



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ヒト胃粘膜に存在する膵分泌性トリプシン・インヒビター（PSTI）の精製とその性状                                                                                                                                                                                                                             |
| Author(s)    | 柴田, 高                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35749">https://hdl.handle.net/11094/35749</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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) | 柴 <sup>しば</sup> 田 <sup>た</sup> 高 <sup>たかし</sup> |
| 学位の種類   | 医学博士                                            |
| 学位記番号   | 第 7891 号                                        |
| 学位授与の日付 | 昭和 62 年 10 月 13 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  | ヒト胃粘膜に存在する膵分泌性トリプシン・インヒビター<br>(PST I) の精製とその性状  |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 森 武貞<br>(副査)<br>教授 谷口 直之 教授 鎌田 武信    |

## 論文内容の要旨

### 【目 的】

膵分泌性トリプシン・インヒビター (PST I) は膵腺房細胞より膵液中に分泌される分泌型トリプシン・インヒビターである。従来, PST I は膵臓にのみ存在し, その役割は膵内で活性化する微量のトリプシンと結合してその活性を阻害することにあるとされてきた。一方, 教室では PST I 測定のため RIA 系を確立し, 種々の膵疾患における血中 PST I の変動を明らかにするとともに, 血中 PST I が膵以外の疾患, 特に種々の悪性腫瘍において上昇することを見出し報告してきた。さらに RIA 系を用いてヒト PST I の臓器分布を検討したところ, 膵臓以外の各種臓器に PST I と共通した抗原性を有する物質 (immunoreactive PST I) が存在し, とくに胃粘膜に immunoreactive PST I が多量に存在することを見出した。

本研究の目的は, 胃粘膜に存在する immunoreactive PST I を精製し, その性状を明らかにすることにある。

### 【方法ならびに成績】

#### 1) Immunoreactive PST I の臓器分布

Immunoreactive PST I の測定はすべて二抗体法による RIA 法を用いた。剖検例 (死後約 10 時間) における臓器分布の検討では, 臓器湿重量 1 g あたり膵臓で 15986.5ng, 胃粘膜 (胃底部) で 248.5ng, 胃粘膜 (胃体部) で 381.7ng, 胃粘膜 (幽門前庭部) で 462.9ng, 小腸粘膜で 233.6ng, 腎臓で 130.1ng, 卵巣で 50.0ng, 肺臓で 44.2ng, 肝臓で 32.1ng, の immunoreactive PST I が検出された。また, 脳, 顎下腺, 甲状腺, 心筋, 脾臓の immunoreactive PST I はそれぞれ 20ng 以下であった。一方, 術後直ち

に採取した切除胃粘膜中のimmunoreactive P S T I は、胃底部で3008.3ng, 胃体部で2339.6ng, 幽門前庭部で3018.8ng, であった。

## 2) ヒト胃粘膜immunoreactive P S T I の精製

Immunoreactive P S T I の精製には、十二指腸潰瘍に対して幽門側胃切除を施行した5症例の胃粘膜を原材料とした。胃粘膜356gを生理食塩水にて3回洗浄したのち、0.02M P B S buffer (50mM NaCl, 0.2mM P M S F, 2mM E D T A, 0.02mM S B T I) pH6.8にてホモジネートを作製した。ついで100,000 X g, 30分間超遠心を行い、その上清を1.0N HClにてpH4.0とし、さらに20,000 X g, 30分間遠心後、再び1.0N NaOHにてpHを6.8に戻し、凍結乾燥した。

乾燥標品1gを0.1M酢酸アンモニウム緩衝液, pH4.0, 12mlに溶解し、同じ緩衝液にて平衡化をしたSephadex G-50カラムでゲル濾過した。Immunoreactive P S T I の画分をさらにS P -Sephadex G-25カラムによるイオン交換クロマトグラフィーにかけ、pH gradientにて溶出した。Immunoreactive P S T I はpH4.6, 4.8, 5.2の三峰性に溶出された。pH4.8で溶出した主画分を0.1% T F A -acetonitrile系によるreversed phase H P L Cにかけ、acetonitrileの濃度勾配にて溶出した。Immunoreactive P S T I はacetonitrile 28%で溶出された。これをさらに2回reversed phase H P L Cにかけ、胃粘膜immunoreactive P S T I を精製した。

精製immunoreactive P S T I はポリアクリルアミドゲル電気泳動 (pH9.5, 10% slabgel) にて単一のバンドを示した。なお、ホモジネート (超遠心後の上清) 中のimmunoreactive P S T I 量は218.4  $\mu$ g, 精製したimmunoreactive P S T I はR I A法で16.1  $\mu$ g, Lowry法によるタンパク測定で17.8  $\mu$ gで、その精製倍率は約4万倍, 収率は7.5%であった。

## 3) ヒト胃粘膜immunoreactive P S T I の性質

精製したヒト胃粘膜immunoreactive P S T I の分子量はSephadex G-50による算定で約6,000であった。また、ポリアクリルアミドゲル電気泳動では腭液由来のnative P S T I と同一の位置に泳動した。

胃粘膜immunoreactive P S T I は56個のアミノ酸よりなり、そのアミノ酸組成は腭液中に存在するP S T I と同一であった。酵素活性阻害能の検討ではエラスターゼ, カリクレインに対して阻害活性を持たず、トリプシンに対してのみ阻害活性を示し、その阻害はモル比1 : 1で腭液中のP S T I と同様であった。胃粘膜immunoreactive P S T I の熱および酸に対する安定性の検討では、腭液中のP S T I と同様にpH7.4, 80°C, 120分間およびpH4.0, 37°C, 24時間のインキュベーションでそれぞれ12%, 8%の免疫活性の失活がみられた。

### [総括]

1. Immunoreactive P S T I はヒトの各種臓器中に存在し、膵臓以外ではとくに胃粘膜, 小腸粘膜, 腎臓, 肺臓, 卵巣および肝臓に多く認められた。
2. ヒト胃粘膜より、ゲル濾過, イオン交換クロマトおよび3回の逆相高速液体クロマトによって, immunoreactive P S T I を精製した。
3. 精製した胃粘膜immunoreactive P S T I は、分子量, 電気泳動の易動度, アミノ酸組成, 阻害スペクトルおよび阻害能, 熱および酸に対する免疫活性の安定性のすべてにおいて腭液中に存在する

PSTIと同一の性質を有していた。

### 論文の審査結果の要旨

膵分泌性トリプシン・インヒビター (PSTI) は、従来、膵臓にのみ存在するものと考えられてきた。本研究は、まず各種臓器にPSTIの免疫活性 (immunoreactivity) が存在することを明らかにし、その免疫活性を指標として胃粘膜より immunoreactive PSTI を精製したものである。さらに胃粘膜PSTIの分子量、電気泳動の易動度、アミノ酸組成、阻害スペクトルおよび阻害能、熱および酸に対する免疫活性の安定性について、膵液中に存在するPSTIと比較検討し、両者が同一のポリペプチドであることを明らかにしている。本研究は、PSTIが膵臓以外の臓器にも存在することをはじめて示したものであり、PSTIの生理的役割の再検討を示唆する重要な価値ある研究であると考えられる。