

Title	人皮膚における諸種脱水素酵素活性の組織化学的研究
Author(s)	橋本, 武則
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28421
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 27 】

氏名・(本籍)	橋 本 武 則 はし もと たけ のり
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 296 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	人皮膚における諸種脱水素酵素活性の組織化学的研究 (主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 藤浪 得二 教 授 清水 信夫 教 授 須田 正巳

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

皮膚のように発生的、形態的、機能的に相異なる諸組織が複雑に組み合わさった器官において、その代謝の様子を理解するには、代謝の局在を、換言すれば形態学的知見との関連を把握することが特に必要である。このような見地に立つての解析には、特に糖代謝に関しては、諸種脱水素酵素活性の組織化学的な比較研究が有力な手段であると考えられるけれども、この方面の研究は歴史が浅く、皮膚に関する報告にまだ接していない。そこで、本研究では、糖代謝に関連する 15 種の脱水素酵素活性の人皮膚での分布を組織化学的に比較検討し、皮膚において糖代謝が形態学的知見とどのような関連を持っているかを明らかにしようとした。

〔 方 法 〕

実験対象とした脱水素酵素 (DH) の種類は次の通りである。 Succinic DH (SDH) , DPN (TPN) -Isocitric DH (DPN (TPN)-ICDH) , Malic DH (MDH), Glutamic DH (GDH), Malic Enzyme (ME), β -Hydroxybutyric DH (β HBDH), Glyceraldehyde-3-phosphate DH (GA3PDH), Lactic DH (LDH), Glucose-6-phosphate DH (G 6 PDH), 6-Phosphogluconic DH (6 PGDH), DPN (TPN)-L-Gulonic DH (DPN (TPN)-L-GuDH) , DPNH (TPNH)-Tetrazolium Reductase (DPNH (TPNH)-TR) 。

酵素活性はすべて Nitro-blue Tetrazolium (NBT) の還元呈色を顕微鏡下で観察比較したが、最後の 2 つの酵素活性はピリジンスクレオチド助酵素を要求する脱水素酵素の活性観察に際して DPNH (TPNH) \rightarrow NBT の過程が律速段階になっていないことを確認する意味で検討した。

人皮膚片を外科的に切除の後、直ちに Cryostat (-20°C) 内で厚さ 20μ の凍結切片に薄切する。これをスライド・ガラス上で融解接着せしめ、続いて予め用意した Medium (37°C) 中に浸漬する。Medium の組成は次の通りである。

基質:	0.004M	~	0.5M (それぞれ至適濃度)
DPN または TPN:			0.0007M
磷酸緩衝液:	PH 7.4, 0.07 M	または	ペロナール緩衝液: PH7.4, 0.02M
NBT:			0.5mg/mL

上記の条件は主として Nachlas et al.に従ったが、GA3PDH, DPN(TPN)-L-GuDH, DPNH(TPNH)-TRについては本実験に際してその至適基質濃度が定められた。Medium 中への浸漬の時間は 15分~60分。軽く水洗の後、10%ホルマリン固定 24 時間。型通り脱水、透徹、バルサム封入を行い鏡検した。対照として、① スライド・ガラスに接着の後 80°C に 5 分間浸漬した組織片、② 各完全系から基質を除いた Medium、③ 補酵素を除いた Medium、④ 各完全系に 0.01M に Monoiodoacetate を加えた Medium、をそれぞれ用いた実験を行なった。

〔成績および考察〕

1) 対照①, ②, ③ではいずれも NBT の還元を認めない。ただし、毛皮質の角度移行層は例外である。④ では還元能に相当の減弱を認める。以上から、毛皮質角化移行層を除けば NBT の還元は酵素的に進行するものと考えられる。

2) DPNH(TPNH)-TR は組織のどの部分でも DPN(TPN)-脱水素酵素群のいずれよりも強く NBT を還元することから前者は後者の律速段階となつてはいないことが推定できる。

3) 脱水素酵素活性は人皮膚において分布の上から三群に大別できる。

I 型: SDH, DPN-ICDH に共通する型である。表皮では基底層より顆粒層に向つて活性が次第に減弱する。汗腺排出管での活性は基底側細胞で極めて強いが、クチクラでは欠如する。皮脂腺でも細胞が成熟する程、活性は減弱する。これはミトコンドリアの密度分布とよく一致する。GDH に類型が認められる。

II 型: G6PDH, 6PGDH, TPN-ICDH, ME に共通する型である。表皮では表層に向つて活性が増大し顆粒層で極限に達する。全組織中、皮脂腺に活性が最も強く、しかも腺中央に向つて成熟する程増強する。汗腺排出管は全般として活性が低いけれどもクチクラでは極立って顕著となる。また、内毛根鞘、毛小皮の角化移行帯で活性が顕著である。このような分布は I 型と凡そ逆の関係をなしている。βHBDH, TPN-L-GuDH に類型が認められる。

III 型: GA3PDH, LDH に共通する型である。皮膚全般に一様に強い活性がみられ、組織間の差異は I, II 型に比して少ない。MDH に類型が認められる。

以上の成績から、I 型はミトコンドリア酵素による好氣的エネルギー産生、II 型は TPNH 産生および利用、III 型は EMP 系解糖の分布を表わすものと考えられる。皮膚の外胚葉性組織は多岐に分化して複雑な形態をとるが、これを真皮に接した基底層から表層に向つて成熟化の過程をたどる多層性の構造に単一化するならば、細胞の成熟化が進行するにつれて、好氣的エネルギー産生は低下し、相対的に解糖作用の比重が増加し、また TPNH を介してのエネルギー利用が盛んになるといえよう。おそらく TPNH 産生ということが Lipogenesis, Keratogenesis など表皮性細胞の成熟過程を推進する上に重要な役割を果すものと考えられる。さらに Melanogenesis に関する知見を挙げると、TPN-ICDH の活性は、基底層のうち色素形成細胞で顕著にみられ、また Methylcholanthrene によりこの細胞(マウス)を活性化する時はさらに増強する。この成績は TPN-ICDH が、おそらく TPNH を介して Melanogenesis に関与することを

示唆するものであろう。DPN(TPN)-L-GuDH が活性は弱く、分布も特徴的でないことからグルクロン酸回路が皮膚の機能上特記すべき役割を荷っているとは考え難い。

〔総括〕

〔1〕 糖代謝に関連する諸種脱水素酵素活性の分布は皮膚において3つの様式に分れる。

I型：外胚葉性組織の基底側に分布するミトコンドリア酵素群。

II型：同組織の表層に分布する TPNH 産生および利用群。

III型：両者の背景として組織全般に強い活性を示す EMP 系解糖酵素群。

〔2〕 TPNH 産生は Lipogenesis, Keratogenesis Melanogenesis など細胞の成熟化に関連が深い。

論文の審査結果の要旨

本論文は、糖代謝に関連する諸種の脱水素酵素の活性を、人皮膚において顕微鏡下に比較観察し、整理統一し、まず、以下の三つの群に大別している。

I型：表皮、毛嚢、皮脂腺、汗腺などの上皮性組織において、真皮に接する基底側に分布するミトコンドリア酵素群 (DPN-イソクエン酸-およびコハク酸脱水素酵素)。

II型：同組織の表層側に、基底側よりも強く活性を示す TPN 産生および利用群 (ブドウ糖-6-リン酸-、6-ホスホグルコン酸-および TPN-イソクエン酸脱水素酵素並びにリンゴ酸酵素)。

III型：両者の背景として組織全般に強い活性を示す Embden-Meyerhof 解糖系の酵素群 (グリセルアルデヒド-3-リン酸-および乳酸脱水素酵素)。

この成績は上皮性組織において、基底側から表層側に向うほど、呼吸酵素の活性が低下し、逆に TPN 酵素の活性が増強することを明らかにし、上皮細胞の経時的形態的变化にともなう酵素活性の変動の姿を示している。

次に、TPN-イソクエン酸脱水素酵素の活性が表皮基底細胞層の中で Melanocyte にのみ顕著であり、Melanocyte を activate すると酵素活性が増強することを見出して、Melanocyte における Melanogenesis と TPN-イソクエン酸脱水素酵素の関連性を示唆している。

要するに、本論文は皮膚の糖代謝を、その微細な形態と関連せしめつつ観察している点において、極めて意義深いものといえよう。