The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット唾液腺における抗菌作用に関与する過酸化酵素について
Author(s)	佐治, 靖介
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30093
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

【4】

氏名・(本籍)	佐治靖介（さじせいすけ）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 1940 号
学位授与の日付	昭和45年3月30日
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**ラット唾液腺における抗菌作用に関与する過酸化酵素について**
論文審査委員	(主査) 教授 松村 敏治 (副査) 教授 竹田 義朗 教授 小谷 尚三 助教授 森岡 俊夫

論文内容の要旨

人および数種の哺乳動物の混合唾液に過酸化酵素が存在し，本酵素は過酸化水素の存在下でロダン化物（KSCN）を酸化することによって抗菌活性を発現する。しかし，この過酸化酵素の各唾液腺における分布ならびに酵素の特性については未だ不明な点が多い。

本研究はラットの顎下，耳下および舌下唾液腺ならびに数種の臓器抽出液の過酸化酵素活性とその抗菌活性発現との相関を追求し，抗菌活性発現の有無により2種の過酸化酵素の存在を認めた。

実験にはSD系ラットを使用し，唾液腺および数種の臓器を生食水中で homogenize し，13,000×g 30分間遠沈した上清を抽出液とした。

Ampholine を用い，40時間電気泳動して等電点の差によりその抽出液の蛋白質を分離した。

過酸化酵素活性（PO活性）の測定は基質として O-dianisidine を用い，Klebanoff (1965) らの方法に準じて行なった。過酸化酵素抗菌活性（POA活性）の測定は*L. plantarum* ATCC 8014株を用い，松村等（1960），岩本等（1966）の方法に従った。また，$KS^{14}CN$ より生成された $^{14}CO_2$ の測定は serum bottle stopper で密栓したフラスコの主室に反応液（酵素液，$KS^{14}CN$，H_2O_2），副室にハイアミンは入れ，37°C，1時間 incubate した後に主室に酸を注入し，形成された $^{14}CO_2$ をハイアミンに吸収された。ついで副室のハイアミン全量を回収してその放射能を測定した。

得られた実験結果は下記のとおりである。

SD系ラットの各唾液腺抽出液にはいずれもPO活性が認められた。しかし，POA活性は顎下および耳下腺抽出液には認められたが，舌下腺抽出液には全く認められなかった。POA活性を示さない舌下腺抽出液に，従来の研究で抗菌活性の発現を増強することが知られている $CuSO_4$

および H_2O_2 を添加してもＰＯＡ活性は発現しなかった。更に舌下腺抽出液にＰＯＡ活性に対する阻害物質が存在しない事も各唾液腺抽出液の交叉実験およびムチンの添加実験で確認された。

他方，唾液腺以外の臓器抽出液のＰＯ活性ならびにＰＯＡ活性を測定すると，涙腺，乳腺，骨髄抽出液に高いＰＯＡ活性が認められたのに反し，膵，腎，肝，脾臓および甲状腺抽出液にはＰＯＡ活性は全く認められなかった。

しかし，上記８種の抽出液には全てＰＯ活性が認められた。また，顎下腺抽出液のＰＯＡ活性はＰＯ活性のみを示した臓器抽出液により阻害されなかった。

Ampholine により各唾液腺抽出液を等電点分離し，その各画分についてＰＯ活性を測定すると，顎下腺抽出液に３つ，耳下腺出液に２つの peak が認められたが，舌下腺抽出液にはただ１つの peak しか認められなかった。それらの peak の等電点（pH）は顎下腺抽出液のものは 5.21 (Fr. 1), 6.76 (Fr. 2), 7.51 (Fr. 3)，耳下腺抽出液のそれは 6.24(Fr. 1), 7.63(Fr. 2)，舌下腺抽出液では 7.50 (Fr. 1) であった。これらの peak のうち等電点の近似する３つの画分（顎下腺抽出液の Fr. 3, 耳下腺抽出液の Fr. 2 および舌下腺抽出液の Fr. 1）はいずれもＰＯＡ活性を示さず，これに対して他の画分は全てＰＯＡ活性を示した。

ＰＯＡ活性の発現には過酸化水素の存在下で過酸化酵素が SCN^- を酸化し，それによって産生された SCN^- の不安定な中間酸化産物が抗菌活性を有し，この中間酸化産物が CO_2, NH_3, SO_3 などに分解することが Oram および Reiter により報告されている。そこで上記各 peak 画分を用いて $KS^{14}CN$ よりの $^{14}CO_2$ 生成量を測定したところ，顎下腺抽出液の Fr. 1, Fr. 2 および耳下腺抽出液の Fr. 1 などＰＯＡ活性のあるものはいずれも $KS^{14}CN$ より $^{14}CO_2$ を生成したのに反して，ＰＯＡ活性を欠く顎下腺抽出液の Fr. 3, 耳下腺抽出液の Fr. 2, 舌下腺抽出液の Fr. 1 および西洋ワサビ過酸化酵素には全く $^{14}CO_2$ 生成能が欠如していることが示された。

要約すると，ラットの各唾液腺抽出液にはいずれも過酸化酵素活性が認められたが，本酵素のロダン化物酸化による抗菌活性は顎下腺および耳下腺抽出液にのみ存在した。舌下腺のこのＰＯＡ活性の欠如は同抽出液中の阻害物質によるものでない。

Ampholine で顎下，耳下および舌下腺抽出液を等電点分離することにより，前二者はＰＯＡ活性を有する過酸化酵素とＰＯＡ活性を欠く酵素とが存在するが，舌下腺抽出液にはＰＯＡ活性を欠く過酸化酵素のみが存在することを確認した。また $KS^{14}CN$ を酸化し，$^{14}CO_2$ を産生する作用はＰＯＡ活性を有する画分にのみ認められた。

以上の結果から，唾液腺過酸化酵素はその抗菌性発現の有無により少くとも二種以上存在することが明らかとなった。この抗菌性を有する酵素はロダン過酸化酵素と呼称しうるものと考えられる。

なお，このロダン過酸化酵素は舌下腺を除く唾液腺，涙腺，乳腺などの外分泌腺に局在し，細菌に対する生体防禦機構において何らかの役割を演じていると推測される。

論文の審査結果の要旨

この論文には，ラットの顎下腺および耳下腺抽出液はいずれも過酸化水素の存在下でロダン化物を酸化することにより *L. plantarum* に抗菌作用を示すのに，舌下腺抽出液はこの抗菌活性を欠いているという，佐治君らにより初めて明らかにされた事実を手掛りとして，三唾液腺抽出液中の過酸化酵素を isoelectric focusing electrolysis 法で分離し，それぞれ等電点の異なる過酸化酵素の各々について，酵素活性と抗菌作用との関係を明らかにしたもので，唾液腺の過酸化酵素にはロダン化物を酸化して抗菌作用を示すものと，ロダン化物を基質せず抗菌作用を欠くものとがあり，顎下腺および耳下腺には両者が，舌下腺には後者のみが存在するという新事実が明らかにされた。

以上のように佐治君の研究は新しい観点から行なわれた独創的なものであり，その成果は唾液の抗菌作用をめぐる問題に新しい知見をあたえ興味深く，歯学博士の学位を授与されるのに十分なる価値があるものと認める。