The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	唾液腺グルカゴンの実態解明に関する研究
Author(s)	田原, 保宏
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35686
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

【44】

氏名・(本籍)	田原保宏（たはらやすひろ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7853 号
学位授与の日付	昭和62年8月3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	**唾液腺グルカゴンの実態解明に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 熊原 雄一 (副査) 教授 垂井清一郎　教授 宮井 繁

論文内容の要旨

［目　的］

1974年のSilvermanらの報告以来，唾液腺におけるグルカゴン様物質の存在，およびその性質に関して多数の報告がなされてきたが，唾液腺グルカゴンの性質には，分子量，抽出法，糖代謝への影響，組織における染色性等に多くの矛盾があり，必ずしもその存在が確立されているわけではなかった。本研究は，この唾液腺グルカゴンの実態解明を目的として開始したが，唾液腺グルカゴンが唾液腺に含まれるグルカゴン分解活性のＲＩＡに対する干渉によるものであることを見出したので，更にそのメカニズムを追求すると共に，関与するEnzymeの同定を行った。

［方　法］

①Wistar系Ratの顎下腺を用い，酸食塩水（ＡＳ）法および酸エタノール（ＡＥ）法にてグルカゴン様物質を抽出した。②グルカゴンの測定はグルカゴンＣ端抗体ＯＡＬ－123を用いたＲＩＡ法にて行い，ＲＩＡ中における^{125}Ｉ－グルカゴンの分解はTrichloroacetate法（ＴＣＡ法）にて調べた。③ＡＳ抽出物と膵グルカゴンの同一性を調べるため，これらの稀釈曲線を調べた。④ＡＳおよびＡＥ抽出物をBio－Gel Ｐ－10（1.7×90cm）にてゲル濾過し，グルカゴンおよびグルカゴン分解活性のゲル濾過パターンを調べた。⑤^{125}Ｉ－グルカゴン0.2μCiまたは標準膵グルカゴン20ngをＡＳまたはＡＥ抽出物と4℃にて48時間インキュベートした後にBio－Gel Ｐ－6（0.8×60cm）にてゲル濾過し，その分解産物のゲル濾過パターンを調べた。

［成　績］

ＡＳ抽出物に関する検討

①顎下腺からＡＳ法では見かけ上3.6±1.5μｇ／ｇ－tissue（mean±ＳＤ，ｎ＝５）のグルカゴンが抽出されたが，ＴＣＡ法で調べるとアッセイ時にほとんどすべての^{125}Ｉ－グルカゴンが分解されていた。②ＡＳ抽出物中のグルカゴン分解活性は10mM Benzamidineあるいは1000ＫＩＵ／mℓ Aprotininеでは全く抑制できなかったが，100℃にて10分間煮沸すると完全に消失し，同時にＲＩＡにてもグルカゴンは検出できなくなった。③Bio－Gel Ｐ－10にてゲル濾過するとVoid volumeに一致して多量のグルカゴンが溶出されたが，同一Frationに強いグルカゴン分解活性がみられた。④ＡＳ抽出物のＲＩＡ法の稀釈曲線は標準膵グルカゴンの希釈曲線とは平行せず，ＴＣＡ法でみたグルカゴン分解の希釈曲線と平行した。⑤ＡＳ抽出物と４℃にて10分間インキュベートした^{125}Ｉ－グルカゴンをBio－Gel Ｐ－10にてゲル濾過すると，分子量約2000のFractionに溶出した。この成分はグルカゴンＮ端抗体ＯＡＬ－196とは反応するがＣ端抗体ＯＡＬ－123とは反応しなかった。⑥標準膵グルカゴンはＡＳ抽出物により分子量2000のＮ端と分子量1300のＣ端に分解された。このことより，グルカゴンの分解は17，18位のArginine残基の所で分解されることが明らかとなった。

ＡＥ抽出物に関する検討

①ＡＥ抽出物の場合は1.5±0.15ng／ｇ－tissue（mean±ＳＤ，ｎ＝９）のグルカゴンが検出されたが，この場合も少量のグルカゴン分解活性の残存がみられ（ＡＳ抽出物の0.027±0.004%に相当），両者間には極めて良い相関がみられた（ｒ＝0.95，Ｐ＜0.001）。②ＡＥ抽出物と４℃にて48時間インキュベートした^{125}Ｉ－グルカゴンのゲル濾過パターンおよびグルカゴン抗体との反応性はＡＳ抽出物の場合と全く同一であった。

［総　　括］

以上より，

①　唾液腺のＡＳおよびＡＥ抽出物は多量のグルカゴン分解活性を含んでいることが明らかとなった。このグルカゴン分解活性は従来ＲＩＡに用いられてきた蛋白分解酵素阻害剤では抑制できなかった。

②　従来報告されてきた唾液腺グルカゴンは，ＡＳ抽出物・ＡＥ抽出物共にグルカゴン分解活性によるＲＩＡへの干渉による見かけ上の物質であることが判明した。

③　ＲＩＡへの干渉は^{125}Ｉ－グルカゴンが17，18位のArginine残基の所で分子量2000のＮ端と分子量1300のＣ端に切断されるためであった。

④　今回のデータおよびこれまでの文献を総合すると，このグルカゴン分解活性を示す酵素は唾液腺に含まれるエステロプロテアーゼＡとＢであると考えられる。

論文の審査結果の要旨

従来，唾液腺は膵外グルカゴンの主要な産生臓器と考えられてきた。しかし，これにはいくつかの未解決の問題があり，その存在が確率されているとはいえなかった。本研究ではこの唾液腺グルカゴンの実態を明らかにしたものである。本研究の結果によれば，唾液腺には多量のグルカゴン分解活性を示す

酸素が含まれており，ラジオイムノアッセイで測定されているグルカゴンはこの酵素により標識グルカゴンが分解されるための見かけ上のものであることが明らかとなった。更に，グルカゴンの分解機構，および唾液腺に含まれるグルカゴン分解活性を示す酵素を追求した結果，この酵素がエステロプロテアーゼA，Bであることを示した。本研究は長年の懸案であった唾液腺グルカゴンの実態につき明解な結論を下したのみならず，更に他のペプチドのイムノアッセイに起こり得る問題に対する一つの指針を与えた意味でも重要であり，学位に値するものと考えられる。