The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	血清パロチンの研究
Author(s)	三村，務
Citation	大阪大学，1962，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28533
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【2】

氏　名・(本籍)	三(み)　村(むら)　務(つとむ)
学位の種類	薬　学　博　士
学位記番号	第　320　号
学位授与の日付	昭和37年6月1日
学位授与の要件	薬学研究科　応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**血清パロチンの研究**
論文審査委員	(主　査)　教　授　青沼　繁　(副　査)　教　授　川崎近太郎　教　授　羽野　寿

論文内容の要旨

唾液腺内分泌学説は緒方名誉教授等によって我国で始めて提唱され，最近米国，オランダ等でも抽出が始められ，さらにNew York Academy Scienceにより取り上げられるなど世界的にも認められてきている。唾液腺内分泌学説とは唾液腺ホルモンが唾液腺（耳下腺及び顎下腺）より分泌され，腺条部と称する特殊な上皮細胞群で取り囲まれた管腔内で上皮細胞に吸収され，その外側を取りまいているリンパ隙に分泌され，しかる後に循環系に入るという説である。そしてその本態はパロチンと命名され，耳下腺からパロチン，顎下腺からはS-パロチンが単離されている。しかしながらその循環系における存在については未だ研究されておらず全く報告がない。そこでパロチンがホルモンであるとする以上当然血液中にも存在することは考えられるところであり，現在，パロチンの血液中における存在の証明が重要な研究課題となっている。一方唾液からサリバパロチン，尿よりウロパロチンの単離という様に種々の唾液腺ホルモン物質の研究が進むとそれら一連のパロチン関連物質の特異性の決定，さらにその作用団の研究もまた重要な問題となってくる。そこで著者はこれらの問題点を解明すべく以下の研究を行なった。

まず血液中にパロチンが存在することを証明するために牛血清よりパロチン様物質の単離を試みた。牛血清をアセトン分画後，硫安分画し，さらにAmberlite IRC-50のカラムを通すと電気泳動法による純度90.8％，唾液腺ホルモンの主効力である家兎血清Ca低下効力20.07±1.32％（Dose: 1mg/rabbit）で循環白血球効力を有し，さらに家兎血清無機燐量をも減少させる効果（低下率19.88±2.31％）を有するパロチン様物質が得られる。著者はこの物質を血清パロチン（Serum Parotin）と命名し，その物理化学的，化学的性質をしらべた。血清パロチンは紫外部吸収スペクトル（吸収極大：277 mμ），構成アミノ酸17種（Leu, Phe, Met, Val, Pro, Arg, His, Thr, Tyr, Ala, Lys, Gly, Ser, Glu, Asp, Gys, Try）ともにパロチンと全く同じで，超遠心分析法による沈降定数 $S_{20}\cdot w=3.80$ である。さらにそのN末端アミノ酸をDNFB法及びpipsyl法で検索した結果，アスパラギン酸のみであることを認めた。なお血清パロチンは

パロチンよりも熱に対してかなり安定で60°C，1時間の加熱ではCa効力も白血球効力も安定であるが，100°C，1時間の加熱ではCa効力は半減する。

次いで生理化学的な性質を検討した。まず血清パロチン，S-パロチン，対照物質として効力の無い牛血清アルブミンを^{131}Iで標識し，その生体内分布をしらべた。ヨード化血清パロチンはCa効力，白血球効力ともにほとんど失活しておらず，そのラットの体内分布がパロチン，S-パロチンと極めて類似し，牛血清アルブミンとは全く異っている。これらのパロチン関連物質はラットに静脈注射後5～20分間肝臓及び腎臓中に比較的多く分布される特性がある。さらにこの間の甲状腺における集積は非常に興味深いもので，唾液腺は甲状腺機能と密接な関係のあるものであるという従来の説を裏付けたものである。そこでこの関係をさらに追究すべく，ついで甲状腺への^{32}p攝取増加作用すなわち甲状腺刺戟ホルモン作用を検討してみたところ，血清パロチンがTSH標準品の$1/_{111}$の活性を有していることが判った。パロチンにもこの作用があり，その他の性質と併せて血清パロチンが生理化学的にもパロチン血中形であることを示すものである。

さらにこれら一連の唾液腺ホルモン関連物質即ちパロチン，血清パロチン，S-パロチン，サリバパロチン等相互の構造上の類似，作用団の特異性を検討するため，免疫化学的手段を用いて研究を展開させ，モルモット臓器アナフイラキシーと家兎抗血清による沈降反応について検討した。その結果，血清パロチン感作モルモットの子宮では血清パロチン，パロチン，S-パロチン，サリバパロチンのみがアナフイラキシー反応を示し，それ以外の蛋白質では全く反応を示さなかった。パロチン感作，S-パロチン感作の場合にも全く同様に唾液腺ホルモン特異性がみられた。さらに家兎抗血清沈降反応における研究の結果，血清パロチンの唾液腺ホルモン効力はその抗血清によりその主効力たるCa低下効力が特異的に中和されることを認めた。Ouchterlonyのゲル内沈降反応においても血清パロチン，S-パロチン，パロチン，サリバパロチン等パロチン関連物質のみが交叉反応を示した。さらに血清パロチン及びS-パロチンはそれぞれ対応する抗血清によって10γ～50γの範囲内で特異的にかつ定量的に沈澱し，その免疫化学的定量化の可能性を見出した。

次いでさらに応用方面へと研究を進め，血清パロチンの酵素分解について研究を行なった。血清パロチンに種々のプロテアーゼを作用させることにより，パロチンの作用団に近い，免疫化学的に抗原性の弱い低分子の活性物質が得られるのではないかと考え，血清パロチンにトリプシン，キモトリプシン，ペプシン，パパインを作用させ，そのCa低下効力と白血球効力をしらべた。その結果，トリプシン40時間分解とペプシン24時間分解の際に対照に比して効力の増強がみとめられた。パパインはCa効力を全く失活させて了うし，キモトリプシンは対照とほとんど差がないないので取り上げるに足りないと考え，トリプシン40時間分解物及びペプシン24時間分解物の精製を行なった。酵素分解物をアセトン分画し，次いで酸性アルミナカラムクロマトグラフイーにかけて精製するとペプシン24時間分解物からはCa効力13.91±0.33，トリプシン40時間分解物からはCa効力21.00±0.3でそれぞれ白血球効力を有する物質が得られる。これらの物質は化学的性質は血清パロチンに極めて類似しているが免疫化学的な性質は可成り変化している。即ち血清パロチンで感作したモルモット臓器アナフィラキシーにおいて，もとの血清パロチンに比して抗原性が約1/7に減弱していることを認め，酵素分解法が所期の目的である抗原性の弱い低分子の

活性物質の調製に非常にすぐれた方法であることがここに確証された。

以上本研究により次のごとき結論を得た。

1) 血清からパロチン様物質の単離に成功し，血清パロチンと命名，血液中にもパロチンが存在することを証明した。

2) 血清パロチンは化学的，物理化学的性質が極めてパロチンに類似している。

3) 血清パロチンの生体内分布はパロチン，S-パロチンと良く一致する。

4) 血清パロチン，パロチン，S-パロチン等パロチン関連物質はいずれも TSH 活性を有している。

5) 血清パロチン及びパロチン関連物質は免疫化学的にも唾液腺ホルモン特異性を示すことの証明。

6) 血清パロチン並びに S-パロチンの家兎抗血清による定量化の可能性を確立。

7) 血清パロチンを酵素分解後，分画精製することにより，パロチン作用団に近い低分子活性物質を得ることに成功した。

論文の審査結果の要旨

唾液腺ホルモンの本態はパロチンと命名され，耳下腺からはパロチン，顎下腺からはS-パロチン，唾液からはサリバパロチン，尿からはその代謝形と考えられるウロパロチンがそれぞれ単離，報告されている。そこでパロチンがホルモンである以上当然血液中にも存在すると考えられ，現在ではパロチンの血液中における存在の証明と，これらパロチン関連物質の特異性の解明が重要な研究課題なっている。そこで本論文ではこれらの問題点をとり上げ，牛血液よりパロチン様物質の単離を試み，従来迄不明とされていた血液中におけるパロチンの存在を証明し，概物質を単離することに成功し，血清パロチンと命名した。この物質は純度 90.8 %で Ca 低下効力 20.07±1.32%で白血球効力を有し，紫外部吸収スペクトル，構成アミノ酸ともにパロチンと全く同じでその沈降定数は $S_{20,w}=3.80$ で N 末端アミノ酸はアスパラギン酸である。そしてその生理化学的な唾液腺ホルモン特異性を^{131}Iで標識した血清パロチンについてS-パロチン，パロチンの生体内分布と比較検討した結果血清パロチンが一連のパロチン関連物質と全く同じ分布像を示した。また甲状腺への特異な分布からその甲状腺機能との相関を ^{32}p 甲状腺攝取増加作用についてしらべたところ血清パロチンはパロチン，S-パロチンとともに全く同じ作用を示し，これらのことから生物活性においても血清パロチンが唾液腺ホルモン特異性を示すことを明らかにした。

さらにその蛋白構造上の唾液腺ホルモン特異性についても免疫化学的検討を加え，血清パロチンがモルモット臓器アナフイラキシー反応，家兎抗血清による沈降反応において一連のパロチン関連物質，パロチン，S-パロチン等とともに特異性を有することを証明し，加えて生物学的検定法に代り得る定量法として新しく免疫学的沈降反応が有意義であることを確立した。

一方応用面の研究として血清パロチンの作用団の追究と有効な低分子物質の調整のため血清パロチンの酵素分解について研究しトリプシン及びペプシン分解により，低分子の免疫性の弱い新物質を得ることに成功し，さらにその基礎的研究が構造研究上にも役立つことをみとめた。

以上の研究結果は学術上重要な貢献をなしたものであって博士論文として価価あるものと認める。