

Title	ラット顎下腺コリンエステラーゼの細胞化学的研究 : 酵素活性の微細構造分布とその性質について
Author(s)	和田, 薫
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/33597
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【1】

氏名・(本籍)	和 田 薫
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 5 8 2 1 号
学位授与の日付	昭 和 5 7 年 1 0 月 2 7 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ラット顎下腺コリンエステラーゼの細胞化学的研究 一酵素活性の微細構造分布とその性質について
論文審査委員	(主査) 教 授 赤井三千男 (副査) 教 授 猪木 令三 教 授 松浦 英夫 講 師 山本 隆 講 師 北村清一郎

論 文 内 容 の 要 旨

唾液腺は交感性および副交感性自律神経の二重支配を受け、組織化学的にコリン作動性ニューロンの存在が確められているが、その神経と腺実質細胞との関係や唾液腺コリンエステラーゼの分子生物学的性状については不明な点が多い。とくにラットでは、顎下腺の神経終末は直接的接触がないと報告されており、酵素活性は神経や筋上皮細胞には認められるが、腺実質細胞では不明である。

本研究では電子顕微鏡下で本酵素活性の微細構造分布をしらべると共に、電気泳動法により本酵素の多分子型の性質を明らかにし、分別遠心法によって分けた細胞内分画での酵素の性質と酵素活性の微細構造分布を対比することによって、顎下腺細胞内でのコリンエステラーゼ合成の可能性を検討し、本酵素の顎下腺での機能的役割を明らかにしようとした。

実験には成熟雄性ウイスター系ラットを用い、麻酔下で2.5%グルタルアルデヒド-カコジル酸緩衝液の灌流固定を行ない、クリオスタットで薄切、Karnovsky法で酵素活性を現出させ、光顕で観察すると共に、同切片を1%OsO₄-カコジル酸緩衝液で後固定、エボン包埋、ウラン-鉛重染色、又はそのいずれかで単染色し、またあるものは無染色のまま電顕で観察した。電気泳動法は顎下腺を10倍量の1/200 Mリン酸緩衝液で均質化し、硫酸分画して、最も酵素活性の高い分画をセファデックスG-200カラムに通し、濃縮し、Davis法によりポリアクリルアミドゲル電気泳動(2.5mA/gel, 90-150分)し、Karnovsky法により酵素活性帯を現出させた。さらに各活性帯に相当する画分から酵素を取り出し、再電気泳動し、酵素間の互換性をしらべた。またSDS電気泳動法により、これら多分子型を示す個々の酵素の分子量測定も行なった。次に、顎下腺ホモジネートを分別遠心し、核、分泌果粒、ミトコンドリア、ミクロゾームと高速遠心上清にそれぞれ分画し、各分画について酵素活性

値を測定すると共に、Davis 法で電気泳動し、上記方法で酵素活性帯を現出させた。

光顕、電顕所見では、腺房周囲の間質内にある神経線維の軸索鞘とシュワン細胞の間、および筋上皮細胞、腺房細胞、果粒を含まない介在部細胞や線条部細胞などの核膜と小胞体に主として活性が見られた。神経終末は基底膜を介して腺房細胞とほぼ200nmの間隔で接しており、腺房細胞側に向う軸索面にはシュワン細胞を欠き、軸索内に40—50nmのシナプス小胞やミトコンドリアを含んでいた。この部位に相対する腺房細胞膜との間に強い酵素活性が見られ、基底側の細胞膜に酵素が広く分布していることを示していた。

電気泳動的には全部で5つの活性帯が得られ、多分子型を構成していた。このうち一つの活性帯がある場合はより分子量が小さく易動度の大きい成分から、またある場合はより分子量が大きく易動度の小さい成分からそれぞれ派生されていることが示された。

分別遠心的に細胞内分画における酵素活性は、高速遠心上清分画を除いて、核やミクロゾーム分画に高い値を示し、しかも一般に高分子量の酵素成分が細胞内小器官に分布していること、また低分子量成分は遊離型として存在していることを示していた。

以上の結果を要約すると、1) ラット顎下腺実質細胞内、とくに核膜や小胞体に酵素活性が強く現われた。2) 電気泳動によって、5つの多分子型として検出され、解離重合等による酵素成分に互換性を認めた。3) 細胞内分画では、核膜を含む膜系には高分子量の酵素成分が多く、上清には低分子量の遊離型が存在していた。

以上のような結果を比較検討した結果、次のようなことが示唆された。筋上皮細胞を含む腺実質細胞内で本酵素の合成と高分子化が行なわれ、細胞内遊離型の酵素も、細胞内輸送中のもので窮極的には膜に組み込まれ、膜結合型としてそれぞれの膜部位における透過性を調節する機能を担い、また基底膜を介して神経終末部に相対する腺房細胞に見られる広範な活性は、コリン作動性ニューロンとの接合部の後シナプス膜としての役割を演じ、神経終末とはなれている関係上、広い範囲にわたって酵素が存在していることを示す。

論文の審査結果の要旨

本研究はラット顎下腺コリンエステラーゼについて、細胞化学的に酵素活性の微細構造分布と酵素の性質を調べたものである。電顕細胞化学的所見と、細胞内分画および電気泳動の所見を総合して検討し、本酵素が顎下腺実質細胞内で作られ、細胞内小器官の膜系に組み込まれていることを明らかにしている。このことは顎下腺実質細胞内における本酵素の機能的役割について重要な知見を得たもので価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。