The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	赤血球によるThiamine 8- (methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfideの還元
Author(s)	本多, 文夫
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30029
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

【6】

氏名・(本籍)	本多文夫（ほんだふみお）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 1793 号
学位授与の日付	昭和44年8月5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	**赤血球による Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide の還元**
論文審査委員	(主査) 教授 川崎近太郎 (副査) 教授 青沼 繁 教授 岩田平太郎 教授 上原喜八郎

論文内容の要旨

Disulfide 型 Thiamine の多くは赤血球に対して高い親和性を示し，血球によって容易に還元され，遊離した Thiamine（以下 B_1 と記す）が血球に保持される。その場合，還元に関与する因子として還元型 Glutathione（以下 GSH と記す）あるいは Hemoglobin の SH 基が注目されているが，これらの還元因子が Disulfide 型 B_1 誘導体の血球移行に対してどのように対応しているかを詳細に検討した報告はみられない。

著者は Disulfide 型 B_1 誘導体のひとつである Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide（以下 TATP と記す）のウサギ血液中での代謝について研究を行なったが，血球の GSH が還元因子として重要な役割を果たしていることを確かめるとともに，TATD の血球移行に対応して起る血球 GSH の変化の様相を明らかにした。

第1章 血液中での Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide (TATD) の分解代謝

TATD を血液に添加して放置すると遊離 B_1 および酸型の Lipoic acid（以下 LiA と記す）活性物質が生成された。TATD を還元して B_1 を遊離させる活性因子は血球細胞，特にその内漿部に豊富であり，血漿の約12倍であった。

なお，LiA 構造部分のS－アセチル基，メチルエステル結合の加水分解活性について検討を行ない，血液中に存在することを確かめた。

* この化合物は Methyl 6-acetylthis-8-{2-{N-[(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl]formamido}-1-(2-hydroxyethyl)propenyldithio}octanoate であるが本文では日本ビタミン学会における慣用名を用いた。

第2章　Thiamine (B_1) および Lipoic acid (LiA) 構造部分の血球移行

ウサギに TATD を静脈内投与すると，B_1 そのものの投与にくらべて著量の遊離型 B_1 が血球細胞に保持され，結果的に血中遊離 B_1 の高濃度維持が観察された。しかし LiA 構造部分は血球に保持されなかった。その点を詳細に検討するために次に in vitro の実験を行なった。すなわち，洗浄血球懸濁液に TATD を添加して B_1 および LiA 構造部分の血球に対する動向を検討した。その結果，TATD は容易に血球細胞にとりこまれてただちに還元されること，還元後 B_1 部分のみが血球に保持され，脂溶性の LiA 構造部分は血球外へ遊離されることを知った。

第3章　血球による Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide(TATD) の還元

洗浄血球懸濁液に TATD を添加して反応させると，血球外部に還元性物質が増加し未分解の TATD を還元することを認めた。この還元性物質は，血球内部で TATD が還元されたあと血球外へ遊離される LiA 構造部分の還元型のものであると考えられた。

TATD と反応させたあとの血球懸濁液上清部の LiA 活性物質について Bioautography および Radioautography による定性的検討を加えたが，主たる生成物としては LiA（またはその還元型）およびその Oxide 型化合物と考えられる物質が検出されたにとどまった。

第4章　Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide (TATD) と Glutathione の反応

TATD は GSH によって交換分解反応による還元をうけ，定量的に B_1 を遊離し，LiA 構造部分は GSH と結合して非対称型 Disulfide 化合物を生成した。このものは，いろいろの還元剤によりさらに還元的分解をうけるが GSH では還元され難かった。しかし，中性あるいはアルカリ性においては Disulfide 交換反応により酸化型 Glutathione（以下 GSSG と記す）を生成した。血液あるいは臓器抽出液により分解されることを認めた。

第5章　Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide (TATD) との反応による赤血球 Glutathione の変化

赤血球の TATD 還元因子の性質について検討を行ない，このものが SH 基を活性基とするものであり，耐熱性，透析性の低分子化合物であることを明らかにした。一方，TATD の還元に対する非透析性の高分子 SH 化合物の寄与率が低いことを認めた。これらの結果から，還元因子として主要な役割を果たしているのは GSH であると考えられた。

次に，TATD との反応にともなう赤血球 GSH の変化について検討を行ない，血球細胞に TATD を反応させると血球 GSH が酸化されて GSSG を生成すること，GSSG から GSH への回復がイノシンまたはグルコースの添加によって促進されることを明らかにした。

第6章　赤血球による Thiamine 8-(methyl 6-acetyldihydrothioctate) disulfide (TATD) の還元と Glutathione reductase 系との関連

透析処理した血球溶血液に触媒量の GSH を添加した系での TATD の還元は，Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate（以下 NADP と記す）＋Glucose-6-phosphate（以下 G6P と記す），あるいは還元型 NADP（以下 NADPH と記す）の添加によって著しく促進された。GSH が存在しない場合にはこのような促進効果は認められなかった。したがって，この促進効果は Glutathione reductase 系を介した GSH の再生効果によるものと解釈された。赤血球には，その促進効果を説明するのに充分な量の Glutathione reductase が G6P dehydrogenase と共役して存在する。また赤血球では Hexose monophosphate 径路によるグルコース酸化はきわめて乏しいが，TATD の添加により強く賦活された。これは，TATD との反応によって生成された GSSG が，Hexose monophate 径路と共役した Glutathione reductase 系を介して，グルコースの消費をともないながら再び GSH に帰してゆくためと考えられた。

結　　論

TATD の血液中での代謝および赤血球との反応を，ウサギの血液を材料として検討し，以下の結論を得た。

(1) TATD は血液中ではすみやかに代謝され，遊離の B_1 および 6, 8-Dimercapto octanoic acid または LiA 生成した。

(2) TATD を還元して B_1 を遊離させる活性因子は，血球細胞，特にその内漿部に豊富に存在する。

(3) 血液あるいは血球懸濁液において TATD が還元された場合，B_1 は主として血球細胞に遊離のかたちで保持されたが，LiA 構造部分は血球に保持されることはなく血球外部に分布した。

(4) 赤血球において TATD の還元因子として主要な役割を果たしているのは GSH である。

(5) TATD は GSH によって交換分解反応により還元され，定量的に B_1 を遊離し，LiA 構造部分は GSH と結合して非対称型 Disulfide 化合物を生成した。このものは中性，アルカリ性においてはさらに分解され GSSG を生成した。

(6) TATD などの赤血球へとりこまれ得る Disulfide 型 B_1 誘導体との反応により，赤血球の GSH は酸化され GSSG に変化した。GSSG は再び GSH に復帰し得るが，その過程はグルコースあるいはイノシンにより促進された。

(7) TATD との反応の結果生成された GSSG が GSH に復帰される機序は，Hexose monophosphate 径路と共役した Glutathione reductase 系を介するものであると考えられた。

論文の審査結果の要旨

還元型リポ酸と Thiamine との結合した Disulfide 化合物である Thiamine 8-(methyl-6-ac-

etyldihydrothioctate) disulfide が赤血球にとりこまれ還元され Thiamine が血球中に，リポ酸が血球外部に存在することを確認し，血球内の還元反応においてグルタチオンおよびその Reductase が関与することを明かにした。

よって本論文は薬学博士を授与するに価値あるものと認める。