を用いて好氣的条件下で栄養液中に懸垂し、薬物を添加することにより生じる等尺性張力変化をレコーダーに記録した。

(結果) 内皮の存在は、 $H_2$  ブロッカー存在下のヒスタミンによる弛緩反応の程度で機能的に評価した。プロスタグランジン  $F_2\alpha$  で前収縮させ、かつシクロオキシゲナーゼおよび NO 合成酵素の阻害薬を前処置した内皮正常標本において、2MesADP は用量依存性に脳動脈を弛緩させた。同弛緩は内皮除去標本では観察されず、NO 吸着薬である PTIO ならびに Gap junction 阻害作用を有する  $18\alpha$ -glycyrrhetic acid を処置しても影響がなかった。また、同弛緩は  $P2Y_1$  選択的拮抗薬である MRS2179 で用量依存性に抑制され、非選択的  $P2$  受容体拮抗薬の suramin を追加しても更なる抑制は観察されなかった。また、phospholipase C (PLC) 阻害薬である U-73122 によっても選択的に抑制された。さらに同弛緩は高濃度のカリウムで前収縮させた標本では著明に抑制されたが、ATP 感受性 K チャンネル阻害薬の glibenclamide では影響がなく、高コンダクタンス性  $Ca^{++}$  依存性 K チャンネルの阻害薬である iberiotoxin により軽度、中および低コンダクタンス性  $Ca^{++}$  依存性 K チャンネルの阻害薬である charybdotoxin と apamin の併用処置により著明に抑制された。さらに同弛緩は phospholipase  $A_2$ 、シトクローム P450 (CYP) および epoxyeicosatrienoic acid (EET) 阻害薬によりそれぞれ著明に抑制されたが、 $Ca^{++}$  依存性 K チャンネルの活性化薬である NS-309 による弛緩作用には影響がなかった。また、本実験に使用した阻害薬は cAMP 依存性に血管を弛緩させる forskolin および NO ドナーである nitroprusside による弛緩作用には全く影響を与えなかった。

(結論) 2MesADP はサル脳動脈を内皮依存性に弛緩し、大部分がプロスタノイドや NO を介しない作用であった。同ヌクレオチドは内皮細胞に存在する  $P2Y_1$  受容体を刺激して、PLC を活性化し、上昇した  $Ca^{++}$  により NO 合成酵素だけでなく  $PLA_2$  を活性化させ、生じたアラキドン酸が CYP を介して EET に代謝され、EET が EDHF 様物質として平滑筋細胞の  $Ca^{++}$  依存性 K チャンネルを活性化して、過分極による弛緩を生じたと考えられる。

(考察) 2MesADP が霊長類の脳動脈を内皮依存性に弛緩させ、それが NO だけでなく、EDHF 様物質を介する機序によることを明らかにした。本論文は霊長類脳動脈における EDHF 様作用に関する最初の報告であると共に、末梢循環とはかなり異なる機構で制御されている脳循環の調節に、エネルギー産生や代謝と密接な関連をもつヌクレオチドが生理的に重要な役割を果たしていることを示唆するものである。これらの成績を基に、生体における脳動脈内皮による循環調節、ひいては脳組織の機能制御に果たす役割や病態との関連についても明らかにされることが期待される。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	655	氏名	Ayman Ibrahim Mohamed Mohamed Geddawy
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>内皮細胞依存性血管拡張因子に、一酸化窒素・プロスタノイド・内皮依存性過分極因子がある。ヌクレオチドもこれらのうちの一つであり、虚血やシアストレス(ずり応力)によって赤血球・白血球・血小板・活性化内皮細胞から放出され、血管の緊張調節に関与すると考えられている。本論文はプリン型ヌクレオチドである 2-メチルチオ-ADP のサル脳動脈に対する内皮依存性の弛緩作用を検討したものである。</p> <p>その結果、次のことを明らかにした。1) 2-メチルチオ-ADP は、P2Y<sub>1</sub> 受容体-ホスホリパーゼ C - Ca<sup>2+</sup> のシグナル伝達系を介して、サル脳動脈を内皮依存性に弛緩させる。2) 細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の上昇によって NO 合成酵素とホスホリパーゼ A<sub>2</sub> が活性化し、後者の作用でアラキドン酸が生成する。アラキドン酸はシトクロム P-450 によって内皮依存性過分極因子の一つであるエポキシエイコサトリエン酸に変換される。3) このエポキシエイコサトリエン酸が平滑筋細胞の Ca<sup>2+</sup> 依存性 K<sup>+</sup> チャネルを活性化し、過分極による弛緩が起こる。</p> <p>この研究成果は、霊長類脳動脈における内皮依存性過分極因子の作用に関する初めての報告であり、脳動脈内皮による循環調節やその病態の解明に大きく貢献することが期待される。よって本論文は博士(医学)の学位論文に値するものと認められる。なお申請者は最終試験(論文内容に関連した試問)に合格した。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 585 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 24 年 / 月 25 日 )</p>			

## 最終試験の結果の要旨

整理番号	655	氏名	Ayman Ibrahim Mohamed Mohamed Geddawy
論文審査委員			
(最終試験の結果の要旨)			
<p>最終試験において以下の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) ATP や ADP の類縁化合物 (アナログ) について</li><li>2) ATP のようなプリンヌクレオチドや UTP のようなピリミジンヌクレオチドを放出する細胞とその分子機構について</li><li>3) ATP 放出の生理的あるいは病理的状況や代謝状況について</li><li>4) P2Y<sub>1</sub> 受容体の組織分布や生理的役割について</li><li>5) プリン受容体ファミリーの種類・分類・シグナル伝達機構・生理的役割について</li><li>6) 内皮依存性過分極因子 (EDHF) の具体的な物質と作用機構について</li><li>7) シトクロム P-450 の種類・分類・基質特異性について</li><li>8) 内皮-平滑筋細胞間にギャップ結合が発達している血管の臓器局在性について</li><li>9) UTP の脳動脈に対する作用の種差について</li><li>10) 血管系に対する一酸化窒素の作用機構について</li></ol> <p>上記のいずれの質問に対しても的確な答が得られた。</p>			
(平成24年1月25日)			