

|             |                                              |
|-------------|----------------------------------------------|
| 氏 名         | 大 森 保<br>おお もり たもつ                           |
| 学 位 の 種 類   | 薬 学 博 士                                      |
| 学 位 記 番 号   | 薬 博 第 40 号                                   |
| 学位授与の日付     | 昭 和 40 年 3 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   | 薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻                            |
| 学 位 論 文 題 目 | マムシ毒出血因子に関する研究                               |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 鈴 木 友 二 教 授 山 科 郁 男 教 授 高 木 博 司 |

### 論 文 内 容 の 要 旨

従来、マムシ科蛇毒がおこす出血は、この科の蛇毒に特徴的なプロティナーゼによるとされてきたが、今まで出血因子を精製する努力はあまりなされていない。蛇毒が多種の酵素を含むことから、上の事柄を実証するためには、出血因子の分離、精製がのぞまれる。著者は日本産マムシ毒の出血作用に注目し、出血因子を精製しつつ出血因子の酵素活性、出血因子の性質、出血因子と致死作用の関係などをしらべ、つぎの結果をえた。

(1) マムシ毒酵素の分離法として著者らが活用してきた DEAE-セルローズカラムクロマトグラフィーで出血因子を二つに分け、それぞれを HR-I、HR-II となづけた。さらにヒドロキシルアパタイトカラムクロマトグラフィー、ゾーン電気泳動法などの精製操作をくみ合せつつ、マムシ毒から二つの出血因子を精製することに成功した。超遠心分析など 2, 3 の方法で均一性をたしかめ、HR-II はほぼ純粋なものであったが、HR-I はまだ完全に純化されてなかった。

(2) HR-I には従来マムシ毒で報告されたいずれの酵素作用もないが、一方 HR-II は佐竹らがさきにマムシ毒中にみつけた a, b, c 3 種のプロティナーゼのうちのプロティナーゼ b そのものであった。プロティナーゼ b を種々の条件で部分的に失活させると、それに平行して出血活性も低下した。

(3) HR-I, HR-II とも酸性蛋白で、シアノガム電気泳動による易動度から等電点は pH 3~4 と考えられた。アミノ酸分析の結果両者の間に特筆すべき差はみられず、共通してアスパラギン酸が多く含まれていた。紫外部吸収曲線を記録した結果、HR-II は蛋白質一般と大差なかったが HR-I の E260/E280 は 0.93 でかなり特異的なものであった。安定性は両者ともよく似ていたが EDTA、システイン、酸で失活し、熱に対しても不安定であった。沈降係数は HR-I が 2.34 S、HR-II が 4.82 S で HR-II は HR-I より約 2 倍大きいものであった。

(4) HR-I は全出血活性の約 70% をしめ、蛋白量あたりの出血活性は HR-II に比べて約 35 倍強い。静脈内に注射したとき HR-I は腸全体にはげしい出血病変をひきおこした。HR-II はこのような変化を

おこさず全身の皮下や筋肉組織に出血斑を生じた。また二つの出血因子は免疫的にも区別され、HR-I は抗マムシ毒血清の 200 倍稀釈で完全に中和されたが HR-II は 6 倍稀釈の高濃度でも中和されにくかった。

(5) マウスで致死作用をしらべた結果、致死活性は出血因子画分に集中していた。精製した二つの出血因子の  $LD_{50}$  は HR-I が 0.36 mg/kg, HR-II が 4.96 mg/kg で、HR-I の致死作用はハブ毒の毒性因子と比較しても数倍強い。またマムシ毒を DFP および EDTA 処理して酵素作用と毒作用を選択的に失活させたときも、マムシ毒の毒作用は出血作用で代表されると結論できた。そして出血作用と致死作用の強い HR-I が毒作用の主体をなすと考えた。

(6) 10 数種の日本産、台湾産、南米産および北米産などの外国産の蛇の粗毒について、出血活性をプロティナーゼ活性との比較においてしらべたが、とくに相関関係がなかった。また *C. adamanteus* の毒のようにプロティナーゼ活性が弱く、出血活性が強い毒による病変は、マムシ毒の HR-I のときとちがって腸内出血を示さなかった。こうしたことから蛇毒の致死毒性についての研究には、毒性因子の分離、精製が必須であると考ええる。

### 論文審査の結果の要旨

マムシ科の毒による出血は、従来プロティナーゼによるとされてきたが、出血因子を精製して性格を明らかにする研究は進めにくかった。本論文はマムシ毒には二つの出血因子がふくまれることを明らかにし、それぞれを精製してその性格を明らかにしたものである。すなわちその一つ、HR-I はマムシ毒の全出血活性の約 70% をしめる出血作用の強いもので、酵素作用はもっておらない酸性の蛋白質である。この HR-I は物理化学的にもほぼ単一にまで精製した。他の出血因子 HR-II は、HR-I より出血作用は弱く、プロティナーゼ活性をもち、プロティナーゼ活性と出血活性とは不可分の関係にある。

本論文では HR-II 物理化学的に単一に精製されているが、このように蛇毒の毒性因子が精製された例ははじめてである。本研究を通じてマムシ毒の致死作用をもつ蛋白質の本態がこれら 2 種の出血因子であることが明らかになったが、この研究は、従来の治療用抗血清の効力の不十分であった点を改良するための基礎研究にもなっている。

マムシ毒の毒性と生理作用との関係を明らかにした点から、本論文は薬学博士の論文として価値あるものと認定する。