



Title	心筋中の心臓機能抑制成分並びに促進成分の研究
Author(s)	濱, 堯夫
Citation	大阪大学, 1960, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28343
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 4 】

氏 名・(本籍)	濱	堯	夫
	はま	たか	お
学 位 の 種 類	薬	学	博 士
学 位 記 番 号	第	145	号
学位授与の日付	昭 和 35 年 11 月 17 日		
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当		
学 位 論 文 題 目	心筋中の心臓機能抑制成分並びに 促進成分の研究		
	(主 査)	(副 査)	
論 文 審 査 委 員	教 授 青 沼	繁	教 授 川崎近太郎 教 授 羽野 寿

論 文 内 容 の 要 旨

1921年以来心臓の自働運動に対しホルモン系の支配が考えられ、心臓自体は腺組織でないが、心臓の生理作用に關与する自家ホルモンともいふべきホルモン性物質の心筋中の存在が認められている。現在多数の心臓ホルモン製剤もあるが、その化学的本態は明白ではない。アデノシン三磷酸あるいはアデニール酸といった核酸系成分が有効成分であるとの説もあるが、これに対し反対論も多い。またその生物学的性質においても血圧下降性は認められているが、心臓運動に対する生物試験上の所見では、促進的であるといわれたり、反対に抑制的であるといわれたり研究者により異っていて、抽出分離途上での活性度試験もまちまちである。

ここにおいて著者は独自の立場で牛心筋を原料とし家兎血圧試験、ガマ剔出心臓試験、蛙生体心臓試験を主要な予試験的生物試験として用い、放射性同位元素 ^{32}P の心筋中への incorporation を本試験として有効物質の分離を試みた。すなわち心筋の水抽出物につきピクリン酸法、トリクロロ酢酸法および酢酸鉛抽出法等種々の分画抽出を行った結果、まず心臓機能に抑制的に作用する物質と促進的に作用する物質を認めた。次にこれらはクロマトグラフィー、定性反応、熱に対する安定性などからアデノシン三磷酸もしくはアデニール酸に由来するものでないことを証明した。この点はさらに守屋氏により詳細に追求され確認されている。そこで今までの研究者によりまちまちであった相反した心臓運動に対する解釈として、心臓ホルモンに促進性と抑制性の二作用があること、すなわち心臓ホルモンの二因子説をここに新しく提唱した。これらは共に血圧に対しては下降性であるが、蛋白質ではなく熱に安定で、ニンヒドリン反応、ドラージェンドルフ反応陽性で、紫外灯下蛍光を有するなどの性質を認め、透析されることなどより比較的小分子の物質であることを認めた。しかし抑制性作用物質はエーテルに不溶性で、促進性作用物質は可溶性という差がある。抑制性因子に関しては酢酸鉛を用いる分画法すなわち心筋の水抽出物を酢酸鉛で処理し、さらにアンモニアで処理した後濃縮、アルミナ柱クロマトグラフィーその他の操作を経てかなり純

粹に精製することに成功した。精製された有効物質は中性であり、抱水クロラル処理で減弱した心臓に対しては逆に促進性に作用し、また本物質の微量で前処理すると抱水クロラルの毒性作用が弱められる。本物質の1%水溶液はオキシトシン0.2I.U/ccの溶液よりも強い平滑筋収縮作用を有する。血圧下降は末梢血管拡張性を示す。本物質は家兎の血清鉄を増加し、肝、腎、脾、心の ferritin 鉄および hemosiderin 鉄といった貯蔵鉄を減少するが血液鉄には著明な影響を及ぼさない。そのマウスに対する LD₅₀ は95%の信頼度で $0.002985 \pm 0.0004342 \text{ g/g}$ (体重) である。本物質の化学的性質は窒素含量6.5%でニンヒドリン、ドラージェンドルフ、ジアゾの各反応は陽性、ビュレット、オルシノール塩酸、ニトロプルシツドの反応は陰性であり、ヤツフェ反応は加熱により呈色する。紫外灯下蛍光を有し、U.V. では $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ を有しない。本物質をさらに各種化学的操作で分離、追求すると三有効成分からなることを認めた。この成分の一つは塩酸処理で沈澱し、n-ブタノール：酢酸：水の溶媒系で上昇法ペーパークロマトグラフィーの結果 Rf 0.10を示し、分解点220~3°Cのピクラートを生ずる物質である。他の一つは上記同様のペーパークロマトグラフィーにより Rf0.15を示すタルクに良く吸着され、ニンヒドリン反応で特長ある桃色を呈する水銀試薬で沈澱しない物質である。残りの一成分は β -alanyl-l-methyl-histidine (anserine) で、濾紙電気泳動および別途に家兎骨格筋より調製せる標品との比較で同定した。これはまた哺乳動物の心筋より結晶状にアンゼリンを分離した初めての例である。かくしてここにまた抑制性因子の多成分説を提示した。なお蛙、マウス、および家兎の心筋に関しても検討し、本有効物質が牛心筋の種特異物質でないことをも確かめた。

次いで牛心筋の蛋白質分層に関して追求し、2%酢酸抽出物より酢酸ウラニル、安息香酸精製により、心臓機能に影響する一蛋白質を分離した。本物質はチゼリウスの電気泳動および濾紙電気泳動で検討し、超速心分離分析では単一性を示し、アミノ酸12種すなわちロイシン、フェニルアラニン、メチオニン、バリン、チロジン、アルギニン、アラニン、グリシン、ゼリン、アスパラギン酸、シスチン、トリプトファンから成る等電点 pH5.5, N:14.64%, P:1.04% で U.V. $\lambda_{\text{max}} 275 \text{ m}\mu$, 沈降恒数 $S_{2.61} \times 10^{-13}$ の糖質を含む蛋白質である。血圧を下降し、心臓運動の心搏振幅を増大する作用を有し、心筋中に存在が認められるカリクレイン様物質として“心一カリクレイン”と命名した。循環系ホルモンとして各種臓器中より分離されて来たカリクレインを心筋からも分離し得たものと認められる。

さらに心臓に対する作用の生物試験法において研究者により全く相反する結果が認められたのは、一つには生物試験法上の欠点に由来しているもので、著者は心臓ホルモンの bioassay に用いる特異的生物反応を検索してきたが、放射性同位元素 ^{32}P の心筋中への incorporation によって心臓に対する作用を間接に見出すことが出来ることを認めた。心臓機能抑制性有効物質またはその一成分であるアンゼリンのラットへの投与は同時に与えた ^{32}P の心筋中への incorporation を減少させ、これに反し心臓機能促進性の心一カリクレインでは増大させることを見出した。この事実はまた著者により提唱された促進性と抑制性の二因子説の裏付けともなり、放射性同位元素 ^{32}P の心筋中への incorporation に明らかに逆作用となつて実証されたのである。この作用の検出には percentage incorporation, 比放射能でも同様に認められるが、percentage incorporation と心臓重量を共分散分析した場合に最も検出能率が良い。しかし生物学的検定法として確立するにはラットまたはマウスでは用量—作用関係に一次的回帰関係をつかむことが困難

であったが、孵化後2日目もしくは4日目の雄雛については2 rから500 r/chick の用量範囲ではほぼ直線関係を認め、本生物反応が心臓作用活性物質に対する生物学的検定法たり得ることを確信した。

以上本研究により(1)心臓ホルモンの ATP, AMP 説の否定。(2)心臓ホルモンに関する促進性、抑制性の二因子説の提唱。(3)抑制性有効物質の精製とその諸性質の解明。(4)抑制性因子の多成分性の証明、と三有効成分の分離。とくにその一有効成分として牛心筋中より β -alanyl-l-methyl histidine の分離。(5)一促進性有効蛋白質として心一カリクレインの単離。(6) ^{32}P の心筋中への incorporation による二因子説の裏付。(7) ^{32}P を用いる心臓ホルモン検定法の基礎資料の確立。を成し得たものと考察する。

論文の審査結果の要旨

本研究は心臓ホルモンの本態の解明という大きな課題に取り組んだものである。すなわち心臓ホルモンの製品は現在も多数あり、その臨床上の価値もすでに古くから認められている。にもかかわらず現在まで化学的には全く未知の現状である。そこで本研究は今までの研究にとらわれず全く独自の薬学的立場から再検討したものである。その結果心臓ホルモンは今までアデノシン三リン酸 (ATP) であるかも知れないなどという学説の誤りを指摘し得たし、またさらに今までの心臓効力試験は種々の缺陷を有しているが、新しく心臓ホルモンの研究の発展に大いに寄与した ^{32}P を導入して行う方法を確立した。

心臓ホルモンには心臓機能を抑制的に作用するものと促進的に作用するものの二種類がありここに二因子説を確立した。すなわち抑制性物質には三つの有効物質があることを証明した。とくにそのうちの一つである β -alanyl-l-methylhistidine は、別にウサギの筋肉より抽出したものと同定し確認しているが、ウシ心筋からの β -alanyl-l-methylhistidine の単離という問題は現在までその存在が認められておらずここにはじめて完全に単離されたものである。この点は筋肉成分の研究大家である Deutschen Akademie の Wollenberger 教授によっても注目され、かつ支持されている。一方の促進性成分としては二物質を分離し、一つは有機溶媒可溶性でこれはスイス Basel大学のUbichinoneを発見したグループにより注目され、Ubichinoneとは異なるものとして彼等の研究とも一致しその存在を認められた。第二の蛋白分層は電気泳動、超遠心分離で単一性を示し、アミノ酸12種よりなる等電点 pH 5.5、沈降恒数 $S: 2.61 \times 10^{-13}$, U. V. $\lambda_{\text{max}} 275\text{m}\mu$ の糖質を含む蛋白質である。血圧も下降するし、心一カリクレインと命名している。これもその存在が Bioassay で認められているが単離は始めてである。

以上本研究により(1)心臓ホルモンの ATP 説の否定、(2)心臓ホルモンに関する抑制性、促進性の二因子説の提唱、(3)抑制性物質並びに促進性物質の多成分性の証明、(4) β -alanyl-l-methylhistidine の単離、(5)心一カリクレインの単離、(6) ^{32}P を用いる心臓ホルモン検定法の確立、を成し得たものと認める。