The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	人血清IgGの環元，アルキル化による抗潰瘍活性発現とその活性フラグメントに関する研究
Author(s)	岩井，正和
Citation	大阪大学，1984，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34827
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

【13】

氏名・（本籍）	岩井正和（いわい まさかず）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 6628 号
学位授与の日付	昭和59年10月18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	**人血清IgGの環元，アルキル化による抗潰瘍活性発現とその活性フラグメントに関する研究**
論文審査委員	（主査）教授 青沼 繁 （副査）教授 近藤 雅臣　教授 鎌田 皎　教授 岩田平太郎

論文内容の要旨

これまで消化性潰瘍の予防，治療に有効な物質が生体成分である消化管粘膜や尿から単離，精製されている。[1),2),3)]そして，血液中の活性成分としてウシ血清IgG画分に弱い抗潰瘍活性が見出され，その還元，アルキル化による活性化現象が報告されている。[4)]

今回，著者はこのウシ血清IgGにおける活性化現象を新しい抗潰瘍薬の開発という観点から人血清IgGに適用し，同様な活性化が認められるか否かを検討した。その結果，Nativeな人血清IgG画分には抗潰瘍活性が殆んど認められないにも拘らずこれを還元，アルキル化してアルキル化H鎖，L鎖に分離すると著しい活性の発現が認められることを見い出した。さらにこれら人血清IgGのアルキル化H鎖，L鎖のうち特に活性の顕著なアルキル化L鎖につき各種潰瘍モデルにおける抗潰瘍活性を調べ，同時にその作用メカニズムを検討した。

市販の人血清グロブリンをDEAE cellurose column chromatographyにより精製し，IgG画分（Fr. I：非吸着画分およびFr. II：吸着画分）のみを分離，精製した。[5),6),7)]これら精製した両IgG画分の鎖間disulfide結合をdithiothreitolによって還元した後，遊離するSH基をiodoacetamideでカルボキサミドメチル化してdisulfide結合の再形成を阻止した後，SDS存在下にSephadex G−200により[8)]それぞれのアルキル化H鎖（Fr. I−H，Fr. II−H），L鎖（Fr. I−L，Fr. II−L）に分離，精製した。各アルキル化subfragmentはDowex 1−X8（$C\ell^-$型）カラムを用い[9)]脱SDS処理を行った後，凍結乾燥し，可及的速やかに使用した。

各アルキル化H鎖，L鎖のラット幽門結紮潰瘍に対する効果は還元，アルキル化後SDS存在下にH，L鎖に分離することにより著明に上昇し，特にFr. I−Lでは1.0 mg／kg，2回の腹腔内投与でも対照群

に比し，有意な抗潰瘍活性が認められた。また，その作用発現機構の一つとしてアルキル化H鎖，L鎖のもつ強い胃液分泌抑制活性の関与が明らかとなった。これらアルキル化H鎖，L鎖の効力発現にはIgGを還元処理した後，遊離したfreeのSH基をアルキル基等によりブロックしてやることが必須でスルホ化のように比較的生体内でNativeなIgGにもどりやすいものでは効力のないことが判明した。

人IgGより調製したアルキル化H，L鎖に認められる強い胃液分必抑制活性はラットIgGから調製したアルキル化L鎖にも同様に認められることから，この作用はアルキル化IgG−H，−L鎖に固有の作用であることを確認した。また，本物質による作用発現は腹腔内あるいは静脈内投与のいずれの投与ルートでも認められることから薬効発現には投与経路の違いによる差はないものと判断された。

強い胃液分泌抑制活性の認められたFr. I −Lについてラット幽門結紮潰瘍以外の各種実験潰瘍モデルに対する効果を検討した。その結果，phenylbutazone潰瘍に対しては5mg／kgの投与量で対照群の47.4％の抗潰瘍活性を認めた。また，aspirin潰瘍においても10mg／kgの投与量で約40％の阻害活性が認められた。しかしstress潰瘍や酢酸潰瘍ではほとんど抑制活制は認められなかった。

他方，本物質の防御因子側への影響をphenylbutazone, aspirin，幽門結紮等により惹起される潰瘍モデルラットの胃粘膜中のhexosamine含量の変動を測定し検討した。胃粘膜中のhexosamine含量は潰瘍形成により著明に低下するがFr. I −L，10mg／kgの腹腔内投与でほぼintactレベルまで回復し，又胃液粘液中へのhexosamineの遊離もFr. I −Lの投与によりおさえられた。これらの結果は本物質が胃粘膜保護作用も有していることを示すものである。そこでintactラットにFr. I −Lを10mg／kg（i.v.）投与し，経時的に胃粘膜中のhexosamine, sialic acid, uronic acid含量を測定した。本物質投与後4〜6時間目をピークとしてhexosamine, uronic acid含量は対照群に比し有意な増加が認められsialic acid含量もしだいに増加する傾向が認められた。またintactラット胃粘膜への$^{35}SO_4^{2-}$の取り込みがFr. I −Lの投与により有意に促進され，そのパターンが胃粘膜中のuronic acid含量の変動とパラレルであることからFr. I −Lに胃粘膜ムコ多糖生合成系活性化作用のあることが確認された。

他方，Fr. I −Lの胃粘膜ムコ多糖分解系におよぼす影響についてphenylbutazone潰瘍，aspirin潰瘍ラットで検討したところFr. I −L 10mg／kgの投与で潰瘍形成時にみられる胃粘膜Mucopolysaccharase活性の著明な上昇は抑制されほぼintactレベルに近似の値を保持していた。

つぎに胃粘膜局所線溶活性におよぼすFr. I −Lの影響をintactラットおよびphenylbutazone潰瘍ラットで検討したところ，Fr. I −Lはintactラットの胃粘膜局所線溶活性には何んら影響を与えないにも拘らずphenylbutazone潰瘍形成時にみられる胃粘膜局所線溶活性の著明な上昇をintactレベル以下に抑制した。

又，Fr. I −Lにはその他の薬理作用として生体膜の安定化を介した抗炎症活性のあることが確認されたためFr. I −Lの各種生体膜安定化と膜脂質の過酸化抑制作用につき検討したところFr. I −Lはラット赤血球溶血現象（低張ならびに加熱による溶血）に対し抑制作用を示すうえラット肝lysosome膜に対しても著明な安定化作用を示したことからFr. I −Lに生体膜安定化作用のあることが示唆された。そこでFr. I −Lの膜安定化のメカニズムについてphenylbutazone潰瘍モデルで，ラット胃粘膜および肝ホモジネートの過酸化脂質量を測定したところ，正常時に比し対照群では過酸化脂質量の著明な増加が認め

られた。

他方，Fr. I −L 25mg／kg投与群では完全に抑制されていた。さらにその後のex vivo incubationでは対照群の脂質の過酸化がさらに顕著になるのに対し，Fr. I −L投与群では全く増加傾向は認められなかった。

（結　　論）

1）市販の人血清IgGをDEAE cellurose column chromatographyにより高度精製することにより，いずれもがIgG画分であるFr. I（非吸着画分）およびFr. II（吸着画分）を得た。

2）高度精製したFr. I，Fr. IIの還元，アルキル化により得られるアルキル化H鎖（Fr. I −H，Fr. II −H），L鎖（Fr. I −L, Fr. II −L）には元のFr. I，Fr. IIには認められない強い抗潰瘍活性の発現が認められた。

3）アルキルH鎖，L鎖の作用発現にはfree SH基がアルキル基等によりブロックされていることが必須でスルホ化などのように生体内で元のIgGにもどりやすいものでは効力のないことが判明した。

4）アルキル化H鎖，L鎖はともに強い胃液分泌抑制活性を示し，特に活性の強いFr. I −Lは幽門結紮潰瘍，phenylbutazone潰瘍，aspirin潰瘍に対して有効であったがstress潰瘍や慢性潰瘍モデルの酢酸潰瘍に対しては無効であった。

5）Fr. I −Lは単に胃液分泌を抑制するだけでなく，胃粘膜ムコ多糖体の生合成を活性化し，併せて，潰瘍形成時に認められる胃粘膜ムコ多糖分解酵素活性の著明な上昇を完全に抑制した。

6）Fr. I −Lは潰瘍形成に伴い亢進した胃粘膜局所線溶活性をintactレベル以下にまで低下させた。しかも，このような作用は正常胃粘膜では全く認められなかった。

7）Fr. I −Lの生理作用発現のメカニズムとして本物質の生体膜stabilizerとしての作用を認めると同時にラット肝lysosomeからの各種水解酵素の遊離をおさえることを確認した。又，その作用メカニズムとしてFr. I −Lに膜脂質の過酸化反応抑制作用のあることが判明した。

（文　　献）

1）J. S. Gray：Am. J. Physiol., 134, 623（1941）

2）S. Cataland：Gastroenterology, 73, 19（1977）

3）S. R. Bloom, A. S. Ward：Br. Med. J., 1, 126（1975）

4）T. Mimura et al.：J. Pharm. Dyn., 5, 301（1982）

5）E. A. Peterson, H. A. Sober：J. Am. Chem. Soc., 78, 751（1956）

6）H. A. Sober, F. J. Gutler et al.：J. Am. Chem. Soc., 76, 1711（1954）

7）H. A. Sober, E. A. Peterson：Fed. Proc., 17, 1116（1958）

8）S. Utsumi, F. Karush：Biochemistry, 3, 1329（1964）

9）J. Lenard：Biochem. Biophys. Res. Commun., 45, 662（1971）

論文の審査結果の要旨

Nativeでは不活性な人血清IgG画分を還元，カルボキサマイドメチル化後，SDS存在下にH鎖，L鎖に分離すると抗潰瘍活性が著明に発現することを明らかにし，IgG由来のH，L鎖の作用発現にはfree SH基がアルキル基等によりブロックされていることが必須で，スルフォ化などのように生体内でNative IgGにもどりやすいものでは効力のないことを認めた。さらにアルキル化Fr. I -Lは単に胃液分泌を抑制するだけでなく，胃粘膜ムコ多糖体の生合成をも活性化すること，その生理作用発現のメカニズムとして本物質の生体膜stabilizerとしての作用を認めると同時に膜脂質の過酸化反応を抑制し，ライソゾームからの各種水解酵素の遊離をおさえることを証明した。以上のことより本論文が薬学博士としての価値あるものと認める。