

論文審査要旨

工学院大学化学応用学専攻
博士論文審査委員会

主査 今村 保忠

副査 小山 文隆

副査 南雲 紳史

論文題目： プラスミンの新規生理的機能の解析：止血と血管新生の制御への関与

申請者： 富樫 兼史

(工学研究科化学応用学専攻博士後期課程 BD17004)

血管は、体のすみずみの組織まで酸素や栄養分を送るライフラインである。血管の損傷により出血した場合、個体の生存に関わるため、止血が起きる。日本人の3大死因のうち、心疾患、脳血管疾患は、止血、血管が関与するものである。また、ケガによる組織の損傷によって、組織が虚血状態に陥ると、それを解消するために既存の血管から新しい血管が形成される。新しく血管ができる過程を血管新生と呼び、創傷治癒や成長などの生理現象を可能にする極めて重要な過程である。血管新生は、がん組織の形成などの病態にも関係する。すなわち、止血や血管新生などによる血管の恒常性維持やその破綻のメカニズムを解明することは、健康、長寿などに関わる重要な社会的課題である。

このような背景のもと、申請者は、血液中のタンパク質分解酵素であるプラスミンが、止血や血管新生という生体反応において、新規な役割を果たしうることを示した。

申請論文は5章で構成される。

第1章では全体の序論として、止血のしくみ、プラスミンの生理的機能を示した後、血管新生のプロセス、血管形成と基底膜の関係の知見を述べている。また、プラスミンの血管新生への関与の仮説や、3本らせん構造をとらないポリペプチド鎖など、研究課題に関連する最新の情報を整理して示した。そして、本研究の目的とその意義を述べている。

第2章では、血漿中において、プラスミンが過剰に活性化される状況では、プラスミンがフォン・ヴィレブランド因子多量体を切断し、止血に抑制的に作用することを示した。また、フィブリンの前駆体であるフィブリノーゲンがプラスミンによる切断を受け、フィブリン凝集体形成の阻害を通じて、止血を抑制することを示した。血漿は血液中の細胞などの固相成分以外の液体成分であり、この中での反応は生体中での反応に極めて近いと考えられている。実際に、このような状況は、出血性疾患の後天性フォン・ビレブランド症候群患者の血液の分析結果と類似していることを指摘した。この疾患は、血小板、凝固因子、線溶などの因子が複合した異常であるが、本研究ではその機序の1つを明らかにしたと考えられる。

第3章および第4章では、NTH $\alpha 1$ (IV)と血管新生の関わりについての研究がなされた。NTH $\alpha 1$ (IV)は、3本らせん構造をとらないコラーゲンポリペプチド鎖 (non-triple helical collagen polypeptide(NTH)) の1つである。コラーゲンは3本のポリペプチド鎖が3本らせん構造を持つ分子とされる。NTH $\alpha 1$ (IV)は、血管の裏打ちとなる基底膜の主要な構成成分のIV型コラーゲンを構成する遺伝子 COL4A1 の翻訳産物でありながら、3本らせん構造をとらない分子として生理的条件下で分泌される。第3章では、NTH $\alpha 1$ (IV)が、血管内皮細胞の細胞間結合を弱め、細胞遊走を促して、血管新生を促進しうることを発見した。血管内皮細胞の細胞間結合は、細胞膜上のVE-カドヘリンとよばれる膜タンパクが、隣の細胞の同種タンパクと結合することで起こる。NTH $\alpha 1$ (IV)は、VE-カドヘリンを細胞内へ取り込むこと (エンドサイトーシス) で、細胞間の結合を弱め、それによって細胞の束縛を解放し遊走を促進すると指摘した。NTH $\alpha 1$ (IV)のこのような細胞への作用については、本研究で初めて明らかになった。

第4章では、NTH $\alpha 1$ (IV)の細胞膜上の受容体として、Endo180を指摘した。NTH $\alpha 1$ (IV)がEndo180に結合し、Endo180と一緒にエンドサイトーシスされることを契機として、細胞間結合が抑制されるとする考えを提案した。また、NTH $\alpha 1$ (IV)は、Endo180のエンドサイトーシスを引き起こすことによって、プラスミンの活性化にも関与する可能性が示された。NTH $\alpha 1$ (IV)自体は、腫瘍環境で産生が亢進することから、血管新生の促進を伴うがん組織の増殖にも関係することを指摘している。


第5章では、本研究のまとめを述べた。本研究で、プラスミンと止血や血管新生との関わり的一面が明らかになった。この結果は、出血性疾患の機序の解明や、がんなど血管新生が関与する疾患の治療法の開発へつながると述べている。また、本研究で示すプラスミンのように、1つの因子を軸として研究することは、さまざまな要因が複合して起こるがんなど疾病を、総合的に理解する上で有効な方法論であると考察している。

以上、これらの成果は、工学領域、特にバイオテクノロジーへの展開において、基礎となると期待される。本論文は基礎医学や生化学の領域における新しい知見を記載したものであり、一定の成果があると評価される。

よって、本論文は、博士(工学)の学位請求論文として十分な価値があるものと認められる。

2022年2月10日

論文審査報告

東京大学名誉教授、瀋陽薬科大学客員教授
林 利彦 

論文題目： プラスミンの新規生理的機能の解析:止血と
血管新生の制御への関与

申請者： 富樫 兼史

本研究は、血管の損傷部位に、出血を止めるべく、形成されたフィブリンを溶解する作用を持つプラスミンが、新規の生理的機能を有することを示したものである。

申請論文は5章からなる。第1章(序章)ではプラスミンについて、フィブリンを溶解する以外の作用を有する本研究の目的を説明している。

第2章ではプラスミンが構造変化した止血因子VWF多量体およびフィブリノーゲンを切断し、止血能力を低下させることを明らかにした。プラスミンが一次止血および二次止血の機能を低下させ、止血障害を引き起こす可能性を示した。

第3章ではIV型コラーゲンの非三重ラセンコラーゲン遺伝子産物、NTH α 1(IV)が血管内皮細胞間の結合を抑制し、遊走を促進させることを示した。血管新生の初期段階では、血管内皮細胞間の細胞間結合が抑制されて、発芽伸長が起きる。NTH α 1(IV)が内皮細胞間結合に影響を及ぼすことを見出した。精製したNTH α 1(IV)を、血管内皮細胞の培養系に添加すると、VE-カドヘリンのエンドサイトーシスが誘導され、細胞間結合が低下し、細胞間にギャップが出現し、さらに血管内皮細胞の遊走を促進することを見出した。このような作用がNTH α 1(IV)の血管新生に対する寄与であると結論した。

第4章ではNTH α 1(IV)の投与で、血管内皮細胞間の結合が弱まるのはEndo180の細胞膜上からの消失によることを示した。Endo180はコラーゲンのエンドサイトーシス受容体であるので、NTH α 1(IV)の受容体となっている。一方、Endo180はプラスミンを活性化させるウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子とその受容体と結合し、三量体を形成しており、細胞膜上からEndo180が消失すると、プラスミン活性化の効率が上がる。NTH α 1(IV)がEndo180を介して血管新生に寄与し、同時にプラスミンの活性化を促進する。

第5章は以上の研究成果を総括し、将来の見通しを考察している。

プラスミンの生理的、病理的関与が広範囲にわたることを明らかにした。NTH α 1(IV)の血管新生への関わりを具体的に示した。本研究の内容は高く評価できる。よって、本論文は博士(工学)の学位授与に相応しいと結論する。

令和3年2月15日

審査報告書

論文題目 プラスミンの新規生理的機能の解析：止血と血管新生の制御への関与
申請者 富樫兼史

本学位論文は、これまで線溶系の主要因子としてのみ考えられてきた血液中に存在する蛋白分解酵素であるプラスミンの新しい機能として、フォンビルブランド因子多量体を基質とすることをタンパク化学的に見事に証明した研究、および、基底膜の主要構成成分であるIV型コラーゲンを構成するポリペプチド鎖の一つであるCOL1A4遺伝子産物がコラーゲン特異的な三重螺旋をまかない状態で安定に細胞外に分泌されることに着目して、その血管内皮細部に対する影響を培養系で評価した研究とから構成されている。どちらも非常に精緻にタンパク化学的手法、細胞生物学的手法を駆使しており、博士研究論文として申し分のない成果となっている。

また、今後、モデル動物実験や、ヒト患者血液、がん組織などの検体を評価することで、本研究の医学的意義がよりいっそう具体的に明らかとなり、その成果の医療応用が現実のものとなることを大いに期待している。

東京女子医科大学
先端生命医科学研究所
教授 大和雅之

