

Title	ヒト赤血球膜でのコレステロールの効果ースピラベル法による
Author(s)	須田, 武雄
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32903
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

[25]

氏名・(本籍)	須 田 武 雄
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 0 5 5 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 8 月 6 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	ヒト赤血球膜でのコレステロールの効果—スピンラベル法による
論文審査委員	(主査) 教授 中馬 一郎 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 中山 昭雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

生体内での赤血球の重要な機能は、末梢組織へ酸素を運搬する事であるが、この機能に影響する因子としては、ヘモグロビンの酸素平衡機能以外に、赤血球自身の変形能や血液粘度が、血液循環を考える上で重要である。たとえば、赤血球膜コレステロール (chol) 量を増すと、赤血球の変形能が低下し、赤血球浮遊液の粘度が上昇する事を、既に報告した。このように膜chol量の増加した赤血球の変形能が低下する原因として、膜の「かたさ」(膜流動性)の変化が果す役割は大きいと考えられる。そこで、赤血球の「かたさ」に及ぼすcholの影響を知る目的で、膜内に取り込まれた脂質スピラベルの運動性を、電子スピン共鳴法 (ESR) を用いて調べた。

〔方法ならびに成績〕

- (1) cholアナログとしてアンドロスタン・スピラベル (ASL) を用い、ヒト赤血球膜への取り込み形式を調べた。リン脂質 (P) にASLを加えて人工膜 (vesicle) を作製し、これを赤血球膜へ取り込ませた。Scatchard plotの結果から、赤血球膜はASLに対して見掛上複数のsiteを持つ事が示された。しかし、ASLはcholと同様にsterol骨格を有しているから、同じデータについてASLとcholの和を総sterolとすると、vesicleの赤血球膜の間のリン脂質量比に応じて (chol+ASL) が分配され、このときの分配係数が、ほぼ1となる事がわかった。次に、ESRスペクトルを解析すると、膜内ASLの増加に伴ないASL分子自身の運動性が抑制される事がわかった。つまり、膜内sterol (chol+ASL) 量が増加すると、いわゆる膜流動性が低下する事を示している。
- (2) chol自身の膜に対する影響をみると、人工的に赤血球膜内chol量を増加させたとき膜内のスピ

ンラベル (ASLもしくは脂肪酸ラベル (FAL)) の運動性が抑制された。

(3) 赤血球膜から抽出した一定量のリン脂質にcholを加えて、chol量 (chol/P=C/P比) の異なるvesicleを作製し、vesicle内のASLの運動性を測定した。赤血球膜の場合と同様に、膜内cholの増加によって、vesicle内のASLの運動性は抑制された。赤血球膜 (C/P=0.9) 内ASLの運動性とC/P=0.9のvesicle内ASLの運動性が同程度である事から、正常赤血球膜内ASLの運動性は、主に膜内chol量 (C/P比) に依存する事がわかった。

(4) sterolの膜内存在状態に及ぼす膜タンパク質の影響を調べる目的で、赤血球をグルタルアルデヒド (GA) で固定し、膜内ASLの運動性を測定した。ESRスペクトルから、GA処理した赤血球膜内ASLの存在状態には運動性の異なる3種の存在状態がある事が示唆された。第1のスペクトルは、正常赤血球やvesicleに認められるもので、膜脂質部分に存在するASL分子を示す。第2に、ASL分子の集合体を示すスペクトルが認められ、膜内でsterolが異常に増加した場合 ($[\text{chol}+\text{ASL}]/[\text{P}]\approx 2$) に、sterolの集合体が形成される事を示している。尚、GA処理赤血球では、未処理の赤血球に比べ約3倍量のASLが溶血を起こさずに取り込まれていた。第3のスペクトルは、温度と無関係に、ASLの運動性が停止している事を示し、このスペクトルは、膜タンパク質とASLとの間の強い相互作用による結果と考えられる。なぜならば、赤血球膜抽出脂質より作製したvesicleをGA処理しても、膜内ASLの運動性に全く変化が認められなかった事から、以上のGA処理赤血球膜におけるsterol存在状態の変化は、膜タンパク質のcross-linkageに起因するものと考えられた。

[総括]

ASLのような、非エステル型sterolは、vesicleから赤血球膜へリン脂質の量にしたがって分配され取り込まれる。赤血球の総sterol (ASL及びchol) が増加すると、膜内のsterol (ASL) や脂肪酸鎖 (FAL) の運動性は抑制される。正常赤血球膜内のスピンラベルの運動性は、主として膜内chol量 (C/P比) によって定められ、膜タンパク質の影響は少ないと考えられる。しかし、GA処理した赤血球膜では、sterol分子の運動が停止したり、sterolの集合体が形成されたりする場合がある。

赤血球膜内chol増加の病態生理学的意義として、本研究で示したように膜chol量の増加に伴ない、膜流動性が低下し、赤血球膜が「かたく」なることがあげられる。このような赤血球は、膜が「かたい」ため変形能が低下し、さらに流動時のズリ応力によっても変形されにくいいため赤血球浮遊液の粘度が上昇するものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

本論文は、ヒト赤血球膜コレステロール増加時の機能障害に関し、膜コレステロールの存在状態を検討したものである。その結果(1)ステロイドの膜への分配に伴う脂質相変化による膜流動性の低下、(2)膜蛋白の変化によるステロイド集合体形成と膜流動性の低下を明らかにした。既に、膜コレステロール増加に伴う機能障害の分子機構解明に寄与した点で学位論文としてふさわしい内容を持つものと判断される。