

Title	ムラサキイカ (<i>Ommastrephes bartrami</i> LESUEL) 由来の低分子メラニン, Fr. SM II の抗潰瘍性に関する研究
Author(s)	前田, 和宏
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/34712
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【7】

氏名・(本籍)	まえ だ かず ひろ 前 田 和 宏
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 6 8 5 0 号
学位授与の日付	昭 和 6 0 年 3 月 2 5 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	ムラサキイカ (<i>Ommastrephes bartrami</i> LESUEL) 由来の低分子 メラニン, Fr. SM II の抗潰瘍性に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 青沼 繁 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 岩田平太郎 教授 三浦 喜温

論 文 内 容 の 要 旨

微生物の二次代謝産物あるいは哺乳類の体毛や頭足類の墨袋にみられるメラニン色素は細胞内のTyrosinaseにより酸化縮合を受け生合成されるが、その際に蛋白質を取り込むためメラノプロテインとして存在する。この興味ある特殊な物質の化学的構造、生合成経路および薬理学的効果は、その難溶性性状のため最近まで詳しく研究されていなかった。近年その薬理学的効果として、放線菌 *Str. bottropensis* 由来のメラニン色素 G I S やマダコメラニン OM が胃液分泌抑制に基づく抗潰瘍活性を有することが知られるようになった。

著者は海洋生物からの新しい抗潰瘍薬の開発を目的として、*Ommastrephes bartrami* LESUEL 墨袋から、ラット幽門結紮法をスクリーニング系として用い、有効成分の単離、精製を行なったところ、低分子メラニン分画、Fr. SM II を得た。

Fr. SM II はゲル電気泳動、等電点電気泳動法で単一に挙動し、その等電点は pH 2.6、平均分子量は、39,000 であった。化学構成成分として黒褐色色素 90.0%、蛋白質 5.8% を含有し、0.8% 存在する糖質の大部分は蛋白質と O-グリコシド結合していると推察された。また各種変性剤処理に対し色素成分と蛋白成分は解離せず、かなり安定なメラノプロテインとして存在することを認めた。またその胃液分泌抑制活性に基づき幽門結紮潰瘍に予防効果を有することが明らかとなった。そこで Fr. SM II の抗潰瘍作用のメカニズムを検討するために、まず胃液分泌抑制機構を検討した。

胃液分泌は大別して体液性および神経性因子により調節されていると考えられる。しかし Fr. SM II は gastrin, histamine などの体液性因子ならびに迷走神経、内臓神経などの神経因子に対して全く影響を与えず、また壁細胞で胃液分泌にたずさわっている carbonic anhydrase, Mg⁺⁺-ATPase などの酵素系にも何ら効果

を示さなかった。次に最近胃液分泌に対し促進的に働く生体成分として知られるようになったbradykinin (BK) に及ぼすFr.SM II の効果を調べたところ、BK刺激による胃液分泌亢進に対して何ら抑制効果を示さなかったが、胃粘膜の内因性BK含量を著明に減少させた。そこでBK産生酵素に着目し胃粘膜のBK産生酵素活性、血清kallikreinおよびplasmin活性を測定したところ、Fr.SM II はこれらに対し著明な抑制効果を示した。この結果はBKがchemical mediatorとして働く急性炎症に対しFr.SM II が抑制する事実とよく一致していた。

実験潰瘍モデルを作成しそれに対する有効性を検討することは、抗潰瘍剤の作用点を解析するために必要である。そこでFr.SM II の各種実験モデルに対する効果を検討した結果、Fr.SM II は幽門結紮潰瘍以外に胃の防禦力の低下によって生じるPhenylbutazone (PB), aspirin (Asp) 潰瘍ならびにstress潰瘍に対して著明な予防効果を示した。これらの結果からFr.SM II は攻撃因子の胃液分泌を抑制するのみならず、防禦因子を増強させることで抗潰瘍作用を発現すると推察された。そこで次に胃の防禦機構への影響を詳細に検討した。すなわちPBおよびAsp潰瘍ラットの腺胃部の粘液糖蛋白質の挙動をその構成成分であるhexosamine, sialic acidおよびuronic acid含量を指標に測定したところ、Fr.SM II をPB, Aspと併用投与したラット腺胃部の各構成成分は無処理 (Intact) レベルもしくはそれ以上に増加していた。これらの実験結果は胃粘膜の組織学的観察によっても確認された。一方Asp潰瘍モデルで採取した胃液中のhexosamine含量はFr.SM II 併用投与群とAsp単独投与群との間に差が認められなかった。以上の結果は、Fr.SM II でもたらされた腺胃部糖蛋白質の増加が胃腔内への糖蛋白質の分泌抑制の結果生じたものでなく、糖蛋白質の分解抑制あるいは生合成の促進に基づく可能性を示唆した。そこでFr.SM II の胃粘膜ムコ多糖分解酵素 (MPase) に対する影響を検討したが、Fr.SM II はPB潰瘍時に上昇するMPase活性を明らかに低下させ、分解系の抑制効果を有することが明らかとなった。しかしながらFr.SM II はMPase活性をIntactレベルまで抑制しないので、分解系の抑制効果のみでは腺胃部糖蛋白質がIntactレベル以上の値を示す現象を十分に説明出来ない。そこで $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ の腺胃部の酸性糖蛋白質への取り込み実験を実施したところ、Fr.SM II の投与後4-6時間目をピークとする放射活性の取り込み増加が認められ、糖蛋白質の生合成される時期と一致したことより、Fr.SM II の生合成促進作用も明確となった。

胃粘膜の糖蛋白質含量と潰瘍発生との間に強い相関性がみられ、糖蛋白質が胃粘膜防禦機構に重要な役割を担っていることはよく知られているが、実際にどのような糖蛋白質が何如なる機能を果しているかは判っていない。この点を明らかにするために、まずラット腺胃部より抽出した糖蛋白質をSephrose 6Bカラムにてゲル濾過したところ3つのピーク (高分子側からPeak I, II, IIIと命名) 分画された。一方PB潰瘍時の腺胃部からの高分子糖蛋白質 (Peak I) 含量のみが著明に減少し、他の二つの分画には全く変化が認められなかった (Asp潰瘍ラットでも同傾向がみられた)。従って潰瘍の消長と最も密接に挙動しているのは糖質68.1%, 蛋白質21.8%の化学組成をもつPeak I であることが判明した。さらに潰瘍発生と脂質の過酸化の関係を検討したところ、PB, Asp潰瘍の程度に比例して腺胃部の過酸化脂質量の増大が確認された。同時に測定したPeak I 含量は逆に低下していた。このPeak I は脂質過酸化抑制作用やlysosome膜安定化作用を示すことから、これらの作用が胃粘膜保護に役立っていると推察された。一方、Fr.SM II をPBおよびAspと併用投与すると、Peak I 含量の特異的減少が抑制されむし

るPeak IはIntactレベルに増加していた。またFr.SM IIはP BやAspで上昇する過酸化脂質量をIntactレベルに抑制した。以上よりFr.SM IIの抗潰瘍活性の発現のメカニズムとして胃液分泌抑制活性のみならず、腺胃部での糖蛋白質Peak I含量を増加させることによる胃粘膜保護作用を認めた。

論文の審査結果の要旨

ラット胃液分泌抑制活性を指標としてムラサキイカ墨袋より活性成分の抽出・精製を行なった結果、活性本体として低分子メラノプロテイン分画 (Fr.SM II) を得、このものはB K産生酵素活性の抑制に基づき胃粘膜B K量の低下をもたらし、胃液分泌を抑制することを明らかにした。またFr.SM IIは幽門結紮、P B、Aspおよびstress潰瘍に対し予防効果を示し、糖蛋白質分解系の抑制と生合成系の促進に基づき糖蛋白質含量を増加させ、その増加した成分は高分子糖蛋白質 (Peak I) と判明した。さらに抗潰瘍活性の発現のメカニズムとして胃液分泌抑制活性以外に、脂質過酸化抑制効果および膜安定化作用を有するPeak I含量の増加作用を認めた。

よって薬学博士としての価値ある論文と認める。