



赤血球糖代謝、とくに2、3-diphosphoglycerateにおよぼす各種ステロイドホルモンの影響

吉村, 幸男

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1981-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙0721

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2000721>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍) よしむらゆきお男 (大阪府)
 学位の種類 医学博士
 学位記番号 医博ろ第630号
 学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当
 学位授与の日付 昭和56年3月25日
 学位論文題目 赤血球糖代謝、とくに 2, 3-diphosphoglycerate
 におよぼす各種ステロイドホルモンの影響

審査委員 主査 教授 馬場 茂 明
 教授 岩井 誠 三 教授 福崎 恒

論文内容の要旨

緒 言

赤血球解糖系の中間体である 2, 3-diphosphoglycerate (2, 3-DPG) は、ヘモグロビンと親和性を示すことにより、酸素解離に重要な影響をおよぼしている。今回著者はこの 2, 3-DPG を変化させる因子の一つとしてホルモン変動が赤血球代謝、特に 2, 3-DPG に対してどのように影響するかについて女性ホルモン、男性ホルモンおよびグルココルチコイドにつき検討した。

対象および方法

1. 対 象

女性ホルモンに関する検討では、正常妊婦46例 (first trimester 7例, second trimester 10例, third trimester 29例)、非妊婦17例で行った。

2. 方 法

1) in vitro 実験

健常者よりヘパリン採血した血液を PH 7.45、ヘマトクリット約 20% に調製し、この血液に propylene glycol に溶解した progesterone, estrone, estradiol, estriol および androsterone, dihydrotestosterone, 5 α -androstendiol, etiocholanolone を添加、種々のモル濃度の medium を作成し、37°C、6 時間の incubation を施行した。hydrocortisone, prednisolone, dexamethasone, betamethasone 添加実験では、健常者より ACD 採血又はヘパリン採血し、4°C で保存した血液を用い、上記と同様の方法で 6 時間の incubation を行った。なお hydrocortisone の作用態度の検討ではヘパリン採血した血液を 30mM triethanolamine HCl を基調とした medium に glucose, inosine,

hydrocortisone を適宜添加し、incubation を行った。

2) 動物実験

家兎に testosterone 5mg/kg/日の連続 7 日間の筋注を行い、その家兎の赤血球と血漿をそれぞれ分離し、無処置の家兎血漿および血球とそれぞれ交互に組み合わせて 6 時間の incubation を施行した。

3) 測定項目および測定法

赤血球 2, 3-DPG は当教室で改良した Ericson の変法で測定し、ATP および lactate 測定は Boehringer 社製キットを使用した。赤血球解糖系酵素活性は三輪らの方法に従い microassay で測定した。P₅₀ は AMINCO 社製 HEM-O-SCAN を使用して測定した。

成 績

1) 女性ホルモンの赤血球 2, 3-DPG への影響

妊婦の 2, 3-DPG は非妊婦に比較して高値を示し、特に third trimester で高値を示した。妊婦では貧血の因子を除外するため、妊婦と非妊婦はヘモグロビン値に有意差のない症例で比較したが、非妊婦に比べ妊婦の 2, 3-DPG は有意に高値を示した。次に健常婦人で月経周期と 2, 3-DPG との関係からは、卵胞期に比較して黄体期には 2, 3-DPG 値の上昇する傾向がみられた。一方 in vitro 実験系で女性ホルモンを種々の濃度 (10^{-6} M $\sim$ 10^{-14} M) で添加し、incubation を行い赤血球代謝への影響をみた。progesterone では 10^{-6} M から 10^{-8} M で 2, 3-DPG に有意の増量がみられた。一方 estrone, estradiol, estriol 添加では 2, 3-DPG 増量作用はみられなかった。

2) 男性ホルモンの赤血球 2, 3-DPG への影響

in vitro 実験系で androgen を種々の濃度 (10^{-6} M $\sim$ 10^{-8} M) で添加し、incubation を行ったが 2, 3-DPG への直接作用はみられなかった。一方 testosterone 投与家兎血漿には 2, 3-DPG 増量作用がみられた。

3) Glucocorticoid の赤血球 2, 3-DPG への影響

赤血球代謝に対する glucocorticoid の種類による反応態度をみる目的で、各種グルココルチコイドを抗炎症力価で統一し ACD 保存血に添加し、incubation を行った後の 2, 3-DPG の変動を観察した。hydrocortisone および prednisolone 添加群では 2, 3-DPG の有意の増加がみられた。一方 dexamethasone, betamethasone 添加群では 2, 3-DPG の増加はみられなかった。

4) Hydrocortisone の赤血球代謝への作用態度の検討

Hydrocortisone の赤血球解糖系に対する作用をみる目的で、洗浄赤血球を 30mM triethanolamine HCl Buffer を基調とした medium 中で低 glucose 状態で incubation を行い、2, 3-DPG を低下させた状態で hydrocortisone を添加した後の 2, 3-DPG を観察した。hydrocortisone 添加では control 群との間に差は認められず、2, 3-DPG から lactate に至る過程での hydrocortisone の抑制作用はみられなかった。次に先と同様に低 glucose medium 中で incubation 後、glucose, hydrocortisone を添加し、2, 3-DPG, lactate, ATP を経時的に観察した。2, 3-DPG, lactate は経時的に増加した。次に glucose からの 2, 3-DPG 産生のない状態を作成するため低 glucose medium で incubation を開始し、2, 3-DPG が低下した状態で inosine, hydrocortisone を添加した。2, 3-DPG, lactate, ATP

は inosine 添加により増量をみた。一方 hydrocortisone を添加したものでは inosine 添加に比較して、2,3-DPG, lactate は有意の増量を示したが ATP には両者間に差違がみられなかった。この 2,3-DPG 増量のみられる条件下での PGK. および PFK 活性に著変はみられなかった。次に hydrocortisone の添加により 2,3-DPG を増加させ、 P_{50} におよぼす影響を検討した。hydrocortisone の添加により 2,3-DPG の増加した血液では、酸素解離曲線の右方偏位すなわち P_{50} の増加がみられた。

考 察

1) 女性ホルモンの 2,3-DPG への影響について

妊婦による 2,3-DPG の変動に関与する因子として、MacLennan らの呼吸性アルカローシス、あるいは Mc Culloch らの aldosterone, renin への影響など種々の因子が報告されている。さらに Weiss ら、Macdonald らは妊娠貧血の関与を述べているが、著者は貧血の因子を除外しても 2,3-DPG は妊婦で高値であり、妊婦の 2,3-DPG の高値は貧血のみで解決しうるものではないと考えた。一方、月経周期と 2,3-DPG の観察から、2,3-DPG の上昇は黄体期にみられ、progesterone などのホルモンの関与が考えられた。妊婦の 2,3-DPG の高値に関し種々の要因の関与が考えられ、著者は赤血球代謝への女性ホルモンの直接作用を *in vitro* において検討した。estrogen 3 分画では 2,3-DPG 増量作用はみられなかったが、progesterone では 10^{-8} M を中心として 2,3-DPG 増量作用がみられ、妊娠では progesterone が赤血球代謝へ働き、2,3-DPG を増加させ組織アノキシア改善の一因となり得る可能性が考えられた。

2) 男性ホルモンの 2,3-DPG への影響について

androgen の赤血球増加作用はエリスロポエチン産生刺激、さらに骨髓幹細胞に対するエリスロポエチンの反応性の向上によるとの報告がある。androgen による 2,3-DPG 増加作用については臨床での投与、動物実験で報告されている。今回種々の androgen を *in vitro* で赤血球に添加したが、2,3-DPG 増量作用は認められなかった。一方 testosterone 投与家兔血漿に 2,3-DPG 増量作用が認められたことは、androgen には赤血球代謝への直接作用はなく、androgen によって生じた何らかの因子を介して 2,3-DPG が増量したのではないかと考えられた。

3) Glucocorticoid の 2,3-DPG への影響について

in vitro では hydrocortisone および prednisolone では 2,3-DPG 増量作用が認められたが、dexamethasone, betamethasone には 2,3-DPG 増量作用は認められなかった。このことはステロイドの種類による構造上の特性が関与しているものと考えられた。

4) Hydrocortisone の赤血球代謝への作用態度の検討

glucocorticoid の赤血球代謝への作用態度を検討した報告はない。著者は hydrocortisone を用い *in vitro* で赤血球代謝への作用態度を検討した。すなわち hydrocortisone が glucose から lactate に至る過程のどこに作用するかを、*in vitro* 実験で検討し hydrocortisone には 2,3-DPG から lactate に至る過程での抑制作用はないと考えられた。さらに低 glucose 状態で glucose から 2,3-DPG 産生のない状態を作成し、この状態で pentose cycle に入る inosine を添加することにより、2,3-DPG, lactate の増加がみられたが、ATP には変化がみられず、また PGK 活性などにも著変がなかったこと

より hydrocortisone が DPG mutase に促進的に作用している可能性が考えられた。また、ステロイドホルモンの変動が赤血球酸素解離能に関与する2,3-DPGの代謝にきわめて鋭敏に作用することは、赤血球自体のもつ組織対応系機能の指標となると共に、ステロイドホルモンのもつ生理学的作用の一面を示すものと考えられ、治療面への応用性をも示唆されるものである。

結 論

両性並びに副腎皮質のステロイドホルモンが赤血球糖代謝、特に2,3-DPGに対する影響について検討を加え、次の結論を得た。

- 1) 妊婦の2,3-DPGは非妊婦に比べ高値を示し、特にthird trimesterで高値を呈した。健康婦人で月経周期と2,3-DPGとの関係を観察したが、卵胞期に比べ黄体期に2,3-DPGが高値になる傾向がみられた。progesteroneでは 10^{-6} Mから 10^{-8} Mで2,3-DPGの増量作用がみられたがestrogen 3分画では2,3-DPG増量作用はみられなかった。
- 2) Androgenにはin vitroで2,3-DPG増量作用は認められなかった。一方testosterone投与家兎血漿には2,3-DPGの増量作用がみられた。
- 3) Hydrocortisoneおよびprednisoloneには2,3-DPG増量作用がみられたが、dexamethasone, betamethasoneには2,3-DPG増量作用は認められなかった。
- 4) Hydrocortisoneの2,3-DPG増量作用は赤血球代謝への直接作用であり、1,3-DPGから2,3-DPGに至る過程、すなわちDPG mutaseにhydrocortisoneが直接作用するものと考えられた。さらにhydrocortisoneを添加し、2,3-DPGの増量した血液の P_{50} を測定したが、酸素解離曲線は右方偏位を示し、 P_{50} の増加がみられた。

論文審査の結果の要旨

赤血球解糖系の中間体である2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG)は、ヘモグロビンと親和性を示すことにより、酸素解離に重要な影響をおよぼしている。本研究はこの2,3-DPGを変化させる因子の一つとして、ステロイド・ホルモン変動が赤血球代謝、特に2,3-DPGに対してどのように影響するかについて、特に女性ホルモン、男性ホルモンおよびグルコルチコイドにつき検討したものである。

成 績

1) 女性ホルモンの2,3-DPGへの影響について

従来より妊娠による赤血球2,3-DPGの変動に関与する因子として、呼吸性アルカローシス、aldosterone, reninの影響並びに妊娠貧血など種々の因子が報告されている。本研究者は貧血の因子を除外しても2,3-DPGは妊婦で高値であり、一方、月経周期と2,3-DPGの観察から、2,3-DPGの上昇は黄体期にみられ、progesteroneなどのホルモンの関与が考えられた。このような背景から妊婦の2,3-DPGの高値には種々の要因の関与が考えられるが、本研究者は赤血球代謝への女性ホルモンの直接作用をin vitroにおいて検討した。estrone, estradiol, estriolの添加では2,3-DPG増量作用はみ

られなかったが、progesterone では 10^{-8} M を中心として 2,3-DPG の有意の増量作用がみられた。よって妊娠では progesterone が赤血球代謝へ働き、2,3-DPG を増加させ組織アノキシア改善の一因となり得る可能性が示唆された。

2) 男性ホルモンの 2,3-DPG への影響について

androgen の赤血球増加作用はエリスロポエチン産生刺激、さらに骨髓幹細胞に対するエリスロポエチンの反応性の向上によるとの報告があり、また androgen による 2,3-DPG 増加作用については臨床での投与、動物実験で報告されている。今回種々の androgen を *in vitro* で赤血球に添加し検討した。2,3-DPG 増量作用は認められなかった。一方、testosterone 投与家兎血漿に 2,3-DPG 増量作用が認められたことから、androgen には赤血球代謝への直接作用はなく、androgen によって生じた何らかの因子を介して 2,3-DPG が増量したのではないかと考えられた。

3) Glucocorticoid の 2,3-DPG への影響について

in vitro では hydrocortisone および prednisolone では 2,3-DPG 増量作用が認められたが、dexamethasone, betamethasone では 2,3-DPG 増量作用は認められなかった。このことはステロイドの種類による構造上の特性が関与しているものと考えられた。

4) Hydrocortisone の赤血球代謝への作用機作について

hydrocortisone を用い *in vitro* で赤血球代謝への作用機作を検討した。すなわち、hydrocortisone が glucose から lactate に至る嫌気性解糖系のどこに作用するかを *in vitro* 実験で検討し、hydrocortisone には 2,3-DPG から lactate に至る過程での抑制作用はないと考えられた。さらに低 glucose 状態で pentose cycle に入る inosine を添加することにより、2,3-DPG, lactate の増加がみられたが、ATP には変化がみられず、また PGK 活性などにも著変がなかったことより、hydrocortisone が DP G mutase に促進的に作用している可能性が考えられた。

さらに生理活性の面から検討するため、hydrocortisone を添加し、2,3-DPG の増量した赤血球の P_{50} を測定したが、酸素解離曲線は右方偏位を示し、 P_{50} の増加がみられた。

以上の実験結果から、ステロイドホルモンの変動が、赤血球酸素解離能に関与する 2,3-DPG の代謝にきわめて鋭敏に作用することは、赤血球自体のもつ組織対応系機能の指標となると共に、ステロイドホルモンのもつ生理学的作用の一面を示すものと考えられ、治療面への応用性をも示唆されるものである。

従来、赤血球自体の代謝系へのステロイドホルモンの及ぼす影響については余り研究されておらず新しい知見を加えた業績と言える。よって本研究者は医学博士の学位をうる資格ありと判定した。