

Title	Protease-activated receptor-4 (PAR4) variant influences on platelet reactivity induced by PAR4-activating peptide through altered Ca ²⁺ mobilization and ERK phosphorylation in healthy Japanese subjects
Author(s)	森川, 陽一郎
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/70655
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"> 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 森川 陽一郎

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授	金倉 護
	副 査 大阪大学教授	下村 伸一郎
	副 査 大阪大学教授	奥本 宏実

論文審査の結果の要旨

トロンピンは血栓形成において血小板活性化を誘導する重要なアゴニストの一つであり、血小板表面に発現するトロンピン受容体 (Protease activated receptor) を介してシグナルを誘導する。ヒト血小板にはPAR1、PAR4の二つが発現し、PAR1が主たる受容体と考えられているが、一方のPAR4の役割は明らかとなっていない。論文では、まずPAR4刺激による血小板反応性の個人差からPAR4遺伝子解析を行いSNP(rs773902)を同定した。SNP(rs773902)が血小板機能に与える影響については不明であるため詳細に検討を行い、SNP(rs773902)がPAR4刺激による血小板反応性(血小板凝集、インテグリン α IIb β 3活性化、顆粒放出)に影響することを示している。また細胞内シグナルに着目し、PAR4刺激によるGqを介したシグナルはSNP(rs773902)との関連を認めしたが、G₁₃を介したシグナルは関係を認めないことを示した。PAR4発現細胞を用いた実験を行い、Gqを介したシグナルがSNP(rs773902)の影響をうけることを証明している。本論文では臨床的な切り口からSNPと血小板反応性との関連を詳細に検討しており、PAR4刺激による細胞内シグナルとSNP(rs773902)との関連が経路によって異なることを示した最初の報告であることから、学位論文に値すると考えられる。

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	森川 陽一郎
論文題名 Title	Protease-activated receptor-4 (PAR4) variant influences on platelet reactivity induced by PAR4-activating peptide through altered Ca ²⁺ mobilization and ERK phosphorylation in healthy Japanese subjects (トロンビン受容体PAR4遺伝子多型はCa ²⁺ 動員、ERKリン酸化を通じて血小板反応性に違いをもたらす)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 トロンビンは血栓形成の場で血小板活性化を誘導する重要なアゴニストの一つであり、血小板表面に発現するトロンビン受容体 (Protease activated receptor) を介してシグナルを誘導する。PARの4つのサブタイプのうち、ヒト血小板にはPAR1、PAR4の二つが発現し、刺激後速やかにシグナルを誘導するPAR1が主たる受容体と考えられているが、一方のPAR4の役割は明らかとなっていない。PAR3とPAR4を発現するマウス血小板はヒト血小板と異なる受容体システムを有し、マウスの知見の応用は困難なためヒト血小板を用いた解析が重要である。今回我々は健常人におけるPAR4刺激時の血小板凝集反応の個人差より見出したPAR4遺伝子多型 (p. Ala120Thr) に着目し、このPAR4多型が血小板活性化におよぼす影響について詳細に検討を行った。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 健常人202名の全血からDNA採取を行いPAR4遺伝子多型 (p. Ala120Thr) の解析を行ったところ、120Thr/Thr、Thr/Ala、Ala/Alaがそれぞれ5.9、37.1、57.0%の割合であった。PAR4アゴニストにより誘導される血小板凝集について詳細な検討を行ったところ、120Thr/Thr血小板では他の多型と比較して有意に低濃度のPAR4アゴニストにより不可逆的な血小板凝集を認めたが、PAR1刺激による血小板凝集とp. Ala120Thrとの関連は認めなかった。フローサイトメトリーを用いた検討を行い、120Thr/Thr血小板では低濃度PAR4アゴニスト刺激による血小板内Ca ²⁺ 動員、インテグリン α Ibb3活性化、血小板顆粒放出をより強く認めたが、PAR1アゴニスト刺激ではp. Ala120Thrによる違いは認めなかった。PAR4刺激により惹起されるERKおよびMLCリン酸化についてウエスタンブロッティングを用いて検討したところ、120Thr/Thr血小板ではPAR4低濃度刺激によるERKリン酸化をより強く認めたが、PAR4刺激によるMLCリン酸化では多型による差異は認めなかった。次にPAR4発現293T細胞を用いてフローサイトメトリーを用いて検討したところ、PAR4-120Thr発現293T細胞ではPAR4アゴニスト低濃度刺激による細胞内Ca ²⁺ 動員、ERKリン酸化をより強く認めた。	
〔総括(Conclusion)〕 日本人血小板を用いた検討結果より、PAR4多型p. Ala120ThrがPAR4刺激による細胞内Ca ²⁺ 動員・ERKリン酸化に差異を及ぼし、血小板凝集に影響することが示された。	