

氏名・(本籍)	たか はし まさ ゆき 高 橋 正 行 (滋賀県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第5号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日	昭和60年3月23日
学位論文題目	Vascular Effects of 15-Hydroperoxyeicosatetraenoic acid and 15-Hydroxyeicosatetraenoic acid on Canine Arteries (イヌ動脈に対する15-Hydroperoxyeicosatetraenoic acid と15-Hydroxyeicosatetraenoic acid の血管作用)

審査委員	主査 教授	戸 田	昇
	副査 教授	河 北	成 一
	副査 教授	上 田	潔

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

様々な刺激によって、生体膜のリン脂質からアラキドン酸が遊離されて、プロスタグランディン、トロンボキササンA₂、プロスタサイクリン、ロイコトリエンおよびその他のリポキシゲナーゼ代謝産物といった血管作動物質の前駆体となる。15-リポキシゲナーゼ系はアラキドン酸カスケードの中ではまだ未開拓の分野であり、その血管作用についてはよく知られてはいない。そこで、15-Hydroperoxyeicosatetraenoic acid (15-HPETE) と15-Hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE) を精製してイヌ動脈への作用を調べた。

〔方 法〕

- (1) 15-HPETEと15-HETEの精製：アラキドン酸と Soybean lipoxygenase を酸素で飽和させた緩衝液の中で反応させ、反応物をエーテルで抽出した。抽出物を減圧蒸留の後、薄層クロマトグラフィー (TLC) で分離し、15-HPETEを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で精製した (純度96%)。15-HPETEをNaBH₄で還元して得られた15-HETEをHPLCで精製した (純度99%)。
- (2) 摘出イヌ動脈に対する15-HPETEと15-HETEの作用：ペントバルビタールで麻酔した雑種成犬より取り出した冠状動脈と脳動脈のラセン状切片を作り、それをマグヌス法で懸垂し張力の変化を圧トランスデューサーで電気信号に変え、増幅器で増幅し、ペン書き記録装置に記録した。安静時張力下で、またはPGF₂αで部分収縮を加えたあとで15-HP

ETE又は15-HETEを累積的に加えた。30 mM KClによる収縮と0.1 mM Papataverineによる拡張をそれぞれ100%の収縮と拡張の標準とした。

- (3) アラキドン酸代謝に対する15-HPETEと15-HETEの作用：30-50 mgの動脈片（冠状動脈と脳動脈）をBuffer, 15-HPETE又は15-HETEと20分反応させたあとで、0.5 μ Ciのアラキドン酸と30分反応させた。反応後、反応液をpH 3とし、冷却後、クロロホルムで抽出した。抽出物を蒸留乾固し、TLCで反応物を分離した。TLCを3mm毎にかきとって放射活性を測定した。
- (4) 椎骨動脈造影：ペントバルビタールで麻酔した雑種成犬を用いた。大脳溝に15-HPETE又は15-HETEを注入して、直前及び30-60分毎に左椎骨動脈造影を施行した。

(結果)

安静時張力で15-HPETEは摘出脳動脈に濃度依存性の収縮をもたらした。一方PGF₂ α で部分収縮を加えたあとで15-HPETEは冠状動脈に濃度依存性の拡張をもたらした。15-HETEは摘出脳動脈と冠状動脈に対して15-HPETEと同じ作用を示したが、ED₅₀値は15-HPETEのより大きい値を示した。アスピリンの前処置によって15-HPETEによる冠状動脈の拡張は完全に抑制されたが、トラニルサイプロミンの前処置によっては影響されなかった。アスピリンとイミダゾールは15-HPETEによる脳動脈の収縮を少し増強した。

摘出した脳動脈と冠状動脈を3H-アラキドン酸と反応させると、6-keto-PGF₁ α とHETE(s)の産生がみられた。15-HPETEと15-HETEは6-keto-PGF₁ α の産生を抑制し、15-HPETEはHETE(s)の産生を促進した。冠状動脈において、アスピリンは6-keto-PGF₁ α の産生を抑制し、15-HPETEによるHETE(s)の産生促進を抑制した。

2 mgの15-HPETEをクモ膜下腔に注入すると頭蓋内動脈の強い収縮が生じた。頭蓋内動脈は最大収縮に達するのに約2時間かかり、頭蓋内動脈の強いスパズムがみられた。一方15-HETEはクモ膜下腔に注入しても頭蓋内動脈には変化がみられなかった。

(考察)

アラキドン酸の5, 12, 15-リポキシゲナーゼ代謝物は血管収縮作用を持つことが知られている。我々はTLCで分離した15-リポキシゲナーゼ代謝物に少なくとも5つの代謝物があることをHPLCで示した。精製した15-HPETEが摘出脳動脈を収縮し摘出冠状動脈を拡張することが示された。また摘出動脈に対して15-HETEは15-HPETEと同じ作用を示すことがわかった。15-HPETEによる脳動脈の収縮にはPGI₂の合成阻害と血管収縮性のリポキシゲナーゼ代謝物の産生促進が関与し、血管収縮性のプロスタグランジン \cdot α -リセプター \cdot 5-HT-リセプター \cdot ヒスタミン-リセプター \cdot ACH-リセプターは関与しないと思われた。15-HPETEによる冠状動脈の拡張にはPGI₂は関与せず、拡張性のリポキシゲナーゼ代謝物の産生増加によるものと考えられた。クモ膜下腔注入によって15-HPETEは頭蓋内動脈に強いスパズムを生じたが15-HETEは効果がなかった。このことは生体内の脳動脈の収縮には14, 15-エポキシイド、15-ロイコトリエン、リポキシシン等が関与しているか、15-HPETEの直接作用か、活性酸素が関与している事を示している。

(結論)

- (1) 15-HPETEと15-HETEをHPLCで精製した。

- (2) 15-HPETEと15-HETEは摘出イヌ脳動脈を収縮した。
- (3) 15-HPETEと15-HETEは摘出イヌ冠状動脈を拡張した。
- (4) 15-HPETEと15-HETEは動脈のPGI₂合成酵素を阻害し、15-HPETEは動脈のリポキシゲナーゼを活性化すると推定した。
- (5) アスピリンはPGI₂合成酵素を阻害し、15-HPETEによって活性化されたりポキシゲナーゼを阻害すると推定した。
- (6) in vivo では15-HPETEが脳動脈にスパズムを招来したが、15-HETEでは全く変化が無かった。

論文審査の結果の要旨

本論文は、最近注目されているアラキドン酸の lipoxigenase 代謝産物のうち15-hydroperoxyeicosatetraenoic acid (15-HPETE) と15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE) の血管作用を扱った興味あるものである。著者らは、15-HPETEと15-HETEが脳動脈収縮作用を示す一方冠動脈弛緩作用をひきおこすことを、イヌ摘出血管を用いて始めて明らかにした。15-HPETEが脳血管攣縮の発生に関与する可能性が生体位イヌを用いた実験でも示された。15-HPETEの冠動脈弛緩作用に lipoxigenase 産生物質の関与することが薬理的、生化学的方法によって示唆されている。本研究では15-HPETEと15-HETEの純品を作成し使用したこと、脳動脈と冠動脈に逆の作用をひきおこすことを明らかにした点が評価される。これらの動脈における当該物質の作用機序の分析と得たデータの考察には今後検討と再考を要する点もみられるが、現状のまゝでも学位論文としての水準に達しているとのことで全委員の意見の一致をみた。

副論文にも努力のあとが認められる。研究発表会での質問に対する応答もおゝむね適切であり、論文の内容を十分把握していると判断された。