

(59)

氏名(生年月日)	マンノスミエ 萬野純恵
本籍	
学位の種類	医学博士
学位授与の番号	乙第704号
学位授与の日付	昭和60年2月15日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	トルエン, 2,4-ジイソシアネート(TDI)による赤血球形態変化に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 降矢 熒 (副査) 教授 石津 澄子, 教授 渡辺 宏助

論文内容の要旨

研究目的

赤血球は種々の要因により形態変化をひき起こすが、その特殊な形態である discocyte の形態成立および保持因子として膜の脂質あるいは蛋白質の何れが主役を演ずるかという点に関し、今なお議論の多いところである。著者はトルエン-2, 4-ジイソシアネート(TDI)の生体系への作用機序の解明を念頭におきながら、TDI 処理による赤血球の形態と性状の変化を観察し、変化に寄与する膜内要素と形態変化の機作について検討を行い、TDI による赤血球の変形機構、さらには赤血球の形態の成立および保持因子を解明する一助として本実験を行なった。

実験方法

ヒト赤血球の等張緩衝液中に浮遊し、氷浴中で TDI と反応させ、得られた TDI 処理赤血球の形態を走査電子顕微鏡を用いて観察し対照赤血球との比較検討を行った。一方、TDI 処理赤血球の低張溶液に対する低抗性、細孔(径 $8\mu\text{m}$ フィルター)を通過しうる変形能を測定し、対照赤血球から得られた結果と比較、検討した。TDI 処理赤血球からイソプロパノール・クロロホルム混液を用いて膜脂質を抽出、IATROSCAN TH-10TLC/FID アナライザーを用いてリン脂質を分析し、膜蛋白質は Laemmli の方法に準じ SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法により分画を行ない、対照赤血球から得られた結果と比較検討した。

次に、Hanahan らの方法によりヒト赤血球から膜を分離し球状型のゴーストを調製した。得られたゴーストに各種イソシアネート化合物を作用させ、形態、膜

蛋白質の電気泳動像を観察し、対照ゴーストから得られた結果と比較、検討した。また、トリプシンを用いて予めゴーストの蛋白質の部分的水解を行い、TDI 処理によるゴーストの形態変化に及ぼす影響を調べた。

結果

- 1) TDI は濃度依存的に赤血球を内方陥没型に変化させる。
- 2) TDI 処理赤血球では細孔を通過する変形能の低下がみられ、水に対する溶血抵抗性の増加がみられた。これらは何れも TDI 濃度依存性を示した。
- 3) 赤血球から細胞内可溶成分を除去した形質膜(ゴースト)を用いても TDI による形態変化が再現される。
- 4) ゴーストの形態変化をおこさせるイソシアネート化合物は二価性であることを要する。
- 5) 赤血球膜内における TDI 反応物質はアミノリン脂質および裏打蛋白質(特にスペクトリン)の両者であり、TDI はこれらを単独あるいは他のものと架橋重合化させる。
- 6) 膜蛋白質に対し予めトリプシン水解を行うと、TDI によるゴーストの形態変化は阻害される。

結論

TDI は赤血球膜を架橋重合化し、形態を内方陥没型に変化させる。この形態変化には少なくとも膜蛋白質の関与を必要条件とする。

すなわち、赤血球の形態成立および保持因子として、膜の脂質よりはむしろ蛋白質が重要な役割をなすものと考えられる。

論文審査の要旨

本研究は、ヒト赤血球および赤血球ゴーストに二価性架橋剤であるトルエン-2,4-ジイソシアネートを *in vitro* で作用させて TDI 濃度依存性の内方陥没を起こさせ、この形態変化が膜の脂質および裏打ち蛋白質（特にスペクトリン）の架橋重合に基づくことさらに、トリプシン水解を受けたゴーストは TDI による形態変化能を失うことを見出し、この変形には膜蛋白質の関与を必須条件とすることを明らかにしたものである。

正常ヒト赤血球の形態の成立および保持の機構の説明に寄与すること大であり、学術上価値ある論文である。

主論文公表誌

トルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) による赤血球
形態変化に関する研究

東京女子医科大学雑誌 第54巻 第7号
581頁～594頁 (昭和59年7月25日発行)

副論文公表誌

- 1) フルクトース摂取の人体に及ぼす影響
女子栄養大学紀要 3 20～27 (昭47)
- 2) 蔗糖大量投与の人体に及ぼす影響
女子栄養大学紀要 4 33～37 (昭48)
- 3) 体重減量に伴う血中遊離脂肪酸の動態
栄養と食糧 29 (1) 11～16 (1976)

- 4) 加齢に伴う脂質過酸化および膜不安定化に対する α -トコフェロールの長期過剰投与効果
東女医大誌 49 (7) 608～617 (昭54)
- 5) マウスにおける長期リンゴ酸およびトコフェロール過剰投与の脳および肝有機酸脱水素酵素への影響
東女医大誌 49 (10・11) 962～972 (昭54)
- 6) イヌ脳ガングリオシド
—部位による組成の相違—
東女医大誌 50 (3) 261～268 (昭55)