

生理学第二

1 構成員

	平成17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（0人）
助手（うち病院籍）	2人（0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）	4人（4人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	9人

2 教官の異動状況

- 浦野 哲盟（教授）（H13.4.1～現職）
 最上 秀夫（助教授）（H13.8.1～現職）
 井原 勇人（助手）（H5.4.1～現職）
 鈴木 優子（助手）（H14.1.1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成16年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	5編（0編）
そのインパクトファクターの合計	20.91
(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）	3編（3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（0編）
そのインパクトファクターの合計	0

(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. Urano T, Castellino FJ, Ihara H, Suzuki Y, Ohta M, Suzuki K, Mogami H. Activated protein

C attenuates coagulation-associated over expression of fibrinolytic activity by suppressing the thrombin-dependent inactivation of PAI-1. Journal of Thrombosis and Hemostasis 1, 2615-2620, 2003

2. Hryszko T, and Urano T. Activated Protein C enhances tPA-catalyzed Glu-plasminogen activation in the presence of poly-D-lysine. Thrombosis & Haemostasis 92(4), 891-2, 2004
3. Inaba K, Suzuki S, Ihara H, Sakaguchi T, Baba S, Urano T, Konno H, Nakamura S. Sexual dimorphism in endotoxin susceptibility after partial hepatectomy in rats. J Hepatol 42(5), 719-27, 2005

インパクトファクターの小計 [14.16]

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. Takahashi H, Nagai N and Urano T. Role of tissue plasminogen activator/plasmin cascade in delayed neuronal death after transient forebrain ischemia. Neuroscience Letters 381, 189-193, 2005
2. Bimodal role of conventional protein kinase C in insulin secretion from rat pancreatic bcells. Zhang H, Nagasawa M, Yamada S, Mogami H, Suzuki Y, and Kojima I. J. Physiol. 561 : 133-147, 2004

インパクトファクターの小計 [6.75]

(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. 鈴木優子, 浦野哲盟 : tPAと vascular biology 血管医学 Vol 6 (3) : 269-277, 2005
2. 鈴木優子, 浦野哲盟 : 血管内皮細胞による血栓形成・線溶の調節の基礎 分子血管病 Vol 6 (1) : 13-18, 2005

インパクトファクターの小計 [0]

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. 後藤信哉, 浅田祐士郎, 浦野哲盟, 藤井聡 : vascular biology からみた血栓・線溶系の基礎と臨床 6 (1) : 1-12, 2005

(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 : 「プラスミノゲン」「血液の事典」(平井久丸, 押味和夫, 坂田洋一編) pp.318-320, 朝倉書店

4 特許等の出願状況

	平成16年度
特許取得数 (出願中含む)	1件

1. 生体反応モニタリング方法 特願2005-050057

5 医学研究費取得状況

	平成16年度
(1) 文部科学省科学研究費	0件 (0万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	1件 (965万円)
(4) 財団助成金	1件 (60万円)
(5) 受託研究または共同研究	2件 (120万円)
(6) 奨学寄附金その他(民間より)	2件 (150万円)

(3) 他政府機関による研究助成

浜松医科大学学術研究プロジェクト 平成15-16年(2年間) 血管内皮細胞障害に伴う臓器機能不全発症のリアルタイムイメージングによる解析(研究代表者 浦野哲盟) 965万円

(4) 財団助成金

地域イノベーション促進研究開発事業(しずおか産業創造機構) 研究助成(研究代表者 浦野哲盟) 60万円

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	1件	1件
(3) 学会座長回数	1件	2件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	1件	9件
(6) 一般演題発表数	4件	

(1) 国際学会等開催・参加

1) 国際学会・会議等の開催

1. Urano T, International Organizing Committee, The Third Asian-Pacific Congress on Thrombosis and Hemostasis (Bangkok, Thailand), Oct. 14-16, 2004, 500 participants

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

1. Urano T, Takahashi T, Ihara H, Suzuki Y, Takada Y, Takada A, and Mogami H. : : Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) : The key molecule to regulate fibrinolysis in the vasculature. The Third Asian-Pacific Congress on Thrombosis and Hemostasis (Bangkok, Thailand), Oct. 14-16, 2004

4) 国際学会・会議等での座長

1. Urano T, The Third Asian-Pacific Congress on Thrombosis and Hemostasis (Bangkok,

Thailand), Oct. 14-16, 2004, 500 participants

5) 一般発表

口頭発表

1. Takahashi T, Suzuki K, Ihara H, Mogami H, Kazui, T, Urano T : Plasminogen activator inhibitor-1 promotes fibrosarcoma cell migration by modifying cellular attachment to vitronectin via $\alpha v \beta 5$ integrin. XVIIth International Congress on Fibrinolysis & Proteolysis, March 22, 2004, Melbourne (Australia)

ポスター発表

1. Urano T, Ihara H, Suzuki Y, Ohta M, Suzuki K, Mogami H : Coagulation associated enhancement of fibrinolysis through thrombin-dependent PAI-1 inactivation. XVIIth International Congress on Fibrinolysis & Proteolysis, March 22, 2004, Melbourne (Australia)
2. Urano T, Hryszko T, Inaba K, Ihara H, Suzuki Y, Mogami H : Nafamostat attenuated the impairment of fibrinolysis in animal sepsis model by suppressing the increase of plasminogen activator inhibitor type 1. The Xth Congress of the International Society of Hematology, Asian-Pacific Division Sept. 04, 2004, Nagoya (Japan)
3. Mogami H, Suzuki Y, Urano T and Kojima I. Glucagon-Like Peptide 1 Activates Protein Kinase C Through a Ca^{2+} -Dependent Phospholipase C Activation in Insulin-Secreting Cells. 65th American Diabetes Association Scientific Meeting, San Diego, USA

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

最上秀夫：82回日本生理学会

4) 座長をした学会名

浦野哲盟：第27回日本血栓止血学会

最上秀夫：第51回中部日本生理学会

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

1. 浦野哲盟 日本血液学会 評議員
2. 浦野哲盟 日本生理学会 評議員
3. 浦野哲盟 日本血栓止血学会 評議員
4. 浦野哲盟 日本血栓止血学会プログラム委員
5. 浦野哲盟 日本血栓止血学会誌編集委員
6. 浦野哲盟 日本血栓止血学会学術集会検討委員
7. 浦野哲盟 日本臨床血液学会 評議員
8. 最上秀夫 日本生理学会 評議員
9. 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

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	1件	0件

(1) 国内の英文雑誌の編集

浦野哲盟 Japanese Journal of Thrombosis and Hemostasis 編集委員

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

Urano T：1回 Cancer Letter（オランダ）

Urano T：1回 J Thrombosis Haemostasis（米国）

Urano T：3回 Thrombosis Res（オランダ）

Urano T：2回 Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology（米国）

Urano T：1回 Journal of Bioscience and Bioengineering（日本）

Mogami H：1回 Pfluger Archives（European Journal of Pharmacology）（ドイツ）

9 共同研究の実施状況

	平成16年度
(1) 国際共同研究	2件
(2) 国内共同研究	3件
(3) 学内共同研究	4件

(1) 国際共同研究

①Francis J Castellino（米国ノートルダム大学）2001～serine protease と serine protease inhibitor（SERPIN）の反応形式の解明

②Lars C Petersen（デンマーク，Novo Nordisk）2002 March～障害血管内皮での tissue factor の発現と活性化VII因子の結合機構の解明

(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

2. 小島 至（群馬大学細胞調節研究所細胞調節分野）インスリン分泌機構の解析

3. 永松信哉（杏林大学生化学）インスリン分泌の開口放出機構とPKC

(3) 学内共同研究

(ア) 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

(イ) 梅村和夫（薬理学）脳梗塞後出血の機序の解明

(ウ) 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

(エ) 土井松幸（集中治療部）手術侵襲時の凝固・線溶機能障害における遺伝子多型の関与

10 産学共同研究

	平成16年度
産学共同研究	2件

1. 地域イノベーション促進研究開発事業（しずおか産業創造機構）「人間のからだに優しい高機能性医用材料および環境適応型医薬品活性物質の研究開発」ジーマ株式会社
2. 浜松フォトリクス「超高感度 cell-based assay 装置の開発」

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 血管内皮障害に伴う臓器機能不全発症機構のリアルタイムイメージングによる解析

血管内皮が様々な刺激によって障害されると微小循環不全から臓器不全を来す。その主要な病態は、白血球や血小板などの血球成分と障害内皮細胞相互反応の結果開始される凝固及び炎症機転とされる。15年度より、生きた動物個体の血管を様々な方法で障害し、その障害血管内皮上での細胞の活性化及び細胞膜上での sequential な分子間反応を共焦点レーザー顕微鏡を用いて real time imaging で解析するプロジェクトを開始した。浦野と最上を中心として、今野弘之（第2外科）、金山尚裕（産婦人科）、梅村和夫（薬理）、小出幸夫（微生物）との共同研究である。レーザー照射による血管内皮細胞障害に伴う血栓形成を、Green Fluorescence Protein (GFP) 産生マウスで観察し、生体内における血小板凝集及び活性化、フィブリン沈着の観察に成功している。現在は3次元画像で解析しており、時間的・空間的解析が可能になった。その中で、凝集した血小板塊中において局在により血小板の活性化程度に差異があり、引き続き凝固系活性化の促進能が異なることが明らかになった。現在その機構の詳細を解析中である。

（林忠毅¹、最上秀夫、村上祐介²、鈴木優子、浦野哲盟）¹第2外科、²産婦人科

2. 活性化血小板上での凝固機転のリアルタイムイメージングによる解析

血小板の活性化により細胞表面に phosphatidyl serine (PS) が細胞表面に露出し、その上で凝固IX, X, prothrombin は効率的に活性化される。本研究では個々の血小板において、活性化に伴うPS発現、凝固因子の活性化をリアルタイムイメージングで解析するものである。血小板活性化に伴う細胞内カルシウム濃度の持続的な高値にリンクしたPS発現を、これに特異的に結合するGFP標識 annexin Vを用いることにより観察に成功している。現在これに特異的な受容体及び信号伝達機構を解析中である。

（村上祐介¹、最上秀夫、黒石重城²、林忠毅²、鈴木優子、浦野哲盟）¹産婦人科、²第2外科、³第2外科

3. 血管内皮細胞による線溶活性調節機構のリアルタイムイメージングによる解析

血管内皮細胞は強い抗凝固線溶活性を有するだけでなく、血栓溶解に関わる線溶活性を高く維持して血液の流動性維持に深く関わる。中心となるのは線溶の中心酵素である plasmin 産生に関わる tissue plasminogen activator (tPA) の内皮細胞における産生とその分泌である。本研究では蛍光標識 tPA をヒト臍帯静脈内皮細胞由来細胞株 (EA.hy926) に発現させ、その分泌動態と細胞表面における plasminogen 活性化機構をリアルタイムで解析するものである。現時点では、調

節性開口放出と、非調節（構成）性分泌があり、開口後の放出過程が緩徐（30～60秒）なことから分泌顆粒膜に結合因子が存在する可能性を示すデータを得ている。tPAは分泌顆粒開口時に既に結合蛋白に結合しており、細胞膜表面でのプラスミン生成がスタンバイの状態になっている可能性もあり現在検討を進めている。

（鈴木優子，最上秀夫，井原勇人，浦野哲盟）

4. 炎症後の臓器不全発症における凝固・線溶因子の役割の解析

炎症後の多臓器不全に凝固・線溶系が深く関わる。活性化凝固因子は微小血栓形成だけでなく、血管内皮の特異受容体を介しても病態の増悪に関わる。種々の遺伝子欠損動物を含めた動物モデルを用いてその病態発現機構を解析する。また、血管内の線溶活性を調節する plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) は炎症に伴い血中濃度が増加し、微小血栓形成の溶解を阻害して臓器不全に関わる。その発現増強機構を解析するとともに、これを抑える方策を検討する。合成小分子蛋白分解酵素阻害剤が炎症に伴うPAI-1の増加を抑制することを見だし、現在論文投稿中である。

（Tomasz Hryszko, 稲葉圭介¹, 春藤恭昌², 井原勇人, 浦野哲盟）¹第2外科, ²第1外科

5. 凝固に伴う線溶活性促進機構の解析：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

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PAI-1により調節されている。total の線溶活性はこれらのバランスで決まるが、PAI-1は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, トロンビンを用いて証明し、「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た。これよりDIC等の異常な線溶活性の発現に本機構が関与することを証明した。現在生理的に存在する修飾因子の影響を解析中である。

（Tomasz Hryszko, Iwona Chlebinska, 春藤恭昌¹, 鈴木優子, 井原勇人, 最上秀夫, 浦野哲盟）¹第1外科

6. 脂肪細胞分化と血栓危険因子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- γ が、PAI-1遺伝子発現増強促進する機構を提唱してきた。今年度は、脂肪細胞特異的転写因子であるPPAR- γ がPAI-1遺伝子発現調節部位にある非定型的結合部位を介して発現を増強するという分子機構を明らかにした。現在論文作成中である。

（井原勇人，浦野哲盟）

7. 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β細胞におけるインスリン分泌不全である。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。インスリン分泌にはプロテインキナーゼC（PKC）系、プロテインキナーゼA（PKA）系、カルモジュリン（CaM）系の3つの重要なシグナル系が関連しているが、その直接的なクロストークに関する報告はあまりされていない。今回インスリン産生細胞を用いてcAMP・PKA系によるPKC活性化機構を明らかにした。現在論文投稿中である。

（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

1. 血管内皮障害時の血栓形成及び溶解を生体内でリアルタイムイメージングにより解析する方法は、血管内皮細胞及び血流やこれに伴う shear stress という、生理的因子の影響の解析を可能にしている。血栓形成及びその溶解に大きく影響するこれらの存在下で個々の細胞間反応とこれに伴う分子間反応を経時的に3次元画像で解析することにより、生理的な空間的・時間的調節機構の解析が可能となった。またレーザー照射により限られた範囲の血管内皮細胞を障害することにより、周囲の正常細胞の影響も同一視野で解析可能である。血栓の増大の抑制や、その溶解に積極的に関与しているとされる正常血管内皮細胞の役割も、今後明らかにできるものと期待している。個々の細胞間同士の反応とこれに伴う信号伝達、更に細胞表面上での分子間反応の結果、血栓形成及びその溶解がおこる。これらの sequential な反応を詳細に解析することにより、その調節機構の破綻に伴う血栓症の有効な予防及び治療法が確立できると期待する。