

# 生理学第二

## 1 構 成 員

	平成 14 年 3 月 31 日現在
教授	1 人
助教授	1 人
講師（うち病院籍）	0 人（ 人）
助手（うち病院籍）	2 人（ 人）
医員	0 人
研修医	0 人
特別研究員	0 人
大学院学生（うち他講座から）	1 人（ 1 人）
研究生	2 人
外国人客員研究員	0 人
技官（教務職員を含む）	0 人
その他（技術補佐員等）	1 人
合 計	8 人

## 2 教官の異動状況

浦野 哲盟（教授）（期間中現職）

最上 秀夫（助教授）（H13.7.31 群馬大学生体調節研究所助手 H13.8.1 浜松医科大学医学部助教授）

井原 勇人（助手）（期間中現職）

鈴木 優子（助手）（H13.12.31 西岸クリニック医師 H14.1.1 浜松医科大学医学部助手）

## 3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 13 年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	8 編（0 編）
そのインパクトファクターの合計	30.9
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0 編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	1 編（1 編）
そのインパクトファクターの合計	0
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1 編（1 編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編（ 編）
そのインパクトファクターの合計	0
(6) 国際学会発表数	0 編

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Ihara, H., Urano, T., Takada, A. and Loskutoff D. J. (2001) Induction of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene expression in adipocytes by thiazolidinediones. FASEB J. 15 (7): 1233-1235.
2. Nagai, N., Yamamoto, S., Tsuboi, T., Ihara, H., Urano, T., Takada, Y., Terakawa S. and Takada, A. (2001) Tissue-type plasminogen activator enhances neuronal death induced by oxygen-glucose-deprivation in culture. J Cereb Blood Flow Metab. 21 (6): 631-634. .
3. Urano, T., Ihara, H., Umemura, K., Suzuki, Y., Oike, M., Akita, S., Tsukamoto, Y., Suzuki, I. and Takada, A. (2001) The profibrinolytic enzyme subtilisin NAT purified from *Bacillus subtilis* cleaves and inactivates plasminogen activator inhibitor type 1. J Biol Chem 276 (27): 24690-24696.
4. Takahashi, H., Takada, Y., Urano, T., Takada, A. (2001) Dissociation of systemic and hippocampal modulation of rat locomotor activity by 5-HT (2C) receptors. (2001) Neurosci Res. 40 (1): 97-103.
5. Pawlak, R., Napiorkowska-Pawlak, D., Takada, Y., Urano, T., Nagai, N., Ihara, H., Takada, A. (2001) The differential effect of angiotensin II and angiotensin 1-7 on norepinephrine, epinephrine, and dopamine concentrations in rat hypothalamus : the involvement of angiotensin receptors. Brain Res Bull. 54 (6): 689-694.

インパクトファクターの小計 [26.108]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

1. Konno, H, Abe, J, Kaneko, T, Baba, M, Shoji, A, Sunayama, K, Kamiya, K, Tanaka, T, Suzuki, S, Nakamura, S, Urano, T. (2001) Urokinase receptor and vascular endothelial growth factor are synergistically associated with the liver metastasis of colorectal cancer. Jpn J Cancer Res. 92 (5): 516-523.
2. Yoshino, A, Suzuki, K, Urano, T, Aoki, K, Takada, Y and Takada, A (2002) Enhanced secretion of tissue plasminogen activator by simultaneous use of retinoic acid and ascorbic acid from tissue cultured gastroepiploic artery. Life Sciences 70, 1461-1470.

インパクトファクターの小計 [3.936]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Aoki, K, Aikawa, N, Sekine, K, Yamazaki, M, Mimura, T, Urano T and Takada, A. (2001) Elevation of plasma free PAI-1 levels as an integrated endothelial response to severe burns. Burns 27, 569-575.

インパクトファクターの小計 [0.856]

## (2) 論文形式のプロシーディングズ

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

## (3) 総 説

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
  - 1. 浦野哲盟 合成基質を用いた酵素反応の解析：セリン酵素による酵素前駆体の活性化およびインヒビターとの反応の解析（2000）血液・腫瘍科 Vol 40 suppl. 3 p.273-281
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

## (4) 著 書

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
  - 1. 浦野哲盟「線溶活性化酵素」新運動生理学（宮村実晴編）真興交易医書出版部，上巻 280 287，2001
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

## (5) 症例報告

- A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの
- B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

## (6) 国際学会発表

- 1. Takahashi, H., Urano, T., Takada, Y., Takada, A (2001) Progressing stroke and anti-phospho-

lipid syndrome or lowered protein S activity. Asia Hematology Session in 63th Congress on Japanese Society of Hematology. April Nagoya

2. Pawlak, R., Nagai, N., Ihara, H., Takada, A., Urano, T. (2001) The hippocampus-dependent learning was impaired in tPA<sup>-/-</sup> mice and was partially restored by limited intrahippocampal delivery of tPA. The Second ASO International Meeting (AIM) May, Kyoto
3. Urano, T., Ihara, H., Umemura, K., Oike, M., Akita, S., Tsukamoto, Y., Takada, Y. and Takada, A. (2001) The profibrinolytic enzyme subtilisin nat purified from bacillus subtilis cleaves and inactivates plasminogen activator inhibitor type 1. XVIIIth International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Paris, France
4. Takahashi, H., Urano, T., Takada, Y. and Takada, A. (2001) Progressing stroke may be induced by hypercoagulability associated with antiphospholipid syndrome or lowered protein s activity. XVIIIth International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Paris, France
5. Umemura, K., Matsuda, A., Nakamura, R., Kondo, K., Ishibashi, S., Yagyuu, H. and Urano, T. (2001) Increased plasma pai-1 concentration and accelerated neointimal thickening after endothelial injury in hypercholesterolemic mice lacking acyl coa:cholesterol acyltransferase 1. XVIIIth International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Paris, France
6. Ihara, H., Urano, T., Takada, A. and Loskutoff, D.J. (2001) PPAR- $\gamma$  ligand and insulin induce type-1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) gene transcription during adipocyte differentiation. XVIIIth International Congress on Thrombosis and Haemostasis, Paris, France
7. Mogami H (2002) Activation mechanism of protein kinase C by Ca<sup>2+</sup> signals and phosphorylation dynamics of its substrate in excitable cells. Calcium-Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease. Cavalese, Italy

#### 4 特許等の出願状況

	平成 13 年度
特許取得数 (出願中含む)	0 件

#### 5 医学研究費取得状況

	平成 13 年度
(1) 文部科学省科学研究費	2 件 (370 万円)
(2) 厚生科学研究費	0 件 ( 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0 件 ( 万円)
(4) 財団助成金	3 件 (350 万円)
(5) 受託研究または共同研究	0 件 ( 万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	3 件 (400 万円)

##### (1) 文部科学省科学研究費

基盤研究 C (2) 課題番号 13670040 (研究代表者 浦野哲盟) 230 万円「線溶系因子による細胞運動調節機構の細胞表面分子間反応の可視化による解析」

基盤研究 C (2) 課題番号 13670209 (研究代表者 井原勇人) 140 万円「レプチン受容体シグナルを介した PAI-1 遺伝子発現抑制機構の解明」

(4) 財団助成金

濱松科学技術研究振興会 科学技術試験研究助成「細胞表面分子間反応の可視化による線溶系因子の細胞運動調節機構の解析」(研究代表者 浦野哲盟) 50 万円

武田科学振興財団 医学系研究奨励「インスリン分泌機構におけるプロテインキナーゼ C の役割に関する再評価」(研究代表者 最上秀夫) 150 万円

武田科学振興財団 医学系研究奨励「脂肪細胞特異的転写因子相互作用による血栓危険因子 PAI-1 遺伝子発現調節の分子機構」(研究代表者 井原勇人) 150 万円

## 6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

## 7 学会活動

	平成 13 年度
(1) 特別講演・招待講演回数	1 件
(2) 国際・国内シンポジウム発表数	2 件
(3) 学会座長回数	2 件
(4) 学会開催回数	0 件
(5) 学会役員等回数	6 件

(1) 学会における特別講演・招待講演

浦野哲盟 (2001) 「阻血肢の血流改善への取り組み」最近の話題から, 第 9 回日本物理療法学会, 10 月, 浜松

(2) 国際・国内シンポジウム発表

浦野哲盟 (2001) 血液凝固と線溶のリンク: 凝固に伴う線溶活性増強機構, 第 9 回日本血管細胞生物学学会, 11 月, 福岡

浦野哲盟 (2002) 組織線溶活性の PAI-1 による制御, 第 12 回日本病態生理学会, 1 月, 松山

(3) 座長をした学会名

浦野哲盟 第 9 回日本血管細胞生物学学会シンポジウム

浦野哲盟 第 24 回日本血栓止血学会

(4) 役職についている学会名とその役割

浦野哲盟 日本血液学会 評議員

浦野哲盟 日本生理学会 評議員

浦野哲盟 日本血栓止血学会 評議員

浦野哲盟 日本血栓止血学会プログラム委員

浦野哲盟 日本臨床血液学会 評議員  
井原勇人 日本生理学会 評議員

## 8 学術雑誌の編集への貢献

	平成 13 年度
学術雑誌編集数	0 件

## 9 共同研究の実施状況

	平成 13 年度
(1) 国際共同研究	1 件
(2) 国内共同研究	1 件
(3) 学内共同研究	4 件

### (1) 国際共同研究

1. Francis J Castellino (米国ノートルダム大学) serine protease と serine protease inhibitor (SERPIN) の反応形式の解明

### (2) 国内共同研究

1. 山下光司 (静岡大学工学部) 抗血栓性カテーテルの開発

### (3) 学内共同研究

1. 鈴木昌八・中村 達 (第 2 外科) 肝再生時の Hepatocyte Growth Factor (HGF) の活性化と作用機序の解明
2. 今野弘之 (第 2 外科) 腫瘍増殖時の血管新生促進機構の解明
3. 梅村和夫 (薬理学) 脳梗塞後出血の機序の解明
4. 山本清二 (光量子センター) 神経細胞死における tPA の役割の解析

## 10 産学共同研究

	平成 13 年度
産学共同研究	1 件

1. 浜松フォトニクス 蛍光顕微測光装置の応用研究

## 11 受賞 (学会賞等)

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 活性化凝固因子による PAI-1 活性中和反応による線溶活性増強機構の解析

血管内の線溶活性は開始段階で tissue plasminogen activator (tPA) とその特異インヒビターである plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) により調節されており, total の線溶活性はこれらのバランスで決まることを報告してきた。PAI-1 は血漿中や細胞外基質の vitronectin と結合

すると、tPA 以外のセリン酵素とも反応し、高分子複合体をつくるかあるいは限定分解を受けて活性を無くし、tPA 活性が相対的に増強する。この事実を好中球エラスターゼ、factor Xa、トロンピンを用いて証明し、「凝固系の活性化に伴う線溶活性増強反応」の重要な機構であることを報告してきた。またトロンピンは正常血管内皮細胞上に発現する thrombomodulin に結合すると PAI-1 を不活化しないことも報告した。更に凝固系を阻害する活性化 protein C は、活性化凝固因子の産生を抑制することにより、本機構による凝固依存性線溶活性促進を抑制することが確認され、DIC 等の異常な線溶活性の発現に本機構が関与することが証明された。今後このような生理的な因子の影響を更に検討し、「血栓形成と溶解過程」における様々な空間的・時間的な場における本機構の関与を明らかにしたい。

(中村龍太<sup>1</sup>、稲葉圭介<sup>2</sup>、浦野哲盟)<sup>1</sup>薬剤部、<sup>2</sup>第2外科

## 2. 腫瘍の増殖・浸潤における線溶系因子の役割の解析

urokinase type plasminogen activator (uPA) はその特異受容体 (uPAR) を介して腫瘍細胞に結合し、腫瘍周囲のマトリックスタンパクを分解し腫瘍の浸潤を促進するとされている。臨床検体中の uPA、uPAR と uPA のインヒビターである PAI-1 及び PAI-2 の抗原量及び mRNA 量測定結果とその臨床データから、uPA 及び uPAR は、細胞増殖及び浸潤・転移の促進に、PAI-2 は抑制に働くことを報告してきた。しかし PAI-1 は予想に反し、これを促進する可能性が示唆された。これは最近 knock out mice で証明された、host の PAI-1 が移植腫瘍の浸潤と血管新生に必須であるという事実と合致する。ヒト大腸癌組織のマウス盲腸への同所移植による肝転移モデルでは、腹腔内へ投与した PAI-2 が肝転移を優位に抑制し、更に移植腫瘍の apoptosis を惹起するという結果が得られた。同じ uPA のインヒビターである PAI-1 と PAI-2 が相反する効果を示すことは興味深い。特定蛋白を蛍光標識することにより細胞表面上での蛋白相互の反応を解析し、細胞内信号伝達及び細胞機能との関連を更に解明したい。

(高橋毅<sup>1</sup>、鈴木一也<sup>1</sup>、田中達郎<sup>2</sup>、今野弘之<sup>2</sup>、鈴木優子、井原勇人、最上秀夫、浦野哲盟、)<sup>1</sup>第1外科、<sup>2</sup>第2外科

## 3. 血管新生における線溶系因子の役割の解析

血管新生を強く抑制するアンジオスタチンが、線溶系の主要な酵素の前駆体である plasminogen の分画であることが報告されている。また PAI-1 及び PAI-2 と同じ serine protease inhibitor superfamily (SERPINS) に属する antithrombin III (ATIII) の latent type にも血管新生抑制効果が示された。これらの生体内での産生部位及び方法は、その作用機序とともに詳細は不明である。我々も最近ヒト腫瘍組織中に plasminogen 分画が存在することを見いだした。今後その産生及び作用機序を明らかにしたい。

(寺田博文<sup>1</sup>、稲葉圭介<sup>1</sup>、今野弘之<sup>1</sup>、中村達<sup>1</sup>、井原勇人、最上秀夫、浦野哲盟)<sup>1</sup>第2外科

## 4. t-PA の中枢神経系の機能に関する研究

t-PA が神経の可塑性の形成にどのように関係しているかを t-PA knockout mice を用いて研究している。t-PA knockout mice は扁桃依存性の恐怖記憶の障害を引き起こす。また Glutamate に

よる神経細胞死にも tPA は関与しているらしい。NMDA receptor を介する  $Ca^{++}$  流入の修飾等を中心にしてその機構を解析している。

(山本清二<sup>1</sup>, 鈴木優子, 最上秀夫, 井原勇人, 浦野哲盟,) 光量子センター<sup>1</sup>

#### 5. 脂肪細胞特異的転写因子 PPAR- $\gamma$ および脂肪細胞分泌因子レプチンによる血栓危険因子 PAI-1 遺伝子の発現調節機構

我々は、生活習慣病における高 PAI-1 血症発症の原因のひとつとして、脂肪細胞分化の鍵分子である転写因子 PPAR- $\gamma$  が、PAI-1 遺伝子発現増強を来しているのではないかと考え、これについて検討して来た。今年度は、脂肪細胞で機能しうる転写因子群の相互作用によって PAI-1 遺伝子発現増強を来しているという分子機構を明らかにした。遺伝的肥満マウス ob/ob (レプチン遺伝子変異) と db/db (レプチン受容体遺伝子変異) の高度肥満マウスでは、どちらもレプチン受容体シグナル伝達系が機能せず、高 PAI-1 血症を呈することが報告されている。このレプチンが欠損している ob/ob マウスにリコンビナント・レプチンを投与し、血中 PAI-1 量並びに脂肪細胞での PAI-1 mRNA 発現に対する影響を検討した。レプチン投与 6 時間で、血中 PAI-1 はコントロールに比べて有意に減少した。また、これに呼応するように内臓脂肪組織並びに皮下脂肪組織において、コントロールに比べ、PAI-1 mRNA 量が有意に低下した。以上の事から、脂肪組織においてレプチン受容体シグナルを介する PAI-1 遺伝子発現抑制が認められた。

(井原勇人, 浦野哲盟)

#### 6. カルシウムシグナルによるプロテインキナーゼ C 活性化機構の解析

インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) の病態の中心一つは膵  $\beta$  細胞におけるインスリン分泌不全である。正常人ではグルコース濃度の上昇に対して、急峻な第一相と持続的に上昇する第二相からなる二相性のインスリン分泌パターンが見られるのに対し、NIDDM 患者ではこのパターンに異常があることが知られている。しかし、この分泌パターンの異常が細胞内シグナル伝達系のどのような異常に起因するかは依然として明らかになってはいない。現在、我々はインスリン分泌パターンの成り立ちをグルコースによるプロテインキナーゼ C の活性化の観点から検討している。

(鈴木優子, 浦野哲盟, 最上秀夫)

### 13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

### 14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

### 15 新聞、雑誌等による報道

1. 浦野哲盟「癌に挑む (5) : 栄養補給路を断つ兵糧攻め」シリーズ「生命科学の最先端」静岡新聞平成 13 年 6 月 16 日 夕刊