

氏名	車 勇
	くるま いさみ
学位の種類	薬学博士
学位記番号	論薬博第73号
学位授与の日付	昭和44年5月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	発熱性リポ多糖の作用機序 特にセロトニン遊離作用に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 高木博司 教授 山科郁男 教授 富田謙吉

論文内容の要旨

最近脳のセロトニン (5HT) やカテコールアミン (CA) が視床下部の体温調節中枢において、その機能を維持する“Chemical mediator”として互に拮抗的に働いているという仮説が Feldberg と Myers により提出され、これを支持する多くの実験的事実があげられているが、少数ながらこれと矛盾するような知見も報告されている。

一方グラム陰性菌の内毒素が強力な発熱作用をもち、その構成成分は細菌壁に由来するリポ多糖 (LPS) であることがよく知られている。

そこで著者は LPS による発熱と脳の 5HT やノルアドレナリン (NA) との関係を追究することは、LPS の発熱機序のみならず体温調節におけるこれらモノアミンの生理学的意義を解明する上に極めて興味あることと考え、ウサギを用いて実験を行ない、以下の新知見をえた。

1. リポ多糖投与による発熱と脳幹における5HTおよびNA量の消長との関係

LPS の発熱量 ($1\mu\text{g}/\text{kg}$) をウサギの静脈内に投与すると脳幹 5HT 量が減少し、その減少度は最高発熱時に最も著しく、体温の回復とともに回復した。すなわち、発熱の時間的経過と脳幹 5HT 量の減少のそれとがほぼ対応した。しかし脳幹 NA 量には著変は認められなかった。

LPS による 5HT 減少作用は 5HT 分解酵素であるモノアミノオキシダーゼ (MAO) 阻害剤であるフェニプラジンの前処理により抑制された。このことから、LPS による脳幹 5HT 量の減少は、レセルピンの場合と同様に、貯蔵部位の“結合型 5HT”が LPS によって放出され“遊離型”となり、MAO によって分解されるためと推定された。一般に“結合型モノアミン”が薬物によって“遊離型”となって分解、消失する現象をその薬物の遊離作用というが、以上の事実から LPS は 5HT 遊離活性をもつ物質の一つであることがわかった。

LPS の 5HT 遊離作用について脳以外の組織についてしらべてみたところ回腸の 5HT 量に対しては影響を与えなかったが、脾臓の 5HT 量に対して減少作用を示すことが認められた。

2. うつ熱の脳幹 5HT および NA 量におよぼす影響

LPS の 5HT 遊離作用が LPS の一次作用なのか、あるいは発熱に随伴した二次作用なのかを明らかにする目的で、発熱物質を用いないで発熱させたウサギの脳幹 5HT および NA 量を測定した。すなわち高温環境下にウサギをおき、うつ熱せしめたウサギを使用した。うつ熱による発熱度 4.1°C のウサギにおける 5HT 量の減少度は LPS 投与による 1.5°C 発熱のウサギの約 $1/7$ にすぎなかった。また NA 量には有意の変化は認められなかった。

以上の成績から LPS による 5HT 遊離は発熱の二次作用のみではないと推定された。

3. リポ多糖の 5HT 合成酵素に対する作用

5HP の合成酵素である 5-ヒドロキシトリプトファンデカルボキシラーゼ (ウサギ腎臓からえたもの) に対する LPS の作用を α -メチル-*m*-チロジン (α -MMT) と比較検討した。

LPS 10^{-4} g/ml の濃度では酵素に対し、有意の阻害は認められなかったが、 α -MMT 10^{-4} g/ml では約 60% の阻害が認められた。

4. リポ多糖の 5HT 分解酵素に対する作用

一般に組織中の 5HT はモノアミンオキシダーゼ (MAO) により 5-ヒドロキシインドールアセトアルデヒドとなり、これがアルデヒドデヒドロゲナーゼによって 5-ヒドロキシインドール酢酸となり尿中に排泄される。著者は肝ミトコンドリアから部分的に精製した MAO を用いて、その活性に対する LPS の効果をしらべたが有意の作用を認めなかった。

5. 血小板における 5HT の貯蔵と遊離におよぼすリポ多糖の影響

LPS の 5HT 遊離作用機序を、5HT を多量に含有しているウサギ血小板を用いて追究した。

まず電子顕微鏡と細胞内分画法とを用いて、血小板中の 5HT の貯蔵部位について基礎的検討を加え、5HT がオスミウム親和性顆粒内に貯蔵されていることを確認した。

LPS を血小板に作用させると、上記のオスミウム親和性顆粒の数の著減と 5HT 量の減少が認められた。このことから、LPS は 5HT の貯蔵部位(顆粒)の貯蔵維持機能の抑制をきたすことが証明された。

一方トリチウム標識 5HT の血小板内への取り込みに対する LPS の影響をしらべたところ、血小板の顆粒分画への取り込みが LPS によって著しく抑制されることが観察された。

以上の如く、著者は LPS の 5HT 遊離機序は貯蔵部位 (オスミウム親和性顆粒) の障害、すなわち取り込み機能および貯蔵維持機能の抑制による 5HT の顆粒外ないし細胞外への放出にもとづくことを明らかにした。また LPS により脳幹貯蔵部位から放出された 5HT が体温調節中枢の失調をきたすことが発熱の有力な一因であることを示唆した。

論文審査の結果の要旨

グラム陰性菌の内毒素であるリポ多糖の発熱性に関する研究は数多く報告されているが、その発熱機序を脳のセロトニンやノルアドレナリン代謝に関連づけて系統的に研究したものは少ない。本論文はこの点を解明しようとしたものである。

本論文の著者はサルモネラ菌その他のグラム陰性菌から抽出、精製されたリポ多糖の発熱量をウサギに

投与すると、脳幹セロトニン量が減少し、その減少の時間的経過は発熱のそれとほぼ対応していることを見出した。

一方このようなリポ多糖のセロトニン遊離作用は、モノアミン・オキシダーゼ阻害剤の前投与によって抑制されるが、発熱度は逆に強められることを明らかにした。

著者はリポ多糖のセロトニン遊離作用のメカニズムを明らかにする目的で、セロトニンを多量に含有しているウサギ血小板を用いて追究した。トリチウム標識セロトニンによる電顕オートラジオグラフィと細胞分画法とを併用することにより、リポ多糖の作用機序は、セロトニン貯蔵顆粒の障害、すなわち取り込み機能および貯蔵維持機能の抑制によって、セロトニンが顆粒外ないし細胞外に放出されるためであることを明らかにした。

また、セロトニン合成酵素である5-オキシトリプトファン・デカルボキシラーゼおよびセロトニン分解酵素であるモノアミン・オキシダーゼ活性に対してはリポ多糖は有意の作用を示さないことを証明した。

以上の知見にもとづいて、著者は、リポ多糖による発熱機序は脳幹の貯蔵部位から放出されたセロトニンが体温調節中枢の失調をきたすことを示唆し、体温調節機構の解明に重要な手がかりを提供した。

本論文は発熱性リポ多糖の作用機序に関して薬理学的に新知見を加えたものであり、薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。