

Title	ラット腎臓, 小腸におけるヒスタミン-N-メチル基転移酵素 (HMT) の免疫組織化学と, その生理的役割の検討
Author(s)	藪本, 雅己
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37944
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	やぶもとまさみ
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 10157 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 生理系専攻
学位論文名	ラット腎臓, 小腸におけるヒスタミン-N-メチル基転移酵素 (HMT) の免疫組織化学と, その生理的役割の検討
論文審査委員	(主査) 教授 和田 博 (副査) 教授 田川 邦夫 教授 木下タロウ

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

HMT は、哺乳動物においてヒスタミン代謝に重要な役割を持つ酵素である。しかも、その局在は、動物種および組織間で大きく異なっている。ラットでは、特に腎臓、小腸、及び脳で、HMT の高い活性が局在していると考えられている。ところが、酵素タンパクの存在量が少なく、抗体が十分に得られないために、組織化学的検討が遅れている。最近、我々の教室では cDNA より HMT の一次構造を決定した。そこで、その情報を基に、部分ペプチドを数種化学合成した。また、ラット肝臓及びマウス肝臓より HMT を精製し、これらの合成ペプチドに対する抗体が HMT を認識することを確認した後、その抗体を用いて、免疫組織化学的方法によりラット腎臓、小腸、脳及び肝臓での分布を検討した。また、生成物である、N-メチルヒスタミンに対するハプテン抗体も作成し、組織化学的検討の裏付けとした。(方法ならびに成績)

HMT 部分ペプチドをペプチド自動合成機を用いて化学合成した。合成したペプチドを逆相 HPLC で精製したものを、カルボジイミド法でウシサイログロブリンと縮合させ、これを抗原として、ポリクロナール抗体を得た。この抗体を、イムノアフィニティカラムを利用して、HMT ペプチド特異抗体を精製した。また、この抗体は、ラット腎臓及びマウス肝臓より精製した HMT を使用したウエスタンブロッティングで HMT との反応性を確認した。

また、メチルヒスタミンとウシサイログロブリンを、上記同様の条件で、カルボジイミドで縮合させたものを抗原として、抗メチルヒスタミン抗体を作成した。この抗体をアフィニティクロマトにより精製することでヒスタミンに反応せずメチルヒスタミンのみに反応する分画を得た。これらの抗体を用い

て、蛍光免疫組織化学を行なった結果、ラットでは、腎臓において、近位尿細管のみが、小腸では、絨毛上皮が、陽性反応を示した。すなわち、HMT は、腎臓において、ヒスタミンをメチル化することで、より効率的に排泄させ、また、小腸において外来性のヒスタミンをメチル化して不活性化させていると推察される。脳組織においてもその存在は確定したが詳細は目下検討中である。

(総括)

抗ペプチド抗体は、大量に作れ、そして種々な方法で、精製し、抗体価を高めることができるなど、多くの有利な点を持っている。このような抗体の開発結果、ラット腎臓、小腸における HMT の局在と生理的役割を考察出来た。また、この抗体が、マウスの HMT を認識することから、種々の抗 HMT - ペプチド抗体を作成することで、異種の哺乳動物における HMT の局在を検討できることも示唆した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒスタミン代謝酵素である、ヒスタミン-N-メチル基転移酵素 (HMT) のラットにおける局在とその生理的役割を明らかにする目的で行なわれたものである。

まず、ラット HMT の一次構造の情報にもとづいて、部分ペプチドを化学合成し、抗 HMT - ペプチド抗体を作成した。そして、免疫組織化学的手法により、腎臓の近位尿細管、小腸の絨毛上皮、脳の神経細胞に HMT が局在することを明らかにした。

さらに HMT 生成物である N-メチルヒスタミンに対するハプテン抗体を作成し、同様の結果を得ることを証明した。

その結果、HMT は、腎臓においてはヒスタミンを効率的に排泄させ、小腸においては、外来性のヒスタミンを不活性化させていることを明らかに出来たといえる。その上、この抗 HMT - ペプチド抗体が、マウスの HMT も認識することを証明したことにより、異種の哺乳動物における HMT の局在をも検討出来ることを明らかにした。

本研究は、哺乳動物におけるヒスタミン代謝酵素の性質とその局在およびその生理的役割を解明する上で、価値ある業績であり、学位論文に値するものである。