

氏名・(本籍) 藤岡秀行(福井県)
学位の種類 医学博士
学位記番号 医博第62号
学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日 平成元年3月24日
学位論文題目 イヌ摘出血管に対するジチオスレイトールの作用

審査委員 主査教授 戸田 昇
副査教授 木之下 正彦
副査教授 野崎 光洋

論文内容の要旨

(目的)

数多くの酵素やレセプターの活性はチオール(SH) / ジスルフィド(SS) 交換反応により変化する。近年、代謝調節や細胞内情報伝達におけるSH/SS交換反応の生理的役割が注目されている。血管平滑筋でも各種血管作用薬に対するSH基含有化合物の影響が調べられているが、SH基含有化合物そのものの血管作用はほとんど注目されていない。今回、イヌ摘出血管を用いてSH基含有化合物(主にジチオスレイトール)の血管作用について研究した。

(方法)

雑種イヌの動脈(主に冠状動脈)らせん状条片を、95% O₂・5% CO₂混合ガスを通気したmodified Krebs-Henseleit液(37℃)中に懸垂し、1.5gの静止張力のもとで等尺性張力の変化を測定した。30mM KClによる収縮を収縮の100%とした。拡張作用を観察する場合にはプロスタグランジンF_{2α}で部分収縮させた状態を0%、0.1mM パパベリンによる拡張を100%とした。

(結果)

SS結合還元作用を持つジチオスレイトール(DTT)は、冠状動脈・大腿動脈・腎動脈・脳底動脈・腸間膜動脈のいずれに対しても3相性の血管作用を示した。すなわち、最初弱い収縮を生じ(A相)、一旦ゆっくり拡張し(B相)、DTT投与30~60分後に強い収縮(C相)を生じた。以下は冠状動脈での結果である。A相は0.1mMから観察されたが最大でもKCl収縮の13%だった。B相はプロスタグランジンF_{2α}やKClであらかじめ収縮させた状態で明確に観察された。B相は1μM~0.3mMで用量に存在して増大し、パパベリンによる拡張と同程度の強い拡張作用を示した。C相の強度も0.1mM~10mMで用量依存性を示し、10mMでKCl収縮の126

％に達した。DTTの作用は内皮細胞を除去しても観察された。C相の収縮が出現する直前(30～60分後)にDTTを洗浄により除去してもC相は観察されたが、DTTの作用時間を10分以内にするとC相は観察されなかった。

以下の各種阻害剤はDTTの血管作用に影響を与えなかった：アトロピン(アセチルコリン受容体)・フェノキシベンザミン(α 受容体)・プラゾシン(α_1 受容体)・ヨヒンビン(α_2 受容体)・プロプラノロール(β 受容体)・ピリラミン(ヒスタミン H_1 受容体)・シメチジン(ヒスタミン H_2 受容体)・ケタンセリン(セロトニン $5HT_2$ 受容体)・サララシン(アンギオテンシンII受容体)・インドメタシン(シクロオキシゲナーゼ)・テトロドトキシン(ナトリウムチャンネル)。

一方、ジルチアゼムとニカルジピン(カルシウムチャンネル阻害剤)・H-7(プロテインキナーゼ阻害剤)・ML-9(ミオシン軽鎖キナーゼ阻害剤)およびパパベリン(ホスホジエステラーゼ阻害剤)によりDTTの血管作用は抑制された。カルモジュリン阻害剤のうちクロルプロマジンはA相を抑制したが、ナフトレンスルホンアミド誘導体(W-7とW-5)は逆にA相の収縮を増強した。C相はW-7やクロルプロマジンにより抑制されたが、カルモジュリン阻害作用の弱いW-5では抑制されなかった。また、細胞外カルシウムイオンを除去するとA相・C相の収縮は認められなかった。

DTTの類縁化合物のうち、SH基を持つ1,4-ジチオ-L-スレイトール(L-DTT)とジチオエリスリトールはDTTとよく似た血管作用を示したが、SH基を持たないDL-スレイトール・エリスリトール・酸化型DTTでは全く血管作用を認めなかった。

他のSH基含有化合物のうち、2-メルカプトエタノールはDTTのA・B・Cの各相に相当する血管作用を示したが、L-システインは収縮作用のみを示しB相に相当する拡張作用は認められなかった。

〔考 察〕

これまでDTTは他の血管作用薬の前処置薬として用いられてきた。今回、イヌ摘出血管においてDTTが3相性の血管作用を示すことが明らかとなったので、これまでの実験結果もDTTそのものによる作用を考慮して検討する必要がある。DTTの血管作用に各種受容体の阻害剤が影響を与えずカルシウムチャンネル阻害剤により抑制されたこと、細胞外カルシウムイオンがDTTの作用に必要なことから、DTTがカルシウムチャンネルに直接作用して細胞外カルシウムイオンの細胞内への流入を引き起こす結果、A相・C相の収縮を生じていると思われる。DTT以外のSH基含有化合物でも血管作用を示したがSH基以外の構造の違いにより血管作用が異なるようである。

〔結 論〕

1. イヌ摘出血管に対してDTTは3相性の血管作用、弱い収縮(A相)、ゆっくりした拡張(B相)、30～60分の潜伏期を持った強い収縮(C相)を示した。
2. DTTの血管作用に対し各種受容体の阻害剤は無効だった。

3. A相およびC相の収縮はカルシウムチャンネルを介した細胞外カルシウムイオンの流入により生じていることが示唆された。
4. 他のSH基含有化合物（2-メルカプトエタノール・L-システイン等）でもDTTと類似の血管作用が観察された。

学位論文審査の結果の要旨

血管の収縮拡張に対するチオール（SH）とジスルフィド（SS）交換反応の影響をジチオスレイトール（DTT）を用いて検討した。実験には雑種イヌの冠状動脈らせん状条片を用いた。

DTTは弱い収縮の後、一旦ゆっくり拡張し、30-60分間の潜伏期を経て強い収縮をひきおこした。DTTの類縁化合物のうち、SH基を持つ1,4-ジチオ-L-スレイトールとジチオエリスリトールはDTT類似の血管作用を示したが、SH基を持たないDL-スレイトール、エリスリトールおよび酸化型DTTは全く血管作用を示さなかった。DTTの作用は内皮細胞を除去しても影響をうけなかった。現在注目を集めている内皮細胞関連の機序は関係しないようである。また、各種レセプター阻害薬はDTTの血管作用を抑制しなかった。一方、 Ca^{++} 拮抗薬、プロテインキナーゼ阻害薬、ミオシン軽鎖キナーゼ阻害薬およびホスホジエステラーゼ阻害薬によりDTTの血管収縮作用は抑制された。また、細胞外 Ca^{++} を除去すると収縮は消失した。これらの結果からDTTの収縮には Ca^{++} チャンネルを介する Ca^{++} 流入の関与が示唆される。

以上、冠動脈平滑筋細胞におけるS-S結合の還元は Ca^{++} の膜透過性を変化させ、その程度に応じて動脈を収縮したり拡張したりするようである。ニトログリセリン連続投与による耐性の発現にSH基の関与が報告され、血管機能とチオール-ジスルフィドの関係が注目される中で、今後更に詳細な生化学的な検討が期待される。その端緒となる基礎的な研究として本研究は学位授与に値すると判断された。