



Title	Streptomyces bottropensisの産生する胃液分泌抑制物質の研究
Author(s)	武藤, 徳男
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31622
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏 名 ・ (本籍)	武 藤 徳 男
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 9 0 5 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 月 25 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	Streptomyces bottropensisの産生する胃液分泌抑制物質の研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 青 沼 繁 (副査) 教 授 上原喜八郎 教 授 近藤 雅臣 教 授 三浦 喜温

論 文 内 容 の 要 旨

緒 論

動物に対し薬理活性を示す微生物産生物質については毒素を含め数多くの報告があるが、これらを薬理活性別に再分類し得る試みがなされており、新しい医薬品開発への手がかりを与えるものといえる。この内胃機能とくに胃液分泌に対して影響をおよぼす微生物産生物質についての報告はきわめて少なく、これまでに 2, 3 のバクテリア産生物質について検討されているにすぎない。また胃液分泌機能と密接な関係にある病態に消化性潰瘍があるが、この病因としては胃液の消化力と消化管粘膜の抵抗力のバランスの破綻によるという考え方が広くうけ入れられている。このことより胃液分泌を抑制する物質は有効な抗潰瘍作用物質となることが示唆される。そこで新しい胃液分泌抑制活性物質を微生物産生物質中より得るため放射菌をとりあげ、スクリーニングした結果胃液分泌抑制活性物質の産生を示した 1 株を分離したので、本菌の菌株同定、活性物質の精製単離を行なった。さらにこの活性物質についてその生物活性、化学的性質についても検討した。

第 1 章 Streptomyces bottropensis の培養濾液から胃液分泌抑制活性物質の精製

胃液分泌抑制活性物質の産生が認められた放射菌の菌株同定を行なった。本菌は黒褐色の溶解性色素を産生するクロモゲンニックタイプであり、その菌学的性状より Str. bottropensis の一変異株と同定し、Str. bottropensis F4708 と命名した。本菌を 30℃, 125rpm で振盪培養すると 6～8 日でピークに達することより培養日数は 7 日と決定した。この 7 日目の培養濾液から胃液分泌抑制活性物質の精製は Fig. 1 に示した操作により行なった。Sephadex G-100 におけるリクロマトグラフィー後の活性分画を凍結乾燥し、本物質を胃液分泌抑制物質 (gastric juice inhibitory substance-GIS) と

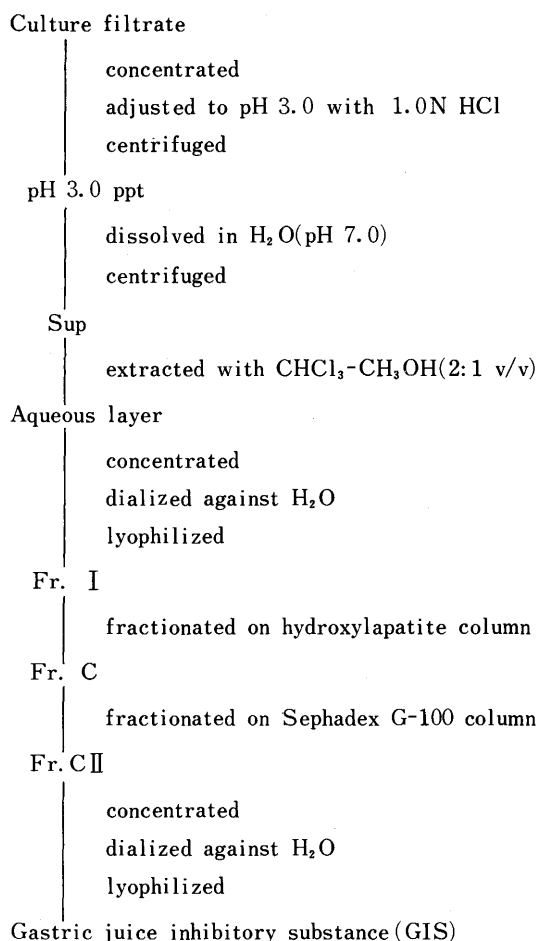


Fig.1. Purification Procedure of Gastric Juice Inhibitory Substance from Culture Filtrate of *Streptomyces bottropensis* F4708

命名した。

G I Sはセルロースアセテート膜電気泳動，ポリアクリルアミドゲル電気泳動で単一であり，さらに等電点泳動において Fig. 2 に示すように単一なピークを与え，その等電点は pH 4.4 であった。また G I S の分子量は SDS-ゲル電気泳動法より平均 26000 であった。G I S は黒褐色色素を含有し，蛋白，糖より構成された色素複合蛋白質の一種であり，各種変性剤処理に対し影響をうけず，またその分子中に O-グリコシド結合が存在することを認めた。

第2章 胃液分泌抑制物質（G I S）の生物活性

G I S の胃液分泌抑制活性をラット幽門結紮法で測定した結果は Table I のようになった。G I S は 1.0 mg/kg (i. p.) 以上で胃液量，総酸度，総ペプシン活性に対し顕著な抑制作用を示し，さらに 0.5 mg/kg (i. v.) でも有意な抑制活性の発現することを認めた。また G I S はラット胃内灌流法においてもテトラガストリンやヒスタミンの惹起する胃酸分泌を明らかに抑制した。G I S の抗潰瘍作用は数種の実験的胃潰瘍モデルを用いて検討したところ幽門結紮潰瘍 (Table II) およびアスピリン潰瘍

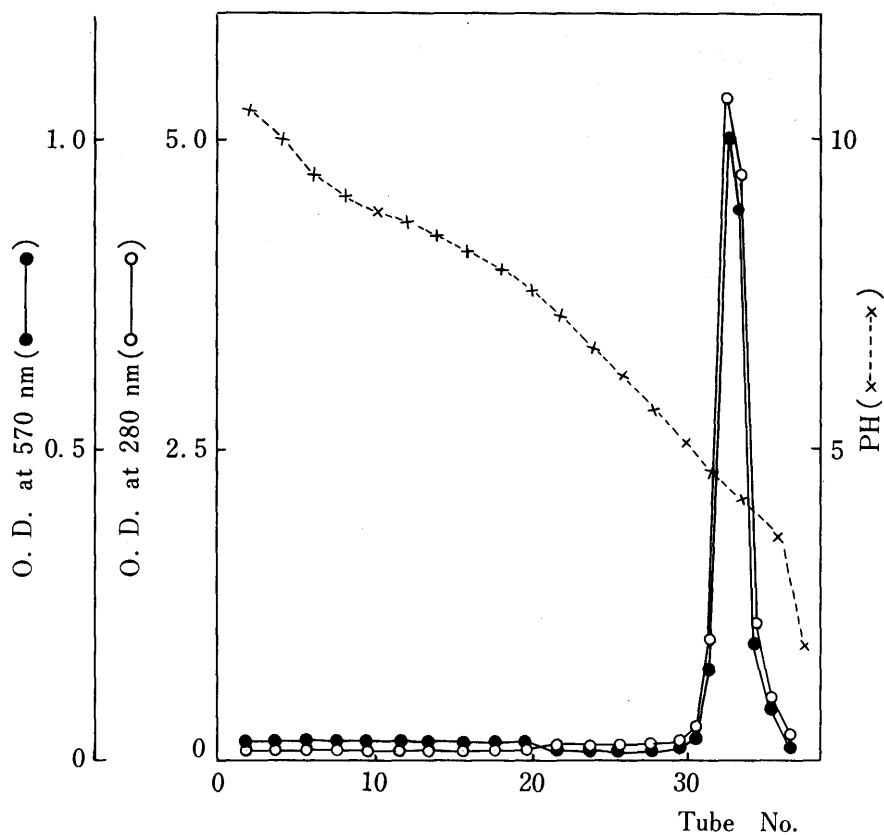


Fig.2. Isoelectric Focusing of GIS on Ampholine Column

Table I. Biological Activity of GIS on Gastric Secretion in Pylorus-ligated Rats (4hr)

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of rats	Gastric volume (ml/100g b. w.)	Total acid output (μ Eq/100g b. w.)	Total peptic activity (mg as tyrosine /100g b. w.)
Control	—	8	3.10 ± 0.21	313.2 ± 28.5	222.2 ± 14.5
GIS(i.p.)	0.5	8	2.84 ± 0.38	258.7 ± 47.6	215.7 ± 28.3
	1.0	8	$1.27 \pm 0.11^{**}$	$99.4 \pm 13.2^{**}$	$117.2 \pm 8.4^{**}$
	2.0	8	$0.97 \pm 0.16^{**}$	$75.8 \pm 10.9^{**}$	$88.6 \pm 13.3^{**}$
	5.0	8	$0.65 \pm 0.08^{**}$	$40.6 \pm 6.0^{**}$	$53.3 \pm 7.6^{**}$
Control	—	4	2.62 ± 0.30	286.2 ± 34.9	207.7 ± 20.8
GIS(i.v.)	0.5	4	$1.11 \pm 0.35^*$	$115.3 \pm 52.4^*$	$96.8 \pm 22.7^*$

All values represent mean $\pm$ s.e.

significantly different from control group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table II. Effect of GIS on Gastric Ulceration in Pylorus-ligated Rats (18 hr)

Treatment	Dose (mg/kg, i. p.)	No. of rats	Incidence of ulceration (%)	Ulcer index (mean $\pm$ s. e.)	% inhibition
Control	—	8	100	4.1 $\pm$ 0.4	—
GIS	10 ^{a)}	8	100	2.8 $\pm$ 0.4*	31.7
Control	—	8	100	4.0 $\pm$ 0.3	—
GIS	5.0 $\times$ 2 ^{b)}	8	87.5	2.1 $\pm$ 0.4**	47.5
	10.0 $\times$ 2	8	25.0	0.5 $\pm$ 0.4**	87.5

a) GIS was administered immediately after the ligation.

b) GIS was administered twice immediately and 9 hours after the ligation.

significantly different from control group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table III. Effect of GIS on Aspirin-induced Gastric Ulceration in Pylorus-ligated Rats (5hr)

Treatment	Dose (mg/kg, i. p.)	No. of rats	Ulcer index (mean $\pm$ s. e.)	% inhibition
Control	—	8	35.2 $\pm$ 5.1	—
G I S	5.0	8	28.2 $\pm$ 3.9	19.8
	10.0	8	17.0 $\pm$ 4.0**	51.7

Aspirin (100mg/kg) was administered orally immediately after the ligation.

significantly different from control group; ** $p < 0.01$.

(Table III)に効果が認められた。特に幽門結紮潰瘍に対しては10mg/kg (i. p.) の2回投与で抑制率87.5%を示し、8例中6例には全く潰瘍性変化は認められなかった。さらに慢性潰瘍モデルである酢酸潰瘍に対しても Table IVに示すように有意ではないが潰瘍の治癒促進傾向を認めた。しかしストレス潰瘍やヒスタミン潰瘍には効果は少なく、GISの抗潰瘍作用は本物質による酸度の低下およびペプシン分泌の低下に基づくものであって、他の潰瘍成因に対する作用は強くないと考えられる。

一方、GISにはラットの正常体温降下作用やカラゲニン浮腫抑制作用が認められたが、ラットにおける鎮痛作用や、犬の血圧・血流量に対する作用、モルモット摘出腸管における抗コリン作用、抗菌作用などは認められなかった。

Table IV. Effect of GIS on Acetic Acid-induced Ulceration

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of rats	Ulcer index (mean $\pm$ s. e.)	Curative ratio (%)
Control	—	10	13.3 $\pm$ 2.6	—
GIS	5.0 ^{a)}	10	9.4 $\pm$ 1.5	29.3

a) GIS (5.0mg/kg) was administered intraperitoneally twice a day for 10 days from the second day after the operation.

第3章 G I Sの胃液分泌抑制作用発現に関する検討

迷走神経切断ラットを用い胃内灌流法でG I Sの胃酸分泌抑制作用を測定した結果、その抑制パターンは正常ラットの場合と同様であり、G I Sの抑制作用は抗コリン作用によるものではなかった。また生体内カテコールアミンの関与についてレゼルピン処理ラットおよび副腎摘出ラットを用いて検討した。レゼルピン処理ラットにおいてG I Sの抑制活性はTable V に示すように若干の減少を示したが、副腎摘出ラットにおいては殆んど変化なく、G I Sの作用発現には生体内カテコールアミンの関与は少ないことを認めた。さらにG I Sは胃粘膜酵素活性、特に Mg^{2+} -dependent ATPase およびCarbonic anhydrase 活性に対しては影響をおよぼさなかった。一方、G I Sは加熱処理(100℃, 10分)やアルカリ処理(0.5N NaOH 中37℃, 48時間)に対し生物活性上全く安定であったが、プロナーゼ消化によりFig. 3に示すように活性は著しく減少し、活性発現に蛋白部分に関与することを認めた。さらにG I Sの塩酸加水分解により得られた黒褐色色素成分は著しく溶解性が低下したもののFig. 4に示すように胃液分泌抑制活性が認められ、活性発現に色素部分も関与していることを認めた。

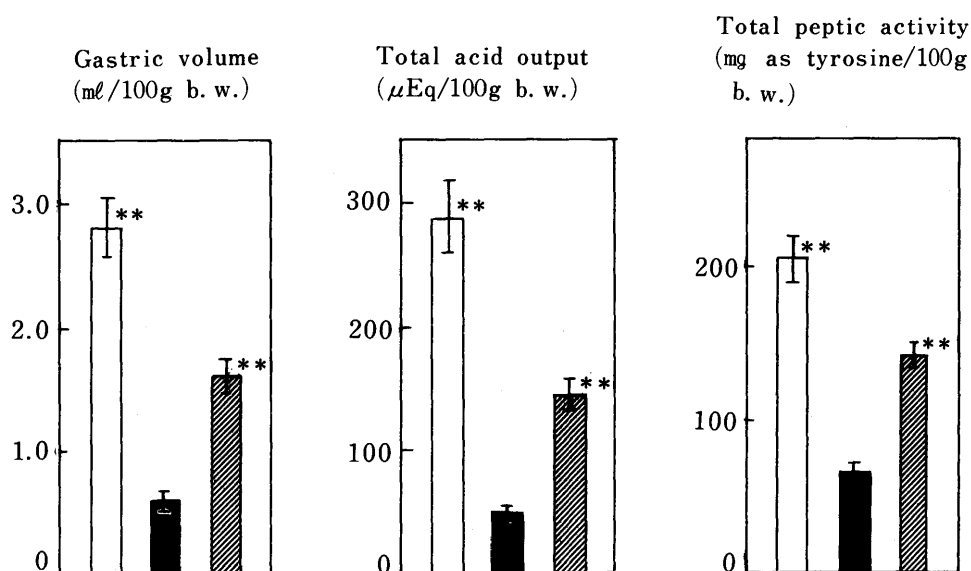


Fig. 3. Effects of Pronase-digested GIS on Gastric Secretion in Pylorus-ligated Rats(4 hr)
 □ Control(n=10) ▨ Pronase-digested GIS(n=10) ■ GIS(native) (n=10)
 Each sample was intraperitoneally administered at the dose of 5.0mg/kg.
 significantly different from GIS(native)-treated group; ** p<0.01.

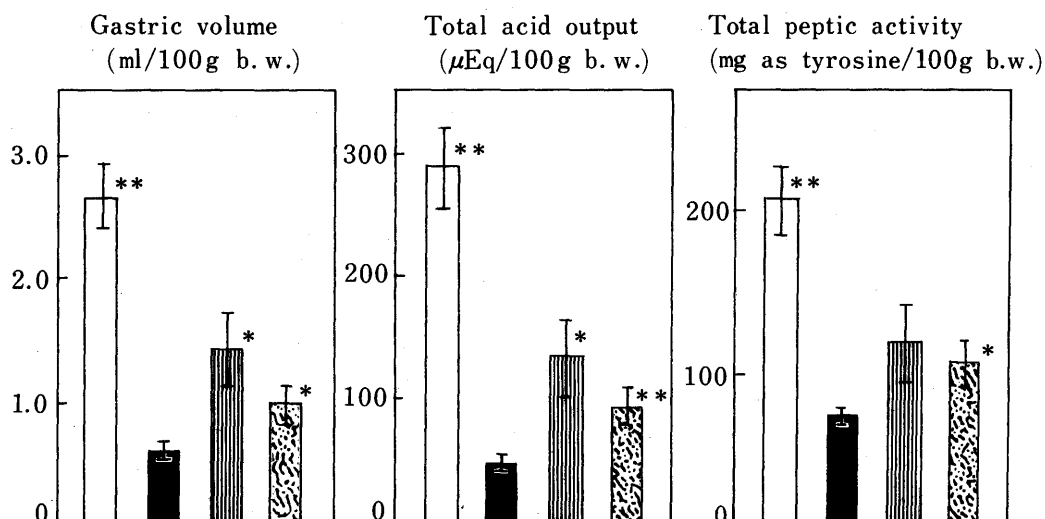


Fig.4. Effects of Acid Hydrolyzed- and Alkaline Hydrolyzed-GIS Residues on Gastric Secretion in Pylorus-ligated Rats (4 hr)

□ Control (n=8) ■ GIS (n=8)
 ▨ Acid hydrolyzed-GIS residue (n=4)
 ▩ Alkaline hydrolyzed-GIS residue (n=4)

Each sample was intraperitoneally administered at the dose of 5.0 mg/kg.
vertical lines: s. e.

significantly different from GIS(native)-treated group; *p<0.05, **p<0.01.

Table V. Effect of GIS on Gastric Secretion in Reserpine-treated Rats

Pretreatment	Treatment	Dose (mg/kg i. p.)	No. of rats	Gastric volume (ml/100g b. w.)	% inhibition
—	Control	—	8	2.63±0.20	—
	GIS	5.0	8	0.49±0.09**	81.4
Reserpine ^{a)}	Control	—	8	2.75±0.45	—
	GIS	5.0	8	0.98±0.24**	64.4

Gastric secretion in pylorus-ligated rats (4 hr) was measured.

a) Twenty-four hours prior to the pylorus ligation, reserpine (4mg/kg) was subcutaneously administered.

significantly different from control group respectively; ** p<0.01

第4章 GISの黒褐色色素成分の性質

GISの塩酸加水分解により得られた黒褐色色素成分はその吸収スペクトル, 溶解性, さらにゲル濾過やゲル電気泳動パターンなどからメラニンの一種と推定され, GISはメラノプロテインとして存在すると考えられる。またメラニンの代表例であるドーパメラニンにはGISと同用量で胃液分泌抑制作用が認められ, この点で両者の化学的性質の類似性が示唆された。しかしドーパメラニンにはラット正常体温降下作用は認められず, この点でGISはドーパメラニンと異なる生物活性を示した。

結 論

- 1) 新しく分離した *Str. bottropensis* F4708 の培養液から胃液分泌抑制物質 (G I S) を精製分離した。本物質は黒褐色色素を含有する色素複合蛋白質であり、メラノプロテインの一種であった。
- 2) 本物質はラット幽門結紮法、ラット胃内灌流法において顕著に胃液分泌を抑制し、また幽門結紮潰瘍、アスピリン潰瘍、酢酸潰瘍に対し抗潰瘍作用を示した。
- 3) 本物質の胃液分泌抑制作用は抗コリン性でなく、またその作用発現に生体内カテコールアミンの関与も少なかった。
- 4) 本物質は熱、アルカリ処理に安定であり、胃液分泌抑制作用発現には蛋白部分、黒褐色色素部分とも関与していた。

論文の審査結果の要旨

Str. bottropensis F4708 の培養液から胃液分泌抑制物質 (G I S) を精製分離した。本物質は黒褐色色素を含有する色素複合蛋白質でメラノプロテインの一種である。すなわち本物質はラット幽門結紮法、ラット胃内灌流法において顕著に胃液分泌を抑制し、また幽門結紮潰瘍、アスピリン潰瘍、酢酸潰瘍に対し抗潰瘍作用を示した。この胃液分泌抑制作用は抗コリン性でなく、またその作用発現に生体内カテコールアミンの関与も少ないことを認めた。

よって、学位の価値あるものと認める。