

Title	ヒト唾液及び膵臓アミラーゼに関する遺伝生化学的研究
Author(s)	荻田, 幸雄
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/28878">http://hdl.handle.net/11094/28878</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	荻 田 幸 雄 おぎ た さち お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8 8 1 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 生 理 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ヒト唾液及び膵臓アミラーゼに関する遺伝生化学的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 吉 川 秀 男 (副査) 教 授 山 村 雄 一 教 授 次 田 皓

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔序 論〕

最近クロマトグラフィや、澱粉ゲル、アクリルアמידゲル電気泳動法を用いて、ヒトアミラーゼに種々のアイソザイムが存在することが報告されている。しかしながら、唾液並びに膵アミラーゼのアイソザイムは、これらの方法によっても完全に分離検出され得ず、従って、アイソザイム数及び相互関係は今なお不明である。そこで、寒天ゲル薄層電気泳動法の条件を種々に検討した結果、ゲルに少量の添加物を加えることによって、電気浸透を調節し唾液及び膵アミラーゼの分離検出に適した条件を見出した。これを用いて、ヒト唾液及び膵アミラーゼアイソザイムの免疫学的、遺伝生化学的解析を行なった。

### 〔方法並びに成績〕

#### 1) 寒天ゲル薄層電気泳動法

磷酸緩衝液100ml. (pH6.8, イオン強度0.01) に hydroxyethyl cellulose (HEC) 0.1g, 精製イト寒天1.0g. を加え溶解後、ガラス板上に0.9mm の厚さになるように注ぎ、定電流 1m A/cm., 90分で、唾液及び膵アミラーゼは、陰極に移動する6つの活性泳動帯に分離することが出来た。膵アミラーゼは、陽極にも4本以上認められた。陰極に移動する活性泳動帯は、唾液と膵ではわずかに膵の方が易動度は大きい、パターンは非常に類似している。これらを陰極への易動度の順に、Amy s-1 ~ Amy s-6, Amy p-1 ~ Amy p-6 と命名した。

#### 2) 各唾液腺の分泌物のパターンの比較

Lashley の採集器を用いて、耳下腺液、顎下腺液、混合唾液を比較したが、わずかに耳下腺液のアミラーゼ活性が強いだけで、易動度の異なりは認められなかった。

#### 3) 発育にともなうアミラーゼアイソザイムのパターンの変化

普通の検出法では、未熟児あるいは新生児の唾液アミラーゼアイソザイムは Amy s-2 しか検出されないが、6ヶ月以後になると急激に活性が増加しパターンは成人と変らなくなる。しかし条件を鋭敏にすると新生児でもすべての活性泳動帯を認めることが出来るから活性値が低いためと考えられる。

#### 4) 唾液アミラーゼの個体差

総計 975 人のパターンの比較によって、易動度の異なる個体は見出せなかったが、その活性度に個体差が認められた。同一泳動条件下で、異常に活性の低い個体の家系調査をおこなったところ、両親共に  $D_{37}^{37^{\circ}}=40\sim 160$  で、活性の非常に高い個体の家系は  $D_{30}^{37^{\circ}}\geq 1280$  で、時期を変えて数回測定したが一定している。

#### 5) 免疫学的解析

泳動後、うすく発色した泳動帯を切り取り凍結融解で寒天と分離した上清を Sephadex で濃縮した。これを当量の Freund の adjuvant を加え、1週間毎に 3 回家兎に免疫して得た anti-Amy s-2, anti-Amy p-2 を用いて免疫電気泳動法、Ouchterlony 法による解析をおこなった。その結果、腭及び唾液のアミラーゼアイソザイムは、anti-Amy s-2, anti-Amy p-2 に対して全て反応しこれらの抗原性は完全に同一であることを見出した。

〔総括〕

- ① HEC を微量寒天に加えることによって、泳動の際生じる電気浸透を調節し、人唾液及び腭アミラーゼの分離に適した条件を見出した。
- ② この方法によって、唾液アミラーゼは陰極に 6 本、腭アミラーゼは陰極に 6 本、陽極に 4 本の活性泳動帯に分離検出された。陰極に移動するものにそれぞれ、Amy p-1~Amy p-6 と命名した。
- ③ 各唾液腺からの分泌液のアミラーゼパターンには質的差異がないことを示した。
- ④ 唾液アミラーゼの活性を支配する遺伝因子の存在が明らかにされ、乳児期では、離乳期の始まりにアミラーゼ活性が急激に増加することが見出された。
- ⑤ Amy s-1~Amy s-6, Amy p-1~Amy p-6 の易動度は異なるが、パターンは非常に類似していることが、見出された。
- ⑥ 唾液アミラーゼ、腭アミラーゼは、それぞれ、同一座位における 1 つの遺伝子によって支配されている pleiotropic isozyme であることが明らかにされた。
- ⑦ 唾液アミラーゼおよび腭アミラーゼを支配する遺伝子は、易動度は異なるが、パターンの類似、免疫学的、物理化学的性質の類似、分子量の近似から、同一の遺伝子ではないかと考えられる。産生場所の差異によって酵素蛋白構造になんらかの modification を受けているのではないかと考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

荻田君の論文はヒトの唾液ならびに腭アミラーゼを特殊な電気泳動条件の下で分離検出し、それら

のアイソザイム群の遺伝的支配様式を解明しようとしたものである。

これまで唾液ならびに膵アミラーゼのアイソザイムを分離しようとする試みはたいてい分離能不良のために失敗に終わっている。しかし同君が本研究で用いた薄層電気泳動法の条件は分離能において従来の方法よりはるかにすぐれ、唾液アミラーゼは6本、膵アミラーゼは少なくとも10本の活性泳動帯に分離し得た。また従来酵素学的に単一であると考えられてきた $\alpha$ -アミラーゼ結晶は数個の構成単位から成ることが明らかにされたので、これを抗原として用いた従来の免疫学的研究は再検討の必要性のあることがわかってきた。

本研究における免疫学的解析の結果は唾液アミラーゼのアイソザイム群は相互に免疫学的に同一であり、一つの遺伝子によって支配されていることが暗示された。また唾液アミラーゼの個体差の調査からアミラーゼ活性を支配する遺伝子の存在も明らかにされた。

さらに膵アミラーゼアイソザイム群についても一つの遺伝分子によって支配を受けていることを示し、唾液アミラーゼならびに膵アミラーゼの個々のアイソザイムの抗原性は同一であることを証明している。すなわち、両者の電気泳動的分離像は非常に類似していること、免疫学的な性状の類似性、さらにヒトおよびマウスにおけるエステラーゼの例証などから唾液および膵アミラーゼは全く同一の遺伝子による支配を受けていることを明らかにしている。このことは細胞分化の面からも興味深いことであり、同一遺伝子による支配を受けながら産生場所の相違によって酵素タンパクの構造に何らかの変化を受けることはアイソザイムの解明に手がかりを与えるものと考えられる。

以上荻田君の研究はこの方面の進歩に貢献するところ極めて大きく学位論文として充分価値あるものと思われる。