



Title	細菌性発熱物質に関する生理学的研究
Author(s)	持田, 研秀
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30972
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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

【8】

氏名・(本籍)	持 ^{もち} 田 ^だ 研 ^{けん} 秀 ^{しゅう}
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 2891 号
学位授与の日付	昭和48年7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	細菌性発熱物質に関する生理学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 岩田平太郎 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 鎌田 皎 教授 三浦 喜温

論 文 内 容 の 要 旨

緒 論

発熱および発熱性物質に関する研究は多くの感染症にとまらず、炎症、アレルギー、免疫反応などと密接に関連し、発熱という徴候を解析することにより臨床上有力な持標を与え、生体恒常性の情報を把握することができる。さらに、発熱性物質を分子レベルで生体反応と対応させて理解しうる利点は、生理学的に重要な意義を有するものと考えられる。

発熱性物質は微量で恒温動物に異常体温を惹起させる物質の総称を云い、Westphal, Luderitz ら一門の広汎な研究によりグラム陰性菌の莢膜を構成する不溶性の lipopolysaccharide が最も強い発熱活性を示し、複雑な内因性の因子をはじめ、硫黄および脂肪コロイド、2,4-dinitrophenol, LSD などの化学物質も含まれるが、発熱性物質相互の相関性は明らかではない。

一方、細菌性発熱物質を生体に投与するとき惹起される発熱現象はその一部が視床下部にある温熱中枢に働き、他は多核白血球および細網内皮系細胞に作用し二次的に産生される内因性発熱物質を媒介し発熱反応がおこるといふ Wood, Atkins らの発熱理論を主流としているが、尚矛盾なく受け入れられる統一的な解釈は確立されていない。この事実は発熱現象が感染における主要な徴候であるにもかゝらず、発熱機構にかゝわる一連の過程の生理学的、病態生化学的問題の複雑さを示している。

そこで、著者は医薬品の安全性確保に携わる業務を行なう立場から、細菌性発熱物質の化学的性状と発熱活性の相関性を明らかにし、細菌性発熱物質と生体の発熱機構に関連するさまざまな要因を解析することを目的に、末梢から温熱中枢の刺激作用にいたる一連の発熱反応の過程について生理学的研究を行なった。

第I編 細菌性発熱物質の抽出とその化学的性状について

グラム陰性桿菌の莢膜成分である lipopolysaccharide は抗原性と毒性に密接な関連性があるが、その構造や種属特異性は明らかではない。そこで、最も発熱活性の高い *E. coli* の lipopolysaccharide の純化を試み、その化学組成と発熱活性について検討を行なった。

E. coli UKT-B のアセトン乾燥菌体より Westphal らの温90%フェノール・水(1:1)抽出法にしたがいアルコール沈殿を繰返したのち、DEAE-Sephadex (A-50) による吸着法で RNA を完全に除去した標品を得た。

この標品は超遠心分析(0.1M tris-塩酸緩衝液 pH8.0)により沈降定数14.3S、拡散定数2.43、変比容0.66、比粘度1.00という結果から推定ミセル量は 419,000となる。また、チゼリウス電気泳動(磷酸緩衝液 pH8.0、14mA、105V、35分)により均一の純度の高い lipopolysaccharide であることがわかった。その化学組成は glucose, galactose, glucosamine および heptose を含む多糖体部分と 2-keto-3-deoxyoctonic acid を介する lipid Aからなり、Luderitz らの O 抗原の Ra 型に属し、C. M. C. 測定の結果からミセル形成能を有する両親媒的な構造をもつと推定される。さらに、正常家兎に静注するとき最小発熱量は $0.002\mu\text{g}/\text{ml}/\text{kg}$ で、典型的な二峰性の発熱曲線を示した。

第II編 細菌性発熱物質の安定性と発熱活性の関係について

一般にグラム陰性桿菌の lipopolysaccharide は酸またはアルカリ処理、トリプシンまたはリパーゼなどの酵素消化に抵抗し急激な発熱活性の低下を認めないし、光あるいは加熱曝露による虐待に対しても比較的安定な高分子とされ、注射剤製造時に細心の注意が払われている。そこで、加熱あるいは過ヨード酸処理による構造と発熱活性の変化について検討した。lipopolysaccharide は、 56° 、2時間あるいは 250° 、15分間の加熱で不活化され、その分解産物はそのミセル構造と糖組成に変化をうけている。また過ヨード酸により dialdehydeにまで酸化され、超音波処理によっても不活化が促進されることがわかった。

第III編 細菌性発熱物質の発熱活性におよぼすデオキシコール酸塩の影響について

家兎に lipopolysaccharide と deoxycholate を混注するとき、ミセル崩壊により低分子化が起こり発熱活性は失格したが、透析により deoxycholate を除去するとミセルの会合が進み発熱活性が回復した。この同一分子間に惹起するミセルの解離あるいは会合が、発熱反応に著しい影響を与えている事実から、内毒素の発熱反応は lipopolysaccharide のミセルサイズのみ依存するの否かを解明する必要がある。そこで、Wood, Atkins らの一連の細菌性発熱物質による発熱反応過程において deoxycholate の作用を検討した。

Deoxycholate は lipopolysaccharide ($1.0\mu\text{g}/\text{ml}$) に対し0.125~0.5%濃度範囲で発熱活性を抑制し、一週間の透析により完全に回復した。また希釈によっても部分的に復元した。このような活性の変化に伴ってミセル量はよく対応することが認められた。

Deoxycholate は多核白血球より産生する白血球性発熱物質に対して不活化作用を示さず、その遊離を抑制しない。また、内毒素共通の属性である血管透過性、アドレナリン増感作用および発熱耐性にも影響を与えなかった。さらに、多核白血球に対し呼吸抑制あるいは乳酸産生の抑制など特徴的な薬理作用を認めたが、血清の添加により拮抗的に回復した。したがって、deoxycholate は lipopo-

lysaccharide のミセル崩壊に関与した界面活性作用と推定された。

第IV編 細菌性発熱物質のミセルサイズと中枢作用の関係

前編までの結果は、家兎に対する細胞壁由来の lipopolysaccharide の発熱活性は、ミセル量に著しく影響されることを示唆している。そこで温熱中枢の刺激機構に対して末梢血流中に投与された発熱物質の移行を解明するため、脳脊髄液中の lipopolysaccharide の発熱反応について検討を試みた。

正常家兎の大槽内の脳脊髄液中に membrane filter で分画した一定のミセルサイズ ($5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$) の lipopolysaccharide を投与するとき最も高い発熱活性を認めた。さらに、静脈内に deoxycholate を投与したときと同様に発熱活性とミセル量の reversible な相関関係が脳脊髄液中においても成立した。これらの事実は、末梢血流に投与された一定のミセルサイズの lipopolysaccharide は選択的に血液-脳関門を通過し脳脊髄液に移行することを示している。

結 論

発熱反応における細菌性発熱物質の作用機序を解明するためにグラム陰性桿菌由来の lipopolysaccharide の純化を試み、最も強い発熱活性を示す標品を得た。この lipopolysaccharide 標品は両親媒性のミセル構造を有し、過酷な条件において加熱、過ヨード酸化によりミセルサイズが変化し発熱活性が不活化された。さらに、deoxycholate の界面活性作用により磷脂質類似の解離あるいは会合がおこり発熱活性の抑制、回復が認められた。しかし、多核白血球より産生される白血球発熱物質に対して、deoxycholate は不活化作用を示さず、その遊離も阻害しない。また、多核白血球の呼吸抑制あるいは乳酸産生の抑制を認めたが、血清の添加により拮抗的に回復した。したがって、deoxycholate の発熱反応の不活化はミセル崩壊に直接関与する界面活性作用によるものと解される。ついで、家兎の大槽内の脳脊髄液中に membrane filter で分画した $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ のリポ多糖を投与するとき最も高い発熱活性を認めた。これらの事実から、末梢血流中に投与された一定のミセルサイズの lipopolysaccharide が大槽内の脳脊髄液に移行し、温熱中枢に働き発熱反応を惹起するという発熱理論に統一的な解釈を与えることができた。

論文の審査結果の要旨

細菌性発熱物質の化学的性状と発熱活性の相関性を明らかにし、細菌性発熱物質と生体の発熱機構に関連する要因を解析することを目的に生理学的研究を行なった。その結果、末梢血流中に投与された一定のミセルサイズの細菌性発熱物質が脳脊髄液に移行し、温熱中枢に作用して発熱反応を惹起するという発熱理論に統一的な解釈をあたえた。したがって本論文は薬学博士の称号を授与するのにふさわしいものであると考える。