The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	red kidney beanから精製したenterokinase inhibitorによるラット小腸粘膜過形成
Author(s)	田尻, 仁
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36554
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

【37】

氏名・(本籍)	田尻　仁（たじり　ひとし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　8273　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	red kidney bean から精製した enterokinase inhibitor によるラット小腸粘膜過形成
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〕

red kidney bean (Phaseolus Vulgaris) は欧米でよく摂取される豆類の一つであるが，一方この豆は各種の消化酵素抑制因子やレクチンを含んでいるためラットなどの各種動物の消化吸収機能に影響を及ぼすことが知られている。近年 Jacob らは，さらにこの豆から enterokinase inhibitor（ＥＫＩと略）を分離し，これは分子量6万の糖蛋白であり，chymotrypsin や trypsin を抑制せず，enterokinase を抑制することを示した。enterokinase（ＥＫと略）は小腸内での蛋白消化過程の第一段階を調節する重要な蛋白分解酵素であり，congenital enterokinase deficiency では蛋白消化吸収障害のために低蛋白血症や発育不良をおこすことが知られている。今回我々はこのＥＫＩを6日間ラットに経口投与して主に小腸の形態的および生化学的変化を検討した。

〔方　法〕

ラットは Sprague－Dawley 種の離乳期雄性ラットを用いた。red kidney bean（ＲＫＢと略）からのＥＫＩの精製は，Jacob らの方法に従って行なった。得られたＥＫＩはＳＤＳ－ＰＡＧＥで single band を示した。

精製したＥＫＩを6日間ラットに与えて，普通食を与えた対照ラットと比較検討した。まず摂食量，摂水量，体重を連日測定した。6日後に断頭後に小腸，膵臓，肝臓を取り出した。それぞれ重量を測定し，膵臓では amylase，trypsinogen，lipase を測定した。小腸は全長を計測し幽門部から30cm毎に切断した。近位部30cmをＳ１，次の30cmをＳ２，残りの遠位部をＳ３とした。各部について全重量と粘膜重量を計量し，蛋白，ＤＮＡ，ＬＤＨ，sucrase，ＥＫ，ＬＡＰの総量あるいは総活性を測定した。さらに

腸液を含めて小腸内容物を各部毎に集め，それぞれのＥＫ，trypsin，chymotrypsin，elastase の総活性を測定した。またＳ１とＳ３の近位１㎝について組織標本を作成して mucosal thickness，villous height，crypt depth，villi／crypt 比を計測した。

〔結　　果〕

完全に精製したＥＫＩを0.06％含んだ食餌を与えたラットでは，対照ラットに較べて小腸近位部の蛋白，ＤＮＡ，ＬＤＨの含有量が増加していた。しかし sucrase，ＥＫ，ＬＡＰの総活性は低下していた。次に不完全精製（精製度60％）のＥＫＩを0.1％含んだ食餌を与えたラットで同様の検討を行なった。ＥＫＩ投与ラットでは対照ラットに較べて摂食量，摂水量，体重増加が低下していた。しかし，ＥＫＩ投与ラットの小腸は対照ラットに較べて有意に長く，Ｓ１とＳ２において全重量，粘膜重量，蛋白，ＤＮＡ，ＬＤＨが増加していた。一方，ＥＫはＳ１－Ｓ３において低下，sucrase はＳ１とＳ２において低下，ＬＡＰは不変であった。小腸内容物の酵素活性は，ＥＫが近位部（Ｓ１），遠位部（Ｓ２＋Ｓ３）とも低下していたが，trypsin，chymotrypsin，elastase は両群間に差がなかった。組織学的にはＳ１で mucosal thickness の増加，villous height の減少，crypt depth の増加，villi／crypt 比の低下が認められ，Ｓ３ではvilli／crypt 比の低下のみが認められた。最後にオートクレーブで加熱処理した不完全精製ＥＫＩを0.1％含んだ食餌をラットに与えたが，いずれのパラメーターにも変化がなかった。

〔総　　括〕

ＲＫＢから特異的なＥＫＩを精製した。まず完全に精製したＥＫＩを離乳期雄性ラットに与えたところ近位小腸の蛋白，ＤＮＡ，ＬＤＨの含有量が増加した。しかしＥＫ，sucrase，ＬＡＰの総活性は低下した。次に不完全精製のＥＫＩを与えたラットでは，小腸内容物の trypsin，chymotrypsin，elastase 活性に変化はなかった。また villous height の低下，crypt depth の増加，villi／crypt 比の低下が認められた。即ち，ＥＫＩによって生じた小腸粘膜過形成は，小腸内の pancreatic protease 活性が低下していなかったことから，小腸粘膜蛋白の turnover が低下したために生じたとは考えられなかった。むしろ小腸粘膜の二糖類分解酵素の低下，crypt depth の増加から示唆されるようにＥＫＩは小腸粘膜の幼若な上皮細胞の増殖を促進し，その結果，小腸粘膜の過形成をおこす可能性が考えられた。

論文の審査結果の要旨

Enterokinase は腸管内蛋白消化を支配する重要な酵素である。本研究では red kidney bean から Jacob らの方法によって精製した特異的な enterokinase inhibitor（ＥＫＩ）を初めてラットに投与して小腸に及ぼす影響を検討している。すなわち離乳期雄性ラットにＥＫＩを６日間経口的に投与してみたところ，近位小腸粘膜において蛋白，ＤＮＡ，ＬＤＨ総含有量の増加をみたが，一方膜消化酵素である enterokinase，sucrase，leucine aminopeptidase の総活性は著明に低下していた。形態学的には主に crypt hyperplasia による mucosal hyperplasia が示された。以上のように本研究では red kidney bean に含まれるＥＫＩがラットにおいて小腸粘膜の hyperplasia を生じることを初めて確認した。またそのメカ

ニズムとして腸管内の膵臓由来蛋白消化酵素の低下による小腸粘膜蛋白のターンオーバー減少によるものとは考えにくく，むしろＥＫＩの直接作用によってcrypt hyperplasiaが生じ，その結果mucosal hyperplasiaが生じることが考えられた。

本研究はred kidney beanのＥＫＩがラットの小腸のhyperplasiaをおこすことを初めて確認したものであり，学位論文に価するものと考える。