

|             |                                                                   |
|-------------|-------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | はま と のぶ あき<br>濱 戸 宣 昭                                             |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (工 学)                                                         |
| 学 位 記 番 号   | 博 甲 第 86 号                                                        |
| 学位授与の日付     | 平 成 7 年 3 月 24 日                                                  |
| 学位授与の要件     | 学位規則第 4 条第 1 項該当                                                  |
| 研 究 科・専 攻   | 工芸科学研究科材料科学専攻                                                     |
| 学 位 論 文 題 目 | <b>STUDIES ON SQUASH FAMILY INHIBITOR</b><br>(スカッシュ型インヒビターに関する研究) |
| 審 査 委 員     | (主査)<br>教 授 原 三 郎<br>教 授 梶 原 莞 爾    教 授 小 田 耕 平                   |

### 論 文 内 容 の 要 旨

生体内において、プロテアーゼは消化過程のみならずさまざまな生理的過程において重要な役割を果たしている。プロテアーゼの暴走は極めて深刻な病状をもたらす。全ての生物はこれを防ぐために、遺伝子レベルでの制御に止まらず、プロテアーゼの働きの場において蛋白性プロテアーゼインヒビターによる直接的な制御を行っている。申請者はプロテアーゼインヒビターの役割の解明およびその応用を計るため、蛋白性プロテアーゼインヒビターの中でも最も分子量が小さいスカッシュ型インヒビターを材料に選び様々な角度からの研究を展開した。

同一種のインヒビターを大量に得て様々な実験に供することができるよう、インヒビターを大量に含みかつインヒビターの種類が少ない材料としてニガウリ種子を選んで大量精製の方法を検討し、3種のトリプシンインヒビターと4種のエラスターゼインヒビターの大量供給を可能にした。つづいて、それらのインヒビターのアミノ酸配列を決定し、トリプシンおよびエラスターゼとの相互作用の実体を明らかにした。さらに、ヒョウタン種子から新規なトリプシンインヒビター3種、またユウガオ(カンピョウ)種子から2種のトリプシンインヒビターを精製し、それらのアミノ酸配列を決定した。以上得られた8種のトリプシンインヒビターを用いて、血液凝固系プロテアーゼとの相互作用を詳細に検討した。

血液凝固系には、内因系凝固反応および外因系凝固反応と呼ばれる多数のプロテアーゼで構成される2つのカスケードが存在する。まず、内因系血液凝固反応に対する阻害効果を調べ、インヒビターが互いに類似性に富んでいるにもかかわらず、同反応を阻害できるものとできないものとに分類できることを見出した。同反応に関与する全てのプロテアーゼについて阻害効果を調べ、同反応開始プロテアーゼであるXIIa因子の活性を阻害できるインヒビターが内因系カスケードの進行を阻止することを明らかにした。外因系血液凝固反応では、調べられたインヒビターのうちニガウリ種子インヒビターMCTI-IIのみが阻害した。個々の外因系カスケードプロテアーゼに対する阻害を調べた結果、全てのインヒビターはXa因子を弱く阻害することができるが他のプロテアーゼは全く阻害されないことが明らかとなったが、MCTI-IIの特徴が何に起因するかは不明確であった。さらに詳細な検討を加え、MCTI-IIのみが組織因子—VIIa因子複合体およびIXa因子によるX因子の活性化を阻害していることを明らかにし、このことが外因系血液凝固反応進行を阻止する主要因であることを突き止めた。また、MCTI-II類似インヒビターを化学合成して活性を比較検討し、Trp(5)およびディリシオン(25)がX因子活性化阻害に大きく関与していることを明らかにした。

インヒビターの安定供給を計ることおよび合成インヒビターが天然型と同じ立体構造をとっていること

を明らかにするため、ニガウリインヒビター MCTI-I と III の類似体を合成した。合成インヒビターは天然インヒビターとの比較において、全く異なる阻害活性を示した。また、立体構造上の同一性を確認するため、高分解能 NMR による立体構造解析を行い、両者が完全に同一の構造をとっていることを明らかにした。

以上により、スカッシュ型インヒビターの抗血液凝固剤としての有用性を明らかにし、天然材料からのインヒビターの供給に止まらず、合成的手法によるインヒビターの大量供給を実現した。また、遺伝子操作によらないインヒビターの合成法の確立はアミノ酸配列のデザインを可能にし、より有用性に富むインヒビターの生産を現実的なものとした。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は蛋白性プロテアーゼインヒビターの中でも最も分子量が小さいスカッシュ型インヒビターを材料に選び、天然材料からの新規インヒビターの精製、さまざまなプロテアーゼに対する作用の解明、それらのアミノ酸配列の決定、立体構造の決定、新規インヒビターの合成など総括的な研究を展開した。その結果に基づき、スカッシュ型インヒビターの抗血液凝固剤としての有用性を明らかにし、高度な阻害特異性を持つインヒビターの合成法を確立するとともに医薬品として有効な新規インヒビター開発の方途を明らかにした。学位論文に記載された内容は新規性に富んでおり、学術研究の発展に寄与するのみならず応用的発展に期待がもてる。

学位申請論文の基礎となった学術論文は課程終了による博士の学位授与に関する内規ならびに同内規運用方針を満たしており、本審査委員会は全員一致で学位申請論文が博士（工学）の授与に値するものと判断した。