

学 位 論 文 要 旨

氏 名 鈴木 英明



論 文 題 目

「Heat-shock protein 72 promotes platelet aggregation induced
by various platelet activators

(ヒートショックプロテイン72は血小板活性化因子によって誘導
された血小板凝集を促進する)」

指 導 教 授 承 認 印

市川 尊文



Heat-shock protein 72 promotes platelet aggregation
induced by various platelet activators
ヒートショックプロテイン 72 は血小板活性化因子によって誘導された
血小板凝集を促進する

氏名 鈴木 英明

要旨

<序論>

急性心筋梗塞や不安定狭心症などの急性冠動脈症候群は病的状態と死亡率の主要な原因である。この急性冠動脈症候群は粥状アテロームのプラーク破綻が原因であり、血管内での血栓形成に起因する。その病態は血液凝固の活性化、線維素溶解系の低下や血小板凝集の亢進が引き金となる。一方、血中高濃度ヒートショックプロテイン (HSP) 70 と低濃度抗 HSP70 抗体の急性心筋梗塞患者は冠動脈内に存在する血栓数が増加すると報告されている。しかしながら、これらの臨床的意義は不明である。

<目的>

HSP70 ファミリーのうち様々なストレスによって誘発される HSP72 の血栓形成に関わる血小板凝集作用と抗 HSP72 抗体の関与による血小板凝集抑制作用について解明するために、血小板活性化剤としてアデノシン二リン酸 (ADP)、コラーゲン、リストセチン、トロンビン活性化ペプチド-6 (TRAP-6) およびアラキドン酸を用い HSP72 や抗 HSP72 抗体の共存による血小板への影響を調査した。

<方法および結果>

イソフルランで麻酔した 13 週齢雄性 Sprague-Dawley ラットの心臓からクエン酸ナトリウム採血し、血小板数 $4.0 \times 10^6/\text{mL}$ の富血小板血漿 (PRP) と乏血小板血漿を調整した。血小板凝集は乏血小板血漿を血小板凝集測定装置の透過率 100%の校正として用いた比濁法を原理とする光学血小板凝集測定装置で測定した。

ADP より誘発される血小板凝集の HSP72 共存による影響について調査するため、PRP に 1 あるいは 10 μM ADP を添加し、さらに 0-10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ リコンビナント HSP72 を加えた。結果、PRP に 10 μM ADP と HSP72 を共存させても ADP 単独添加と比較し変化はなかった。対照的に PRP に 1 μM ADP を添加し HSP72 を追加したところ HSP72 濃度依存的に血小板凝集が増加した。

他の血小板活性化物質として 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ コラーゲン、50 μM TRAP-6、1 mg/mL リストセチンあるいは 200 μM アラキドン酸を用い 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ HSP72 を共存させ血小板凝集を測定した。その結果、すべての血小板活性化剤において HSP72 の共存により血小板凝集は有意に増加した。

また、抗 HSP72 抗体の ADP と HSP72 によって誘導された血小板凝集への影響を調査するため、1 μM ADP と 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ HSP72 の共存下に 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抗 HSP72 抗体を添加し抗 HSP72 抗体の血小板凝集に対する影響を測定した。結果、抗 HSP72 抗体の添加は ADP と HSP72 の両方ともによって亢進した血小板凝集を有意に減少させた。

<考察>

HSP は分子シャペロンに関連し分子量別（低分子 HSP、HSP40、HSP60、HSP70、HSP90 と HSP110）に分類されている。HSP70 ファミリーはストレスによって誘発される HSP72、恒常的に細胞質内に発現する HSP73、ミトコンドリアに局在する binding immunoglobulin protein 75 や小胞体に局在する endoplasmic reticulum-localized binding immunoglobulin protein 78 が知られている。今回、HSP70 ファミリーのうちストレスにより細胞外に放出される HSP72 が血小板凝集に影響を及ぼすと考え、ラット富血小板血漿を用いて血小板活性剤によって誘発される試験管内の血小板凝集に対する HSP72 と抗 HSP72 抗体の効果を調査した。

低濃度の血小板活性剤の添加によってわずかに惹起した血小板凝集は HSP72 の共存によって促進され、さらに、ADP と HSP72 によって誘発される血小板凝集は抗 HSP72 抗体の更なる添加によって著しく抑えられた。血小板凝集は動脈における血栓形成の中心的なイベントである。これらの結果と同様な反応が生体内で起きた場合、ストレスで誘発された細胞外 HSP72 が血栓形成を促進し急性心筋梗塞に至る可能性があり、抗 HSP72 抗体は HSP72 の血小板凝集を抑制していることを示唆した。今後、血中に増加した HSP72 の血小板凝集促進作用について生体内反応で証明する研究と HSP72 が作用する機序の解明が必要である。

<結語>

ラット PRP において血小板活性剤が低濃度であっても HSP72 が共存すると血小板凝集を増加させ、抗 HSP72 抗体の存在によりその凝集を抑制した。すなわち、ストレスで誘発された HSP72 が血栓形成を促進し急性心筋梗塞に至る可能性があり、抗 HSP72 抗体は HSP72 の血小板凝集を抑制するホメオスタシスとして機能している可能性を示唆した。