The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Sphingosine 1-Phosphate (S1P) Regulates Vascular Contraction via S1P3 Receptor : Investigation Based on a New S1P3 Receptor Antagonist
Author(s)	村上, 晶
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58126
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【123】

氏　　名	村上　晶（むらかみ　あきら）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４４４５　号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学　位　論　文　名	Sphingosine 1-Phosphate (S1P) Regulates Vascular Contraction via $S1P_3$ Receptor:Investigation Based on a New $S1P_3$ Receptor Antagonist （$S1P_3$受容体を介したS1Pによる血管収縮の制御：新規$S1P_3$受容体拮抗薬を用いた検討）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　髙倉　伸幸 （副査） 教　授　目加田英輔　　教　授　岡田　雅人

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

Sphingosine 1-Phosphate (S1P) は血小板に多量に含まれる脂質メディエーターであり、血小板の活性化に伴い細胞外に放出される。S1P は 5 つの G 蛋白共役型受容体を介して、細胞遊走、血管新生及び心血管機能に影響を与える。S1P3 受容体は血管内皮細胞及び平滑筋細胞に多く発現し、血管の収縮性に関与することが報告されているものの、S1P3 受容体に選択的な拮抗薬が無かったことから詳細な検討はなされていなかった。本研究では新規に創出された S1P3 受容体拮抗薬 TY-52156 の in vitro における特性及び in vivo での有用性を明らかにするとともに、血管収縮反応における S1P3 受容体の役割について検証した。

〔　方　　法　〕

S1P による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇、又は細胞膜画分への GTP 結合増加に対する TY-52156 の効果は、Ca^{2+} 蛍光指示薬 (fura2)、又はユーロピウムラベル GTP を用いて評価した。

冠血流量に対する薬剤の評価では、male SD rat (300-350 g) の摘出心を用いた。受容体拮抗薬は S1P (0.1 uM) 処理の 10 min 前から灌流を行い、S1P 投与中も継続して灌流させた。

摘出血管に対する薬剤の評価では、ビーグル犬より摘出した脳底動脈を用いた。S1P (5 uM) による血管収縮反応が定常状態に達した後、10 min ごとに TY-52156 を累積投与 (1-10 uM) することで、TY-52156 による血管弛緩反応を評価した。

S1P 受容体作動薬 (FTY-720) 誘発の徐脈に対する TY-52156 の効果では、male SD rat (290-340 g) を用いた。TY-52156 (10、30 mg/kg) は FTY-720 (1 mg/kg i.v.) を投与する 4 時間前に経口投与した。心拍数への影響は、FTY-720 投与前及び投与後 10 及び 20 min で評価した。

〔　成　　績　〕

TY-52156 の S1P3 受容体に対する拮抗作用は、S1P4 受容体と比較し約 10倍、S1P1、S1P2 及び S1P5受容体と比較し約 100 倍強力であり、その Ki 値は 110 nM であった。

In vitro ラット摘出心を S1P で処置すると冠血流量が低下する。そこで、S1P によるラット冠血流量低下作用に対する S1P1、S1P2 又は S1P3 受容体拮抗薬の効果を検証した。その結果、TY-52156 のみ有意な拮抗作用を示したことから、S1P3 受容体が冠血流量の低下に主に寄与することが判明した。また、TY-52156 はイヌ摘出脳底動脈を用いた S1P による血管収縮反応に対しても濃度依存的な寛解作用を示した。

血管収縮反応には細胞内Ca^{2+} 濃度の上昇及び Rho の活性化が重要である。そこで、ヒト冠動脈平滑筋細胞を用い、S1P1、S1P2 又は S1P3 受容体拮抗薬のこれら因子への影響を検証した。その結果、TY-52156は両シグナルの活性化を有意に抑制したが、S1P1 又は S1P2 受容体拮抗薬はそれぞれ細胞内Ca^{2+} 濃度の上昇又は Rho の活性化のみを有意に抑制した。

S1P3 受容体の活性化は心房での KAch チャネルを活性化させ徐脈作用を示す。そこでラットを用い、FTY-720 誘発徐脈作用に対する TY-52156 の効果を検証した結果、TY-52156 は濃度依存的に本作用を解除した。

〔　総　　括　〕

血管収縮反応における S1P3 受容体の役割を明らかにするため、S1P3 受容体拮抗薬である TY-52156 を用いた検討を実施した。その結果、S1P3 受容体は細胞内 Ca^{2+} の上昇及び Rho の活性化を介して血管収縮反応を示すことが示唆された。S1P3 受容体は血管収縮性（冠、脳血管疾患など）の疾患に寄与する可能性がある。TY-52156 はこれら疾患への S1P3 受容体の寄与を明らかにする有用なツールになるとともに、有用な治療薬となる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

スフィンゴシン 1 リン酸（S1P）は S1P3 受容体を介して血管収縮に関与するが、選択的阻害剤が無かった事から詳細な検討がなされてなかった。申請者は新規に選択的 S1P3 受容体拮抗剤を創出し、S1P による冠血流量低下作用に S1P3 受容体を介した細胞内 Ca^{2+} の上昇及び Rho の活性化の両方が必要であることを示した。S1P3 受容体が血管収縮性の疾患に寄与することが証明され、本剤が各種疾患での S1P3 受容体の役割を明らかにする有用なツールになるとともに治療薬となる可能性があることを提唱できた。

申請者は博士課程2年時にトーアエイヨー（株）に滞在し、重要な実験方法を取得し、研究を飛躍的に進めることができた。本研究で重要な部分を占める血管収縮への影響を評価する Ca^{2+} flux assay、Rho の活性評価及び摘出心を用いた冠血流量評価は自身で修得した方法論であり、これをうまく利用して本研究につなげたことは、申請者の高い応用力を示すものである。

当研究室に所属して、3年あまりの短い期間に英語論文として、海外誌に受理されたことは、申請者の優れた資質を示すものであり、博士（医学）の学位授与に値する。