

【 74 】

氏名	塩 榮 夫 しお ひでお
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第361号
学位授与の日付	昭和43年7月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	<b>On the active principles in Toh's alkaline tissue extracts which cause release of serotonin from blood platelets</b> (Tohの組織アルカリ抽出物中の血小板セロトニン遊離因子について)

論文調査委員 (主査) 教授 井上 章 教授 島本暉朗 教授 荒木辰之助

論 文 内 容 の 要 旨

生体内に存在する生物学的活性アミンの役割については既に多くの報告があり、その生理学的重要性は確定されたといつてよい。これらのアミンは一般に細胞あるいは細胞内の特定の構造に局在していることが確められているが、そのとりこみ、貯蔵、あるいは遊離の機構については不明の点が少なくない。本論文では1956年 Toh によって報告された哺乳動物組織（特に腎臓）のアルカリ抽出物によるウサギ血小板セロトニン（5-HT）遊離現象をアミン遊離のひとつのモデルとしてとり上げ、その遊離活性因子の精製を試み、その作用機序について検討を加えた。

その結果、第一に Toh の報告したセロトニン遊離活性因子はエタノールによる除蛋白、セファデックスによるゲル炉過、有機溶媒による抽出、更に薄層クロマトグラフィーによる分離などの方法により、遊離の不飽和脂肪酸の分画に回収されることが明らかになった。一方組織の総脂質抽出物がこの活性を欠くことから、アルカリ処理による水解がこの種の脂肪酸（群）を多量に生ぜしめるものと考えられる。なお微量のオレイン酸、リノール酸によって同様の5-HT遊離が起ることを確めた。

第二は上記の方法を用いて精製した腎抽出物による5-HT遊離現象を検索した。この活性因子による遊離は、浮遊液中の血小板数に直接関係することが判明した。すなわち、ある割合の5-HT遊離を起させるに要する抽出物の量は血小板数に正比例する。更にこの抽出物による5-HT遊離はグルコース（1~10 $\mu$ M）存在によって強力に阻害される一方、同様の作用はガラクトース、マンノース、キシロースにも認められ、フルクトースはこれを欠く。加うるにATPはこの遊離作用に拮抗せず、フルオライド、シアナイド存在下でもグルコースの阻害作用が見られることなどから、グルコースの効果はむしろ活性因子との直接作用によるものと考えられる。これ迄に脂肪酸によるアミン遊離現象としてはC18~22の飽和脂肪酸のNa, K塩がCa<sup>++</sup>、血漿、存在下に限ってこれを起すことが報告されており、この種のアミン遊離は血小板の凝集による損傷によるものであるとされている、本論文の活性はCa<sup>++</sup>非依存性であること、血漿の存在下ではむしろ阻害される（血糖によると考えられる）こと、肉眼的、顕微鏡的に凝集のみられないこと

などからこれとは異なる機作が考えられよう。なおこの活性は pH に特に依存せず、低温 (20°C) 以下では極度に阻害される。これはこの因子が脂肪酸である、とすればその溶解度 (血小板浮遊液に対する) 帰せられる。C<sup>14</sup>-5-HT を用いて血小板内外の 5-HT 交換に対する影響を検討した結果、温度に依らない非特異的な 5-HT 交換には全く影響を及ぼさず、37°C 附近における 5-HT とりこみはこの抽出物によってかなり阻害されることが明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

哺乳動物組織 (特に腎組織) のアルカリ抽出物が血小板 5HT を遊離させる作用を有することは、すでに 1956 年に Toh によって報告されているが、その後この活性因子に関する報告は、わずかに Giarman らによって蛋白質物質で血小板の損傷によるとするものがあるのみである。じゅうらい、5HT 遊離活性を有する薬物については数多くの研究があるが、組織中の活性物質についての研究に乏しい。そこでこの Toh の活性因子を取り上げたのが本論文である。

その結果 1) その血小板 5HT 遊離作用は温度依存性および glucose により阻害されることが一つの特徴である。2) これを指標として精製を試み、遊離の不飽和脂肪酸が少なくとも活性因子の一つであり、事実オイレン酸、リノール酸に全く同様の血小板 5HT 遊離作用がある。3) 精製試料を用い、糖の阻害作用および代謝系阻害剤の影響を調べた結果、5HT の遊離はエネルギー生成系への直接の作用によるものではない。4) その有効濃度はきわめて低く、Ca<sup>++</sup> の存否に依存せず、したがってじゅうらい報告された飽和脂肪酸塩の 5HT 遊離作用とは異なる。5) C<sup>14</sup>-5HT を用いた実験により、本因子は血小板の非特異的 5HT 交換過程には影響せず、したがって Giarman らのように膜の損傷によるとは考え難い。(この点に関しては、その後申請者らの手によってこの精製活性因子を作用せしめた標本につき、電顕的に血小板膜が正常に保持されているにかかわらず、osmiophilic な顆粒の減少消失することが確認されている。) 6) しかし 37°C における C<sup>14</sup>-5-HT の保持を阻害し、したがって 5HT 貯蔵顆粒に作用することが考えられる。などの点を明らかにしている。

この活性因子の同定および作用機序の詳細、その生理学的意義についてはなお研究を必要とするが、現ここに得られた成果をもってしても、Toh の活性因子の性状を明らかにするとともに、新しい 5HT 遊離活性物質としての不飽和脂肪酸およびその作用機序の一端を明らかにしたものであって、この分野における研究の進展に寄与するところ少なくない。

よって本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。