

氏 名（本籍）	やまのべ 山 野 邊	さとし 聡
学位の種類	博 士（医 学）	
学位記番号	医 第 2935 号	
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 5 日	
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当	
最終学歴	平成 2 年 3 月 20 日 富山医科薬科大学医学部医学科卒業	
学位論文題目	ガスクロマトグラフィー／マススペクトロメトリー を用いたトロンボキサン／プロスタサイクリンバ ランスの評価系の確立と網膜血管閉塞症への応用	
	(主 査)	
論文審査委員	教授 玉 井 信	教授 阿 部 圭 志
	教授 林 典 夫	

# 論文内容要旨

## 【研究目的】

血栓の発生に関与すると考えられる、トロンボキサン (TXA<sub>2</sub>) /プロスタサイクリン (PGI<sub>2</sub>) バランスと網膜血管閉塞症との関連性を明らかにするため、TXA<sub>2</sub> と PGI<sub>2</sub> の尿中安定代謝産物である 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> 及び 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub> のガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (GC/MS) を用いた定量とバランスの評価を行った。さらに、網膜血管閉塞症患者尿の TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスを健常人と比較検討した。またアスピリンの投与による TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスの変化を検討した。

## 【研究方法】

### 1. TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスの測定

#### i) 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> の測定

尿 10ml に内部標準物質として重水素標識体を添加し、酸性条件下溶液中のプロスタノイドを Sep Pack tC18 カラムを用いて分画を抽出し、ジアゾメタンでメチル化後、シリカゲルカラムによりメチルエステル体を精製した。さらにプロピルアミンで開環反応を行った後にジメチルイソプロピルシリルイミダゾール (DMIPSI) でシリル化を行いメチルエステル (ME) - プロピルアミド (PA) - ジメチルイソプロピルシリル (DMIPS) エーテル誘導体を得た。さらに、シリカゲルカラムにより過剰な試薬を除去し GC/MS の試料とした。同試料を分子イオンからイソプロピルラジカル脱離に伴う [M-43]<sup>+</sup> イオン (m/z 698; 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>, m/z 702; [<sup>2</sup>H4] 11-dehydro-TXB<sub>2</sub>) をモニタリングイオンとして用いたガスクロマトグラフィー/セレクトイディオイオンモニタリング (GC/SIM) 法に付し定量を行った。

#### ii) 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub> の測定

尿 10ml に内部標準物質として重水素標識体を添加し、酸性条件下 Sep Pack tC18 カラムを用いてプロスタノイド分画を抽出し、シリカゲルカラムによる精製を行った。メトキシアミンで開環反応を行った後にジアゾメタンによりメチルエステル化と DMIPSI によりエーテル誘導体化を行い、メチルエステル (ME) - メチルオキシム (MO) - ジメチルイソプロピルシリル (DMIPS) エーテル誘導体とした。さらに、シリカゲルカラムにより過剰な試薬を除去し GC/MS の試料とした。同試料をイソプロピルラジカル脱離した [M-43]<sup>+</sup> イオン (m/z 642; 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub>, m/z 646; [<sup>2</sup>H4] 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub>) をモニタリングイオンとした GC/SIM 法に付し定量を行った。

## 2. アスピリン投与によるバランスの変化

網膜血管閉塞症患者にアスピリン 40mg を連日内服させ服用開始前及び服用後の 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> 及び 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub> の測定を行い PG バランス (11-dehydro-TXB<sub>2</sub>/2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub>) の変化の検討を行った。

### 【研究結果】

#### 1. GC/SIM 法による TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスの評価

GC/SIM 法を用いて 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> の微量定量法及び 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub> の微量定量法を確立した。

#### 2. 網膜血管閉塞症と TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスの関連性について

##### i) 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> の変動

GC/SIM 法を用いて行った網膜血管閉塞症患者の尿中 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> 含量は対照群の含量と比較して有意に高い値を示した。

更に、これらの網膜血管閉塞症患者をそのタイプ別に分けて検討したところ、対照群と比較して、すべて有意に高い値を示し、これらの疾患の発症とトロンボキサンの産生増加との関連性が推察された。

##### ii) 網膜血管閉塞症と TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスの関連性

GC/SIM を用いた測定で発症後一カ月以内と思われる網膜血管閉塞症患者 10 例は健常人 10 名と比べ 2,3-dinor-6-keto-PGF<sub>1α</sub> はほぼ同じ値であったが 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> 及び TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> が有意に高い値を示した。

##### iii) アスピリン投与効果の検討

アスピリンの低容量療法を行い TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスの改善を検討した結果、アスピリン投与後の PG バランスが有意に低下し、より健常人レベルへと近づいており抗血小板療法の有効性が確認された。また 1 例では、網膜出血が消褪し著名な眼底所見の改善がみられ視力も改善した。

## 審査結果の要旨

眼底疾患特に血管性の病変の多くのものは血管閉塞に由来している。その原因の主たるものは血栓形成によって生じる。本研究は血栓発生に深く関係すると考えられるトロンボキサン (TXA<sub>2</sub>) /プロスタサイクリン (PGI<sub>2</sub>) バランスと眼底血管病変との関連性、アスピリン投与による治療効果を臨床的に調べた研究である。

TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> はいずれも患者の尿に排泄される両者の安定代謝産物 TXB<sub>2</sub>, PGF<sub>1a</sub> をガスクロマトグラフィー/マススペクトロメトリーにより測定して評価した。この測定方法は過去に報告されておらず新しい微量定量法として価値あるものとなった。

網膜血管閉塞を来した患者の尿中からは TXB<sub>2</sub> が対照群に比べ有意に増加しておりこの結果から網膜血管閉塞に TXA<sub>2</sub> の産成が高進していることを明らかにした。一方これらの患者では PGF<sub>1a</sub> は変化無いものの両者の比 TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> を調べてみると有意に高い値を示したという。このことは TXA<sub>2</sub> の高進のみでなく両者のバランスも血栓形成に深く関わっていることを示唆している。

一方網膜静脈閉塞病患者にアスピリン投与が試みられているが 40mg/日という少量の投与で TXA<sub>2</sub>/PGI<sub>2</sub> バランスが健常人のそれに近付いたという。それがアスピリンの有効性を示すメカニズムの一つと考えられる。

本研究は臨床例を用いその病態を解明するために測定方法を開発したこと、さらに使用されている薬剤の有効性のメカニズム解明に一つの示唆を与えたことから博士論文として価値あるものと認めた。予備審査で指摘された諸点についても改善されている。