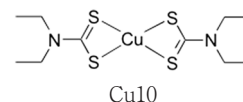


P-043 銅錯体による血管内皮細胞における線溶活性の抑制

○沖野 志織¹, 藤江 智也^{1,2}, 吉田 映子¹, 山本 千夏², 中 寛史³, 鍛冶 利幸¹
(¹ 東京理大・薬, ² 東邦大・薬, ³ 名大・物国セ)

【目的】血管内皮細胞は、血管の内腔を一層で覆っているcell typeであり、血管のトーン調節に寄与し、血液凝固・線溶系を調節する。線溶活性の調節は、内皮細胞が産生する組織型プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) およびその阻害因子PAI-1のバランスに依存する。しかしながら、内皮細胞における線溶活性の調節機構は未だ不明な点が多い。ジチオカルバメート銅錯体Cu10は有機-無機ハイブリッド分子であり、純粋な有機化合物や無機化合物とは異なる生物活性を有するため、当研究室では内皮細胞の様々な生体機能解析のツールとして活用してきた。本研究では、Cu10が内皮細胞の線溶活性に与える影響を解析した。



【方法】培養ヒト冠動脈内皮細胞をCu10で処理し、線溶活性をFibrin zymographyで、培地中のt-PAおよびPAI-1タンパク質発現量をELISA法で、t-PAおよびPAI-1 mRNAの発現を定量的 RT-PCR法によりそれぞれ解析した。

【結果および考察】内皮細胞にCu10を処理すると、Cu10の処理濃度依存的な線溶活性の低下が認められた。このとき、Cu10の処理濃度および時間に依存して培地へのt-PA分泌量が顕著に低下していたが、PAI-1の分泌量の減少は認められなかった。t-PAおよびPAI-1 mRNAの発現はCu10の濃度依存的に低下していたが、t-PA mRNAの低下がより顕著であった。Cu10による細胞の傷害は認められなかった。次に、このCu10によるt-PAおよびPAI-1の発現抑制作用がこのハイブリッド分子に特有の作用である可能性を、Cu10の構成要素である硫酸銅および配位子のジチオカルバメート、ならびにCu10の鉄置換体を用いて検討した。このうち、t-PAの分泌量を顕著に減少させたのはCu10だけであった。このことは、Cu10が銅錯体として内皮細胞のt-PA合成を阻害することを示唆している。線溶タンパク質の発現は、cAMP/PKA経路の活性化によって抑制されることが報告されている。そこでCu10による線溶活性の低下にcAMP/PKA経路が関与するかどうかを検討した。しかしながら、Adenylate cyclaseおよびPKAの阻害剤を処理しても、Cu10による培地へのt-PA分泌量の抑制は影響を受けなかった。以上の結果から、Cu10は内皮細胞の線溶系因子t-PAの発現を抑制することによって線溶活性を低下させる銅錯体であることが明らかになった。このCu10によるt-PA合成の抑制は、従来のcAMP/PKA経路とは異なる経路に介在されることが示唆された。このことは、Cu10が内皮細胞の新しい線溶系制御機構を解明するためのツールとして有用であることを示唆している。

Suppression of the fibrinolytic activity by a copper complex in cultured vascular endothelial cells

○Shiori Okino¹, Tomoya Fujie^{1,2}, Eiko Yoshida¹, Chika Yamamoto², Hiroshi Naka³, Toshiyuki Kaji¹
(¹Fac. of Pharm. Sci., Tokyo Univ. of Sci., ²Fac. of Pharm. Sci., Toho Univ., ³Res. Center Mater. Sci., Nagoya Univ.)

In the present study, we found that a copper complex Cu10 reduces the fibrinolytic activity in the liquid phase of cultured vascular endothelial cells through suppression of the tissue plasminogen activator secretion. Since the suppression was independent of the cAMP pathway, a typical suppression pathway, it is suggested that Cu10 is a useful tool to analyze novel mechanisms underlying the regulation of fibrinolysis in vascular endothelial cells.