HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Interactions between bradykinin and plasmin in the endothelial Ca2+ response

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-09-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小幡, 由佳子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003394

博士（医学）　小幡　由佳子

論文題目

Interactions between bradykinin and plasmin in the endothelial Ca^{2+} response
（血管内皮細胞内カルシウム応答におけるブラジキニン-プラスミン間相互作用）

論文の内容の要旨

［はじめに］

プラスミンはセリンプロテアーゼの一種で、線溶系因子としての作用だけでなくプロテアーゼ活性化受容体（PARs: protease-activated receptors）を活性化して一酸化窒素やプロスタサイクリンなどの血管内皮由来弛緩因子（EDRF: endothelium-derived relaxing factor）を産生し、これらの EDRF の産生は内皮細胞内カルシウム濃度の変化により調節されている。ブラジキニンは血管作動物質として知られ、プラスミンと同様に血栓や炎症などの病態生理に関与しており、血管内皮機能調節においてブラジキニンーープラスミン間に相互作用が存在する可能性が考えられる。そこで本研究では血管内皮細胞内カルシウム応答におけるブラジキニンーープラスミン間の相互作用について検討した。

［材料ならびに方法］

実験対象として初代培養ブタ下行大動脈血管内皮細胞を用い、細胞内カルシウム濃度の変化は fura-2/AM 蛍光色素を用いて励起波長 340 nm 及び 380 nm、蛍光波長 510 nm で測定し強度比(F340/380)を比較した。刺激物質として、プラスミン、ブラジキニンを用いた。プラスミンの細胞内カルシウム上昇メカニズムを探るためセリンプロテアーゼ阻害薬のガベキセートメシレートを用いた。ブラジキニンのプラスミン抑制メカニズムを探るため、サプシガルジン、ブラジキニンフラグメントによる刺激を行った。

［結果］

①プラスミン（0.15- 15 μg/ml）は濃度依存性に細胞内カルシウム濃度を上昇させた。

②セリンプロテアーゼ阻害薬のガベキセートメシレートはプラスミン誘発性カルシウム応答を完全に抑制し、続いてガベキセートメシレートとプラスミンを洗浄除去し再度プラスミンを投与するとカルシウム上昇が観察された。

③プラスミン投与後に洗浄し再度プラスミンを投与してもカルシウム応答が見られなかった。

④ブラジキニンの先行投与は濃度依存性にプラスミン（15 μg/ml）誘発性カルシウム応答を抑制したが、プラスミンの先行投与はブラジキニン誘発性カルシウム応答に影響しなかった。

⑤ブラジキニン先行後にプラスミンを追加投与してもカルシウム上昇は見られず、続いてブラジキニン・プラスミン洗浄後に再度プラスミンのみを投与してもカルシウム反応は見られなかった。

⑥サプシガルジン（小胞体 Ca^{2+}- ATPase 阻害薬）誘発性カルシウム応答に対しブ

ラジキニンは全く作用しなかった。
⑦ブラジキニンの分解産物である Bradykinin fragment 1-5、Bradykinin fragment 1-7、Bradykinin fragment 2-9 にはプラスミン誘発性カルシウム応答に対する抑制作用は見られなかった。
［考察］
　この研究では、血管内皮細胞において PARs を介したプラスミン誘発性カルシウム応答がブラジキニンによって制御されていることが明らかとなり、そのメカニズムについて検討した。
結果②のプロテアーゼ阻害薬のガベキセートメシレートがプラスミン誘発性カルシウム応答を完全に抑制し、洗浄後にプラスミンを再投与するとカルシウム上昇が観察されたことから、プラスミン誘発性カルシウム応答はプラスミンの蛋白分解作用を介したものと考えられ、結果③のプラスミン誘発性カルシウム応答が不可逆的であったことは一回目のプラスミン投与によって PARs の N 末端が切断されてしまったためと思われる。
結果④で示されたプラスミン誘発性カルシウム応答に対するブラジキニンの抑制作用は、結果⑤のブラジキニン・プラスミン洗浄後にプラスミンを投与してもカルシウム上昇が起こらなかったことから、ブラジキニンはプラスミンによる PARs の N 末端切断を阻害せず、PARs の N 末端切断以降から始まるシグナル伝達を抑制したと思われる。更に、小胞体 Ca^{2+}-ATPase 阻害薬であるサプシガルジンによるカルシウム反応はブラジキニンによって全く影響を受けなかったことから、プラスミン誘発性カルシウム応答に対するブラジキニンの抑制作用は、PARs の N 末端切断以降の G 蛋白活性から小胞体のイノシトール 3 リン酸受容体活性までのシグナル伝達を抑制したものと考えられる。
細胞内カルシウム濃度の変化が血管内皮細胞の特殊な機能と関与していることは既に分かっている。血管内皮細胞内カルシウム濃度の上昇は EDRF の一つで血管拡張作用のある一酸化窒素やプロスタサイクリンを増加させる。また細胞内カルシウムの過剰な負荷が血管透過性の亢進を引き起こす。ブラジキニンとプラスミンは共に炎症の場で現れ、血管内皮の細胞内カルシウム濃度上昇による内皮依存性血管拡張と血管透過性亢進を引き起こす可能性がある。しかし、本研究においてブラジキニンはプラスミン誘発性カルシウム応答を抑制するが、ブラジキニン誘発性カルシウム応答はプラスミンによって抑制されなかった。つまり、細胞内カルシウム濃度変化を介した血管内皮機能への作用においてブラジキニンがプラスミンの作用を制御していることが示唆される。
［結論］
　炎症や血栓形成などの局所の病態生理において、ブラジキニンはプラスミンによる血管内皮細胞内カルシウム応答を制御し、細胞内カルシウム上昇やカルシウム過負荷によって生ずる EDRF 過剰産生、内皮透過性亢進などを抑制する可能性がある。