

13. T. Higuchi: Mechanism of lignin degradation by lignin peroxidase and laccase of white-rot fungi. In: Biogenesis and Biodegradation of Plant Cell wall Polymers. G. Lewis and M. G. Paice (eds.), American Chemical Society 482-505 (1989)
  14. T. Umezawa and T. Higuchi: Cleavages of aromatic ring and  $\beta$ -O-4 bond of synthetic lignin (DHP) by lignin peroxidase. FEBS Lett. 242, 325-329 (1989)
- C) 雑誌
1. T. Higuchi: Lignin biochemistry: Biosynthesis and biodegradation. Wood Sci. Technol. 24, 23-63 (1990)
  2. 樋口隆昌: リグニンの生合成と微生物による分解の機構. 学術月報 44, 21-26 (1991)
  3. T. Higuchi: The Discovery of lignin. In: Discoveries in Plant Biology, S.D. Kung and S.-Fa Yang (eds.), Singapore, World Scientific II, 233-269 (1998)
  4. T. Higuchi: Recent progress and problems in lignin biosynthesis. Proc. Intern. Symp. Environm. Friendly and Emerging Technologies for a Sustainable Pulp and Paper Industry, Taipei, 315-324 (2000)
- D) 著書
1. 樹木生化学 pp. 190, 共立出版 (1969)
  2. Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components. T. Higuchi (ed.) pp. 679, Academic Press, Orlando (1985)
  3. 木質生化学 pp. 246, 文永堂出版 (1992)
  4. 木質分子生物学 (樋口隆昌編著) pp. 271, 文永堂出版 (1994)
  5. Biochemistry and Molecular Biology of Wood, pp. 362, Springer, Berlin, Heidelberg (1997)

## 医学博士青木延雄氏の「血栓溶解の制御機構に関する研究」に対する授賞審査

### 要旨

青木氏は血栓溶解を阻止する血漿蛋白  $\alpha 2$  Plasmin Inhibitor ( $\alpha 2$ PI) を発見し、その血栓溶解の制御機構の解明から遺伝子の同定に至るまでのすべてにわたって多大の貢献をした。血管が破れると出血が起るが、これを止めるために止血機構が働く。出血部位における血栓の形成は止血に最も重要な機構である。しかし、血栓が血管内で形成されると血管を閉塞するようになり血栓症から梗塞を引き起こす。従って、血栓を溶解するメカニズムが必要である。ところが、出血部位にできた血栓(止血栓)の溶解は出血を招くからこれを阻止する必要があり、一方、血管内の血栓の溶解を完全に阻止することは血栓による血管閉塞を来たし具合が悪い。つまり、血栓溶解を阻止しつつ、血栓溶解の可能性を残すメカニズムが必要なのである。 $\alpha 2$ PI はこのように血栓溶解を制御する最も重要な因子である。青木氏は一九七六年に  $\alpha 2$ PI を発見し、これに関する重要な事項を共同研究者とともに、ほとんど独力で解明した。青木氏の業績を年代

順に分類して、それぞれについて説明する。

(1) 血栓溶解の阻止因子の発見—血栓溶解は、プラスミノゲンがプラスミノゲン活性化因子によって活性化されて生じる蛋白分解酵素プラスミンによってフィブリンが分解されることによって行われる。一九七五年頃までは、血栓溶解の阻止は血中の主要プロテアーゼインヒビターである $\alpha_2$ マクログロブリンと $\alpha_1$ アンチトリプシンによると信じられていた。青木氏は、従来知られていなかったの protease-inhibitor とも異なる新しい因子が血栓溶解を特異的に阻止することを発見した。

(2) 精製及び性質の解明—青木氏は諸井将明氏と共にこの新しい血栓溶解の阻止因子を精製し、その物理化学的諸性質を解明した。この因子はセリンプロテアーゼのインヒビターの一つであるが、プラスミンとの親和性が極めて高く瞬時的にプラスミンの酵素活性を阻害する。電気泳動的に $\alpha_2$ グロブリン分画に属することから $\alpha_2$  Plasmin Inhibitor ( $\alpha_2$ PI) と名付けられた。

(3) 血栓溶解制御の機構— $\alpha_2$ PIは単にプラスミン酵素活性の阻害にとどまらず、プラスミノゲンと結合してプラスミノゲンとフィブリンの結合を競合的に阻止する作用、フィブリン分子と共有結合(架橋結合)で結合しフィブリン溶解を阻止する作用などをも有することを青木氏は見出した。これらの作用によって、 $\alpha_2$ PIは

単なるプロテアーゼのインヒビターではなく、血栓溶解に特異的に作用するインヒビターであることが判明した。青木氏はこれらの反応、特にフィブリンとの架橋結合反応について、詳細な分子機構を解明した。なお、この架橋結合反応は三〇%程度で平衡に達して血栓が溶解される余地が残されることがプラスミノゲン活性化因子の補充などによる血栓溶解療法が成立するゆえんである。

(4) 欠損症の発見—一九七九年、青木氏は共同研究者と共に世界で最初に $\alpha_2$ PIの欠損家系を発見した。欠損患者では止血のための血栓(止血栓)の溶解が起こるため、著しい出血傾向が見られる。青木氏は、この欠損症患者の血漿を用いた研究によって、血栓溶解は一般に信じられていたような病的現象ではなく、フィブリン形成によって自然に開始される生理的な機構であることを明らかにした。

(5) 構造と機能との相関—青木氏はcDNAクローニングなどによる $\alpha_2$ PIの一次構造の解明を介して、構造と機能の相関を明らかにした。 $\alpha_2$ PIは四六四個のアミノ酸からなるMet型として血中に出るが、血中で解裂してアミノ酸四五二個のAsn型として約七〇%存在する。フィブリンとの架橋結合はAsn型によるものである。

(6) 遺伝子の構造と染色体上の局在—青木氏は $\alpha 2\text{PI}$ の遺伝子の全構造を解明した。遺伝子は一〇個のエキソンを含み、第八イントロンが組換えにより七〇〇bpの欠失を起こした変異対立遺伝子が存在する。その変異遺伝子の頻度到人種差がみられることを発見した。さらに、 $\alpha 2\text{PI}$ 遺伝子が第一七染色体上でp13に位置することを発見した。

(7) 欠損症の遺伝子異常と欠損症発現の分子機構—青木氏は日本における欠損症の二家系において遺伝子異常を明らかにし、さらに、産生された異常蛋白の細胞内輸送が障害され分泌に至らないことが欠損症発現の分子機構であることを明らかにした。

以上のように、青木氏は $\alpha 2\text{PI}$ を軸に血栓溶解の制御機構を解明し、血栓症や出血傾向の診断と治療に進展をもたらし、基礎、臨床両面で大きく貢献した。その業績は多くの世界的な内科学関連の教科書にとりあげられ、国際的にも高く評価されている。

#### Selected Publications

- 1) Aoki N, Moroi M: Distinction of serum inhibitor of activator-induced clot lysis from  $\alpha 1$ -antitrypsin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 146: 567-570, 1974.
- 2) Moroi M, Aoki N: Isolation and characterization of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor from human plasma. A novel proteinase inhibitor which inhibits activator-induced clot lysis. *J. Biol. Chem.* 251: 5956-5965, 1976.
- 3) Aoki N, Moroi M, Matsuda M, Tachiya K: The behavior of  $\alpha 2$ -plasmin

inhibitor in fibrinolytic states. *J. Clin. Invest.* 60: 361-369, 1977.

- 4) Aoki N, Moroi M, Tachiya K: Effects of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor on fibrin clot lysis. Its comparison with  $\alpha 2$ -macroglobulin. *Thromb. Haemostas.* 39: 22-31, 1978.
- 5) Aoki N, Moroi M, Sakata Y, Yoshida N, Matsuda M: Abnormal plasminogen. A hereditary molecular abnormality found in a patient with recurrent thrombosis. *J. Clin. Invest.* 61: 1186-1195, 1978.
- 6) Aoki N: Natural inhibitor of fibrinolysis. *Progr. Cardiovasc. Dis.* 21: 267-286, 1979.
- 7) Aoki N:  $\alpha 2$ -Plasmin inhibitor. A newly discovered protease inhibitor in human plasma. In: *The Microembolism Syndrome*. T. Saldien (Ed.), Almqvist & Wiksel International, Stockholm, 1979, pp. 123-151.
- 8) Aoki N, Saito H, Kamiya T, Koie K, Sakata Y, Kobakura M: Congenital deficiency of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor associated with severe hemorrhagic tendency. *J. Clin. Invest.* 63: 877-884, 1979.
- 9) Saito H, Goldsmith GH, Moroi M, Aoki N: Inhibitory spectrum of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 2013-2017, 1979.
- 10) Sakata Y, Aoki N: Cross-linking of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor to fibrin by fibrin-stabilizing factor. *J. Clin. Invest.* 65: 290-297, 1980.
- 11) Aoki N, Sakata Y, Matsuda M, Tateno K: Fibrinolytic states in a patient with congenital deficiency of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *Blood* 55: 483-488, 1980.
- 12) Sakata Y, Aoki N: Molecular abnormality of plasminogen. *J. Biol. Chem.* 255: 5442-5447, 1980.
- 13) Aoki N, Moroi M, Sakata Y, Matsuda M, Tamaki T:  $\alpha 2$ -Plasmin inhibitor: Primary natural inhibitor of fibrinolysis. *Progress in Fibrinolysis* 5: 144-151, 1980.
- 14) Tamaki T, Aoki N: Cross-linking of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor and fibronectin

- to fibrin by fibrin-stabilizing factor. *Biochim. Biophys. Acta.* 661: 280-286, 1981.
- 15) Sakata Y, Aoki N: Significance of cross-linking of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor to fibrin in inhibition of fibrinolysis and hemostasis. *J. Clin. Invest.* 69: 536-542, 1982.
- 16) Ichinose A, Aoki N: Reversible cross-linking of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor to fibrinogen by fibrin-stabilizing factor. *Biochim. Biophys. Acta* 706: 158-164, 1982.
- 17) Miyata T, Iwanaga S, Sakata Y, Aoki N: Plasminogen Toehigi: Inactive plasmin resulting from replacement of alanine-600 by threonine in the active site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 6132-6136, 1982.
- 18) Tamaki T, Aoki N: Cross-linking of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor to fibrin by activated fibrin-stabilizing factor. *J. Biol. Chem.* 257: 14767-14772, 1982.
- 19) Ichinose A, Tamaki T, Aoki N: Factor XIII-mediated cross-linking of NH<sub>2</sub>-terminal peptide of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor to fibrin. *FEBS Lett.* 153: 369-371, 1983.
- 20) Aoki N, Sakata Y, Ichinose A: Fibrin associated plasminogen activation in  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor deficiency. *Blood* 62: 1118-1122, 1983.
- 21) Sakata Y, Minuro J, Aoki N: Differential binding of plasminogen to cross-linked and non cross-linked fibrins. Its significance in hemostatic defect in factor XIII deficiency. *Blood* 63: 1393-1401, 1984.
- 22) Aoki N: Genetic abnormalities of the fibrinolytic system. *Semin. Thromb. Hemost.* 10: 42-50, 1984.
- 23) Aoki N, Harpel PC: Inhibitors of the fibrinolytic enzyme system. *Semin. Thromb. Hemost.* 10: 24-41, 1984.
- 24) Kimura S, Tamaki T, Aoki N: Acceleration of fibrinolysis by the N-terminal peptide of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *Blood* 66: 157-160, 1985.
- 25) Minuro J, Kimura S, Aoki N: Release of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor from plasma clots by activated factor XIII. Its effect on fibrinolysis. *J. Clin. Invest.* 77: 1006-1013, 1986.
- 26) Suni Y, Nakamura Y, Aoki N, Sakai M, Muramatsu M: Structure of the carboxyl-terminal half of human  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor deduced from that of cDNA. *J. Biochem.* 100: 1399-1402, 1986.
- 27) Kimura S, Aoki N: Cross-linking site in fibrinogen for  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *J. Biol. Chem.* 261: 15591-15595, 1986.
- 28) Aoki N: Fibrinolysis: Its initiation and regulation. *J. Prot. Chem.* 55: 269-277, 1986.
- 29) Minuro J, Koike Y, Suni Y, Aoki N: Monoclonal antibodies to discrete regions in  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *Blood* 69: 446-453, 1987.
- 30) Aoki N, Minuro J, Kimura S, Suni Y: Regulation of fibrinolysis: crosslinking reaction of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor and its structure. In: *Fundamental and Clinical Fibrinolysis*, edited by Castellino FJ et al, Elsevier Science Publishers, 1987, pp99-109.
- 31) Hirose S, Nakamura Y, Miura O, Suni Y, Aoki N: Organization of the human  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 6836-6840, 1988.
- 32) Miura O, Sugahara Y, Nakamura Y, Hirose S, Aoki N: Restriction fragment length polymorphism caused by a deletion involving Alu sequences within the human  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor gene. *Biochemistry* 28: 4934-4938, 1989.
- 33) Aoki N: Hemostasis associated with abnormalities of fibrinolysis. *Blood Reviews* 3: 11-17, 1989.
- 34) Miura O, Hirose S, Kato A, Aoki N: Molecular Basis for congenital deficiency of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. A frameshift mutation leading to elongation of the deduced amino acid sequences. *J. Clin. Invest.* 83: 1598-1604, 1989.

- 35) Miura O, Sugahara Y, Aoki N: Hereditary  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor deficiency by a transport-deficient mutation. Deletion of Glu 137 by a trinucleotide deletion blocks intracellular transport. *J. Biol. Chem.* 264: 18213-18219, 1989.
- 36) Sumi Y, Ichikawa Y, Nakamura Y, Miura O, Aoki N: Expression and characterization of pro  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *J. Biochem.* 106: 703-707, 1989.
- 37) Miura O, Aoki N: Impaired secretion of mutant  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor ( $\alpha 2$ -PI-Nara) from COS-7 and Hep G2 cells: Molecular and cellular basis for hereditary deficiency of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *Blood* 75: 1092-1096, 1990.
- 38) Kato A, Hirose S, Toyota S, Nakamura Y, Nishi H, Kimura A, Sasazuki T, Aoki N: Localization of the human  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor gene (PI) to 17p13. *Cytogenet. Cell Genet.* 62: 190-191, 1993.
- 39) Aoki N, Sumi Y, Miura O, Hirose S: Human  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor. *Methods Enzymol.* 223: 185-197, 1993.
- 40) Toyota S, Hirose S, Aoki N: Secretion of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor is impaired by an amino acid deletion in a small region of the molecule. *J. Biochem.* 115: 293-297, 1994.
- 41) Koyama T, Koike Y, Toyota S, Miyagi F, Suzuki N, Aoki N: Different NH<sub>2</sub>-terminal form with 12 additional residues of  $\alpha 2$ -plasmin inhibitor from human plasma and culture media of Hep G2 cells. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 200: 417-422, 1994.
- 42) Aoki N:  $\alpha 2$ -Plasmin inhibitor. In: *Molecular Basis of Thrombosis and Haemostasis*, edited by High KA and Roberts HR, Marcel Dekker, New York, 1995, pp545-559.

## 歯学博士須田立雄氏の「ビタミンDと骨 に関する研究」に対する授賞審査要旨

骨組織は生涯に亘り活発に形成と吸収（破壊）をくりかえす動的な組織である。しかし、その研究対象が高度に石灰化した組織であるために、永い間その実体は明らかでなかった。須田立雄氏は骨の形成と吸収に大きな影響を与える「ビタミンD」に着目して研究を進めてきた。一九七一年、須田氏は米國留學中にビタミンD<sub>3</sub>の活性代謝産物1 $\alpha$ , 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> [1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]の単離と同等に成功したが、その後三〇年に亘ってビタミンDの代謝調節、作用のしくみ、その臨床応用に取り組んできた。殊に、須田氏の考案した活性型ビタミンDの合成誘導体1 $\alpha$ -ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> [1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>]は高齢化社会への移行に伴い我が国でも激増している骨粗鬆症患者の基本的な治療薬となった。さらに一九八一年、須田氏は活性型ビタミンDが強力な細胞分化誘導作用を持つことを発見し、この研究から出発して一九九八年、活性型ビタミンDによって誘導される破骨細胞分化因子（ODF）のクローニングに成功した。須田氏の主な研究業績は次の通りである。