

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 東郷 眞子

本研究は、生体内ではもっとも強力な血小板活性化物質であるトロンビンによる血小板活性化時の細胞内カルシウム濃度調節のメカニズムについて、特に細胞内カルシウム濃度上昇に引き続く減少のメカニズムについて検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. fura-2 AM を負荷した血小板に 0.5 mM EGTA 下でトロンビンを投与した時に認められる、細胞内カルシウム濃度の急激な増加とその後の緩徐な減少という変化が、トロンビンの受容体への結合に依存したトロンビン特異的なものである事が示された。
2. thapsigargin を用いた検討から、この緩徐な減少が、トロンビンによって Sarco/endoplasmic reticulum Ca-ATPase (SERCA)活性が抑制され、細胞質内カルシウムの細胞内貯蔵部位への再取り込みが阻害されているためである可能性が示された。
3. ミオシン軽鎖リン酸化酵素阻害薬で phosphatidylinositol 3-kinase 阻害薬でもある wortmannin を用いた検討により、トロンビンによる SERCA 阻害がミオシン軽鎖のリン酸化を介するものである可能性が示された。
4. wortmannin はミオシン軽鎖のリン酸化を介して細胞内カルシウム濃度減少を促進する作用を有し、これは、phospholipase C 活性に作用して inositol triphosphate 濃度を低下させる事によるものであることが報告された。しかし、この phospholipase C 活性に対する作用は細胞内カルシウム濃度の減少による二次的なものであると考察された。

細胞活性化時の細胞内カルシウム濃度上昇に引き続く減少の機序については、これまで検討される事が比較的少なかった。これを、各種阻害薬を効果的に使用して検討し仮説を立てている。inositol triphosphate 濃度測定、phospholipase C $\beta$  活性測定および phospholipase C $\beta$  蛋白のウェスタンブロット解析については、二次的現象と考察されてはいるが、実験自体は十分な検討の上に細心の注意を払ってなされており、その点は評価できる。以上により本論文は学位の授与に値

するものと考える。