



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ラット胎児肝臓のヒスチジン脱炭酸酵素の精製，性質及び抗体によるヒスタミン産生細胞の同定                                                                                                     |
| Author(s)    | 田口，吉孝                                                                                                                                           |
| Citation     | 大阪大学，1983，博士論文                                                                                                                                  |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/33300">https://hdl.handle.net/11094/33300</a>                                                             |
| 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">大阪大学の博士論文について</a>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) | た　　ぐち　　よし　　たか<br>田　　口　　吉　　孝                      |
| 学位の種類   | 医　　学　　博　　士                                       |
| 学位記番号   | 第　　5　9　9　3　　号                                    |
| 学位授与の日付 | 昭 和 58 年 3 月 25 日                                |
| 学位授与の要件 | 医学研究科 生理系専攻<br>学位規則第5条第1項該当                      |
| 学位論文題目  | ラット胎児肝臓のヒスチジン脱炭酸酵素の精製、性質及び抗体によるヒスタミン産生細胞の同定      |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教 授 和田　　博<br>(副査)<br>数 授 塩谷弥兵衛 教 授 北村 幸彦 |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

ヒスタミンは重要な生理活性アミンであるが、肥満細胞以外にはその産生細胞は同定されていない。この問題にアプローチするためにヒスタミン生成酵素であるL-ヒスチジン脱炭酸酵素(HDC)を精製、純化し、これに対する抗体を作製し、組織蛍光抗体法を確立した。これを用いて、種々の組織におけるHDC活性変動を検索し、その生理的意義を検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

#### 1. HDCの精製

妊娠18～20日のラット胎児肝臓(400g)の粗抽出液より、硫酸分画、ホスホセルロース、DEAEセルロース、Bio-Gel A-0.5m、カルノシンアガロース、セファクリルS-300により、1,500倍の精製を行なった。この最終標品も完全には純粋でなかったため、調製用7.5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)を行い、10%SDS-PAGEで単一のバンドを得た。純化したHDCはS-300によるゲル濾過、及びHedric-Smithらの方法により分子量11万と算定され、SDS-PAGEでは約5.4万となり、その結果ホモダイマーと推定された。またクロマトフォーカシングにより等電点はpH 5.1と測定された。

#### 2. 抗HDC抗体の作製

部分精製したHDC(S-300分画)を用い家兔に免疫した。100 $\mu$ gのHDCを含む1.0mlのFreund's complete adjuvantにて初回免疫し、その後50 $\mu$ gのHDCを含む1.0mlのFreund's incomplete adjuvantにて、2週間の間隔で3度免疫する。最終免疫1週間後に採血し、血清よりIgG分画を調製

して、抗HDC抗体を得た。この抗体は、Ouchterlonyの二重拡散沈降法で、胎児肝臓、ラット腺胃、脳のHDCと一本の同一沈降線を形成した。抗体による各種HDCの活性阻害曲線は、相同であった。10pmoles/minのHDC活性を50%阻害するのに必要なIgGのタンパク量は、0.1mg/mlの濃度であった。

### 3. 抗HDC抗体による組織蛍光抗体法

抗HDC抗体とfluorescein isothiocyanate標識した羊抗家兔IgGを用いた間接蛍光抗体法をHDC活性が高い組織に応用した。ラット肥満細胞、腺胃、脳で各種の細胞が染め出された。腺胃では腺底にあるbasal-granulated cellが、脳においては、視床下部外側核、後側核、乳頭体で神経細胞が染め出され、神経繊維は視床下部に加え皮質全域に認められた。

### 4. 発癌プロモーターによるマウス皮膚HDC活性の上昇

HDCは、増殖組織（胎児の成長、再生肝、肉芽形成中の創傷組織、ある種の腫瘍など）において活性の上昇が報告されている。発癌プロモーターであるフォルボールエステルをマウス皮膚に塗布した時にHDC活性が上昇することを見い出した。このHDC活性上昇は、肥満細胞を欠損する $w/w^v$ マウスでもおこり、X線照射による前処置で消失し、骨髓移植で回復することにより、肥満細胞ではない骨髓由来の細胞が関与することが示唆された。この細胞の同定に抗ラット胎児肝臓HDC抗体を適用した。

〔総括〕

1. ラット胎児肝臓より、ヒスチジン脱炭酸酵素を単一にまで精製した。
2. 精製HDCを用いて抗HDC抗体を作製した。
3. 抗HDC抗体を用いて、肥満細胞、腺胃、脳のHDC産生細胞を同定した。
4. マウス皮膚におけるフォルボールエステルによるHDC活性上昇を検討した。

## 論文の審査結果の要旨

ヒスタミンは重要な生理活性アミンであるが、肥満細胞、好塩基球以外には、その産生細胞は同定されていない。この問題にアプローチするために、ヒスタミン生成酵素であるL-ヒスチジン脱炭酸酵素をラット胎児肝臓より精製純化し、これに対する抗体を作製し、組織蛍光抗体法を確立した。腺胃におけるbasal-granulated cell, 脳での神経細胞の同定は、ヒスタミンの胃酸分泌、あるいは脳内神経伝達物質としての役割を解明する上で重要な知見を提供するものである。またマウス皮膚における発癌プロモーターによる同酵素の活性上昇及びそれに関与する細胞の同定は、発癌のプロモーション過程研究に大きな貢献をするものである。