Osaka University Knowledge Archive

Title	発達段階における膵外分泌の未熟な刺激分泌相関 : Cキナーゼの個体発生学的変化
Author(s)	清水, 一男
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36515
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【34】

氏名・(本籍)	清水一男（しみずかずお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8270 号
学位授与の日付	昭和63年6月9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	**発達段階における膵外分泌の未熟な刺激分泌相関：Cキナーゼの個体発生学的変化**
論文審査委員	(主査) 教授 藪内 百治 (副査) 教授 田中 武彦　教授 岡田 正

論、文内容の要旨

〔目　的〕

新生児ラットの膵腺房はＣＣＫ，Cholinergic agents による分泌刺激に対して反応しない。しかし，この時期の膵腺房は形態学的には充分な分泌顆粒を持っており，新生児期の膵腺房の無反応性は部分的にはＣＣＫ，Cholinergic agents の受容体の未熟性によるものとされてきた。一方，Ｃキナーゼは ＣＣＫ，Cholinergic agents の分泌刺激に密接に関連しており，新生児期の膵腺房の無反応性が，Ｃキナーゼの未熟性と関わっている可能性がある。この可能性を調べるため，ラット膵におけるＣキナーゼの個体発生学的変化および新生児期のラット膵腺房の Tetradecanoyl phorbol acetate（ＴＰＡ：Ｃキナーゼの活性化因子であり，成人ラット膵にアミラーゼ分泌を促す）に対する反応性を検討した。

〔方法ならびに成績〕

実験には Sprague－Dawley 系のラットを用いた。

膵臓より得られたホモジェネートを細胞質と膜分画に分画し，Ｃキナーゼ活性を測定した。Ｃキナーゼ活性はその活性化に必要な脂質の存在下におけるヒストンへのリン酸化によって測定した。ラット膵の細胞質分画のＣキナーゼの比活性は出生直後は成人レベルの約 1/5 であった。しかしこの比活性は生後急速に増加し，生後２日には成人レベルに達した。膜分画ではＣキナーゼの比活性は生後わずかに上昇したものの生後２日以降は徐々に減少し，成人レベルは生後２日に比して有意に低かった。Ｃキナーゼの細胞質と膜分画の相対的な分布はラットの成長の過程において有意な変化を認めなかった。新生児および成人ラットの膵細胞質分画のＣキナーゼはＡＴＰに対するＫm値に差はなく，少なくとも Catalytic には同等と思われた。また新生児および成人ラットの膵細胞質分画を混合した検体のＣキナーゼの

レベルは両者の和であり，新生児および成人ラットの膵細胞質分画のＣキナーゼ活性の差にＣキナーゼの阻害因子や活性化因子の影響はないものと思われた。この事より膵細胞質分画のＣキナーゼの活性の増加は年齢とともにＣキナーゼの量が増えるためであると思われた。

Phorbol dibutyrate（ＰＤＢu）binding は Uchida らの方法によって測定したが，その結果はＣキナーゼ活性測定の結果と同様のものであった。Tumor promotor である Phorbol ester の受容体は主にＣキナーゼとみなされており，この結果はＣキナーゼ活性測定の結果を支持するものであった。

In vitro での膵臓の外分泌刺激試験を，コラゲナーゼで消化し得られた遊離膵腺房を用い，各種分泌刺激物質に対するアミラーゼ放出で測定した。成人および生後２日のラット膵腺房はＴＰＡに対してアミラーゼ放出反応がみられたのに対して新生児ラットの膵腺房はＴＰＡに対して反応が認められなかった。

〔総　　括〕

満期胎児および新生児ラットの膵腺房は形態学的には充分発達しているにもかかわらずＣＣＫおよび Cholinergic agents に対して反応せず，そのメカニズムとして部分的には受容体の未熟性によることが示されてきた。しかし，この時期においても測定可能な受容体が存在し，また生後の分泌反応の獲得と受容体の増加と解離がある事より，新生児期のラット膵腺房の無反応性には受容体結合より先の段階も未熟であることが示唆される。Ｃキナーゼの活性化とＣキナーゼの細胞質より膜分画への translocation は刺激伝達機構においてＣＣＫおよび Cholinergic agents がそれぞれの受容体に結合した後におこる事より，Ｃキナーゼが新生児ラットの膵腺房の無反応性に対して第二の制限段階になっている可能性がある。我々の実験結果は新生児ラットの膵臓においてＣキナーゼレベルが低い事および細胞質と膜分画のＣキナーゼの相対的な分布はラットの成長の過程において有意な変化がない事を示した。これはＣキナーゼの相対的な分布は膵外分泌刺激に対する反応性と関わりのない事を示唆するものである。さらに新生児ラットの膵腺房はＣキナーゼを活性化するＴＰＡに対してアミラーゼの放出反応がみられなかった。成人および生後２日のラット膵腺房はＴＰＡに対してアミラーゼ放出反応がみられた事より新生児ラットの膵腺房のＴＰＡに対する無反応性はこの時期のＣキナーゼレベルがその作用を及ぼすのに必要な閾値以下であるためと思われた。

論文の審査結果の要旨

ラットの膵外分泌において出生直後はＣＣＫや Cholinergic agents に対して反応が認められない。しかし一方，dibutyryl cAMＰやＡ23187に対してはアミラーゼ放出が認められるため新生児期の膵外分泌の無反応性は受容体の未熟性によるものとされてきた。しかし新生児期にも受容体が存在すること，及び生後の分泌能の獲得と受容体の増加の間には解離があり，受容体の未熟性だけでは新生児期の膵外分泌の無反応性は説明できなかった。

本研究はラット膵臓のＣキナーゼが出生直後に低値である事を示し，その増加と分泌能の獲得との間

に関わりがある事を示した。また新生児期の膵臓ではＣキナーゼを活性化するＴＰＡに対してアミラーゼ分泌反応がみられない事を示した。この事は膵外分泌の発達においてＣキナーゼの重要性をはじめて明らかにしたもので独創的であり，学位論文に価するものと考えられる。