

【 84 】

氏名	森 下 玲 児 もり した れい じ
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第371号
学位授与の日付	昭和43年11月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	<b>Studies on Human Gastric Intrinsic Factor</b> (人胃液内因子に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 脇坂行一 教授 高安正夫 教授 深瀬政市

論文内容の要旨

著者は放射性ビタミン $B_{12}$  ( $B_{12}$ ) の結合能を指標として、正常人胃液内因子の分離精製を試みた。正常人胃液を透析後、凍結乾燥し、 $B_{12}$  を添加した後、SephadexG-100, DEAE-cellulose, SephadexG-50 で chromatography を行ない、 $B_{12}$  と結合する蛋白の peak を集め、精製の各段階により、それぞれ Fraction I・II・III と名づけた。精製内因子である Fraction II・III は超遠沈法で単一の peak を示し、その沈降係数はそれぞれ 10.1S, 10.5S で、これらの値から概算した人内因子の分子量は 150,000 であった。精製内因子、Fraction II および III は、アミノ酸分析法の成績によれば、glucosamine を含む 16 種類のアミノ酸構成を示す糖蛋白で、この組成は Fraction II と III でほぼ同様の値を示した。アミノ酸分析法による成績から人内因子の最小分子量は約 10,000 と推察される。著者の得た精製内因子は、モルモット反転腸管嚢を用いる in vitro 内因子活性測定法で、確実な内因子活性を示し、また胃全摘患者でのシリング氏試験においても 1.5mg で有効なることを知った。ついで精製内因子と Freund's complete adjuvant を用いて家兎を免疫して抗血清を得、これとあらかじめ  $^{60}\text{Co} \cdot B_{12}$  を添加した後の正常胃液、精製内因子との間で Ouchterlony 法および免疫電気泳動法を行ない、autoradiography で沈降線を識別する方法を用い内因子性物質の検討を行なった。著者の用いた精製法の各段階の進行にともなって、蛋白の沈降線の本数は次第に減少したが、 $^{60}\text{Co} \cdot B_{12}$  放射活性を有する 1 本の沈降線は各段階に共通にみられ、これは内因子に基づくものと考えた。著者の精製した内因子は、モルモット反転腸管嚢を用いる in vitro 内因子活性測定法で、100°C 10 分間の加熱、および pepsin 消化でその活性を失ない、また上記の免疫学的方法を指標とした検索で、pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin の消化により影響をうけ、trypsin ではその影響は著明でない等の性質を有することを知った。著者の得た精製人胃液内因子と半精製豚内因子の間には、autoradiography を併用した免疫学的方法によって交叉反応を認めることはできなかった。悪性貧血以外の histamine 不応性無酸症患者胃液は、in vitro 内因子活性測定法により、正常胃液に比してやや低いが内因子活性を有し、症候性巨赤芽球症を呈した盲係蹄症候群患者胃液も、その内因子活性を有することを有らかにした。

これに反し、悪性貧血患者胃液は上記のモルモット反転腸管嚢法および免疫学的方法で内因活性を示さず、むしろモルモット反転腸管嚢法では、嚢への  $B_{12}$  摂取を抑制する傾向があることを知った。この事実は悪性貧血患者胃液には、非内因子性のビタミン  $B_{12}$  結合物質が多量に存在するためか、或いは何らかの  $B_{12}$  摂取抑制物質が存在する可能性があることを示唆し、興味ある知見と考える。つぎに内因子様物質の腸管外分布を知る目的で、精製人内因子に対する家兎抗血清を用いる沈降反応と autoradiography との併用法によって、人より得た唾液、血清、胆汁、肝 homogenate を検索したが、これらの体液、臓器内には内因子様物質は確認し得なかった。

以上、著者は人正常胃液を用いて  $B_{12}$  結合能を指標として、内因子物質の精製を行ない、得られた Fraction II および III が精製内因子であることを生物学的検定法、免疫学的方法によって確認した。一方、悪性貧血胃液には内因子活性をみず、むしろ  $B_{12}$  の腸管吸収を抑制する物質の存在する可能性のあることを知った。さらに著者の得た精製内因子を用いた免疫学的方法と、autoradiography との併用によって得た内因子物質に関する諸知見、ならびに人精製内因子と豚内因子との間に交叉反応の存在しない事実等は、内因子研究に有意の資料を加えたものとする。

#### 論文審査の結果の要旨

著者はビタミン  $B_{12}$  ( $B_{12}$ ) の消化管よりの吸収に重要な役割を演ずる人胃液内因子の分離精製を試み、その性状を明らかにする目的をもって本研究を行なった。正常人胃液について、放射性  $B_{12}$  に対する結合能を指標として、Sephadex G—100, DEAE Cellulose, Sephadex G—50 による Chromatography を行ない、精製内因子として Fraction II, III を得、アミノ酸分析の結果、このものは Glucosamine を含む 16 種のアミノ酸構成を示す糖蛋白で、最小分子量は約 10,000 と推定した。なお精製物の内因子活性はモルモット反転腸管嚢を用いる in vitro の内因子活性測定法および胃全摘患者におけるシリング試験による  $B_{12}$  吸収試験で確認した。またこの精製内因子は  $100^{\circ}\text{C}$  10 分間の加熱、Pepsin 消化でその活性を失ない、 $\alpha$ -Chymotrypsin 消化により影響を受けるが、Trypsin では著しい影響を受けないことを認めた。さらに家兎を用いて作成した抗精製人胃液内因子血清により、人胃液内因子と半精製豚内因子の間には免疫学的交叉反応がないこと、悪性貧血胃液には内因子のないこと、人の唾液、血清、胆汁、肝 Homogenate には内因子様物質の認められないことを明らかにした。本研究は人胃液内因子を精製し、その性状を明らかにしたもので、内因子の研究に有益な資料を加えるものであり、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。