

学位論文内容要旨

論文題目 Differential inhibition by TAK-044 of the inotropic effects of endothelin-1 and endothelin-3 (エンドセリン-1 およびエンドセリン-3 による変力作用に対する TAK-044 の識別的抑制作用)

指導(紹介)教授: 遠藤 政夫

申請者氏名: 蓬田 伸一

【目的】 エンドセリン (ET) の受容体には、ET-1 に選択性が高く ET-3 には選択性が低い ET_A 受容体と、ET-1、ET-3 のいずれにも親和性の高い ET_B 受容体が存在する。ヒトやラットなどの哺乳類心筋標本において ET-1 は顕著な陽性変力作用 (positive inotropic effect: PIE) を惹起し、その作用は選択的 ET_A 受容体遮断薬で効果的に抑制される。また ET-3 による PIE は極めて弱いか、ほとんど認められない。これに対して、摘出ウサギ心臓乳頭筋標本において ET-1 および ET-3 は同程度の PIE を惹起する。ウサギにおいては ET-3 による PIE は選択的 ET_A 受容体遮断薬により効果的に抑制されるが、ET-1 による PIE は ET_A 及び ET_B のいずれの選択的受容体遮断薬によっても非選択的受容体遮断薬によってもほとんど影響を受けない。本研究では非選択的 ET 受容体遮断薬の TAK-044 がウサギ乳頭筋標本での ET-1 及び ET-3 による PIE にどのような影響を及ぼすのかを検討した。

【方法】 摘出ウサギ心臓乳頭筋標本を organ bath に懸垂固定し、 α 及び β 受容体遮断薬存在下で等尺性収縮力を測定した。各受容体遮断薬で 30 分間前処置した後 ET-1 または ET-3 の濃度反応曲線を検討した。ウサギ心室筋細胞膜を用いた受容体結合実験は ¹²⁵I 標識した ET-1 または ET-3 を用いて行った。

【結果】 TAK-044 は 100 nM 以上の濃度で ET-1 による PIE を、3 nM 以上の濃度で ET-3 による PIE を濃度依存的に抑制した。一方、選択的 ET_A 受容体遮断薬 FR139317 および選択的 ET_B 受容体遮断薬 BQ-788 各 1 μ M を共存させると、ET-3 による PIE は抑制されたが、TAK-044 で観察された ET-1 の PIE 抑制作用は認められず、逆に PIE を増強した。放射性リガンドを用いた置換実験の結果、TAK-044 は ET-1、ET-3 のいずれの放射性リガンドの受容体への結合も阻害するが、ET-1 の受容体への結合 ($K_i = 1.4$ nM) を ET-3 の受容体への結合 ($K_i = 5.2$ nM) よりも約 4 倍強く阻害した。

【結論】 TAK-044 はウサギ乳頭筋標本における ET-1 及び ET-3 による PIE を濃度依存的に抑制する。TAK-044 は ET-1 の受容体への結合を ET-3 に対してよりもより強く阻害するにもかかわらず、PIE の抑制作用は ET-1 による PIE よりも ET-3 による PIE のほうが 30~100 倍程度感受性が高かった。ET-1 は陽性変力作用、陰性変力作用のそれぞれに関与する受容体サブタイプを活性化し、TAK-044 は陰性変力作用に関与する受容体も遮断するため、PIE の抑制に ET-3 の場合よりも高い濃度が必要である可能性が考えられた。

(1, 200字以内)




平成17年 2月 3日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：蓬田 伸一

論文題目：Differential inhibition by TAK-044 of inotropic effects of endothelin-1 and endothelin-3 (エンドセリン-1 およびエンドセリン-3 による変力作用に対する TAK-044 の識別的抑制作用)

審査委員：主審査委員 仲川 義人 
副審査委員 藤井 順逸 
副審査委員 久保田 功 

審査終了日：平成 17 年 1 月 28 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

エンドセリン(ET)は血管収縮ペプチドとして発見された生理活性物質であるが、その後、様々な生理的機能や病理学的状態に影響を及ぼすことが知られてきている。現在、ETファミリーペプチドとしてET-1,-2,-3のアイソペプチドが存在し、2種類の受容体(ET_AとET_B)がクローニングされている。ET_A受容体にはET-1とET-2が高い親和性を呈し、ET-3への親和性は低い。一方、ET_B受容体はET-1,-2,-3のいずれとも高い親和性を呈する。

ところで、ETは摘出心室筋標本で陽性変力作用(PIE)を惹起する。また、PIEの反応性は種差により大きく異なる。更に、通常、ET-1のPIEに比し、ET-3のそれは弱い。しかし、ウサギの心室筋標本ではET-1とET-3がほぼ同程度のPIEを惹起する。そこで、蓬田伸一君はウサギの摘出右心室乳頭筋標本を作製し、organ bathに懸垂固定し、 α 及び β アドレナリン受容体遮断薬存在下で1Hzの電気刺激を行い、ET-1およびET-3によるPIEの濃度反応曲線を等尺性に記録し、非選択的受容体遮断薬TAK-044の効果を検討する目的で、選択的ET_A受容体遮断薬FR139317と選択的ET_B受容体遮断薬BQ-788を用い比較検討した。その結果、TAK-044は低濃度(10^{-7} M以下)ではFR139317存在下の反応と同様に、ET-1の低濃度のPIEを抑制し、高濃度でのPIEを増強した。一方、高濃度(3×10^{-7} 以上)のTAK-044はET-1のPIEを濃度依存的に抑制した。また、ET-3のPIEの反応をTAK-044は 3×10^{-9} M以上の濃度でFR139317存在下の反応と同様、濃度依存的に抑制した。一方、BQ-788(10^{-6} M)は低濃度のET-1のPIEを増強し、ET-3のPIEには影響を示さなかった。しかし、FR139317(10^{-6} M)とBQ-788(10^{-6} M)の共存状態ではET-1のPIEは全ての濃度で増強効果が示されたが、ET-3のPIEはこれら遮断薬の共存による影響はなく、FR139317単独時の反応とほぼ同程度の抑制反応を示した。

以上より、TAK-044はET-1及びET-3によるPIEを濃度依存的に抑制するが、ET-1のPIEよりもET-3のPIEをより効果的に抑制する(30~100倍)ことが判明した。すなわちET-1のPIEに混在する陰性変力作用に関与する受容体サブタイプの遮断作用の影響により、TAK-044はET-1のPIEに対する抑制には、ET-3の場合よりも高濃度を必要とすることの起因性を明確に示唆した。

同君の論文はET受容体に対する各種遮断薬の効果を比較し、TAK-044の作用機序を薬理学的手法により詳細に研究しており、極めて説得力のある論文であると審査委員会では評価した。そこで、審査委員会は、本研究は博士(医学)の学位を受けるに値するものであると判定した。

(1,200字以内)