腸液内のリパーゼ賦活物質に就いて

日本医科大学行徳内科 磯 源 也

ON THE ACTIVATOR OF LIPASE IN THE ENTRIC JUICE

By Motoya Iso

Department of Internal Medicine, Nippon Medical School, Tokyo.

(Prof. K. Gytoku)

(1)

膵リパーゼ及び精製せる胃リパーゼ等は腸液の少量添加によりて甚だしく賦活され強力となる事は行徳・松原¹⁾及び行徳氏²⁾によりて発見され其間に存する微妙なる現象、或は變化についても可なり詳細に報ぜられている。しかしながら賦活現象の本態は勿論、腸液内に存する賦活物質は果して如何なるものか等については全く知られる所がない。吾人はこの腸液内の賦活物質の本態について知らんと努めたのであるが、其の業は容易ならず、茲では、その性質について知り得た1, 2の点について報告し度い。

(2)

腸液によつて賦活されるリパーゼは今の所膵及び胃のものに限る様であるが、後者はそれを精製するか、或は多少の處置を加える必要がある。それで自分は便宜のため全部犬の膵リパーゼを使用した。即ち Pawlowの恒久性膵瘻を作つて隨時採取した膵液を使用し、又腸液は犬に Thiry-Vellaの腸瘻を造設して他の消化液を混ぜざる腸液を用いた。リパーゼの定量には以前から本教室で使用して居るトリブチリンを用いての Tropp-pipette 法によつた。

(3)

腸液によるリパーゼの賦活作用には普通兩液を水で稀釋したものを用いて測定するが、行徳²⁾教授は兩液を混じて賦活させる間を極めて弱い酸性に保つ方が最も強力に賦活される事を實驗しておられる。然しそれは單に弱酸性、中性及び弱アルカリ性の數段に區別して測定しただけであるので、自分はこれ等の混合液をpH= 5.5~ 8.2位の間に分ちて賦活させ、大抵1~2時間後に全く和し、愈ゝリパーゼの作用力を測定する時は勿論、

pH= 7.6位の磷酸 Puffer 液を加えて定量を行う事は普通一般の通りに行なつた。

今次に實例について説明して見よう。適宜に稀釋した膵リパーゼ液 100ccを5等分し其のおののを第1表第1例ではpH=5.54……7.92に保ち、これ等に約3倍に稀めた腸液 0.4ccづゝを加えて2時間室温にて賦活せしめる。しかる後何れもN/4 アンモニア液又は醋酸液にて中和し此の5本の酵素液について比較測定した。しかして賦活する前には何れも737のリパーゼが含有されていたが2時間の賦活後はpH=6.45にては5149となり又pH=7.02にては3946となり其他の酸度にては何れも遙かに弱いことがわかる。數回の實驗を繰返して見ればpH= 6.4~ 6.6位に保つた場合が最も強く賦活されることを知つた。少なくとも中性を境界線として觀察すればアルカリ性の側よりも酸性の側において遙かに強く賦活されることは何れの實驗例においても間違いないき實事である。

第1表 液の酸度による賦活度の相違を示す

	賦活液の pH	リパーゼ作用力	
		賦活前	賦活後
第1例	5.54	737	3625
	6.45	"	5149
	7.02	"	3946
	7.41	"	2414
	7.92	"	1323
第2例	5.60	524	4988
	6.54	"	7233
	7.05	"	5044
	7.55	"	3940
	8.08	"	2257

(4)

腸液を水を以て2~3倍に稀釋し之にカオリンの適宜量を加うればリパーゼを賦活する物質はこれに吸着される事を知つたが、此の兩者の量的關係によりて吸着される度合に大小あるは勿論、腸液の濃厚なるものと見掛上でも稀薄なるもの間にも、亦多少の相違あるは當然である。多くの場合腸液量(cc)と同じ位のカオリン量(g)とを加えて混和すれば大抵大部分の賦活物質は吸着されるが、それより少量のカオリンを用いた場合には吸着不十分で尙、液中にも可成りの量が残留する場合が多い。即ち假に5ccの腸液に5gのカオリンを混和したる後十分遠心沈澱すれば其の上清中には賦活物質を大量には証明されないが、3.5g位のカオリンを加えた場合には其の上清液には可なり強力な賦活現象を認める事が出来る。又、反對に7g位のカオリンを加えた際の上清中には殆ど全く賦活物質を証明出来ない位である。しかし腸液には賦活物質を大量に証明する場合と極めて少量含有する場合とがあるので、此の量的關係は必ずしも記載した通りには行かない。

カオリンに吸着させた此の賦活物質はN/40アンモニア液を加えてよく混合し、後に遠心沈澱すれば再び取り出せるものでこれを同じくN/40醋酸液で中和し、これを腓リパーゼと合わせれば腸液の原液同様、著明な賦活現象を証明するものである(實數は省略す)。トリブシノーゲンを賦活する腸活素と吾人が証明している此のリパーゼの賦活物質とは極めて類似の性質を有しておるので最初は兩者同一物質ではないかと思つたが必ずしも左様でもない様である。

田仲氏¹⁾は熱に對する抵抗の大小によつて兩者を區別し80°C30分加温すれば腸活素は其の作用を殆ど消失するに反し、リパーゼを賦活するものは尙、残留して其の作用を現わしているが、此の吸着現象から見ても兩者間に相當の相違を認める様である。其の1例を擧ぐれば腸液3ccにカオリン2gの割に加うれば(實際は少し稀釋して試験す)リパーゼを賦活する物質の大部分はこれに吸着されるが、トリブシンの際の腸活素は殆ど大部分が、尙液中に残つて吸着される部分は極めて少

ない様である。此の吸着されるものの量的關係から兩者を別物なりと云い得るか否かは多少疑問の余地もあるが、しかし此の實驗から見ても兩者同一物質なりとは考え難い様に思われる。

斯くの如く腸液内のリパーゼ Aktivator をカオリンに吸着せしめ、しかる後、再び稀きアンモニア液にて分離取り出したものは可なりに純粹になれる精製品と考えてよからう。何となればかの汚穢なる腸液からカオリンが吸着する物質は或る一部分のものに限らるべく尙種々なるものは腸液内に残るであらう。而して更に此のカオリンから稀きアンモニア液を以て浸出する時には多少残留して浸出されざるものが残る譯だから此の方法で得たる Aktivator は既に相當精製されたものと推定する事が出来よう。此の一部精製された品を以て賦活させれば次いで起るリパーゼの急速なる破壊減弱作用が無くなるのではないかと想像したが、其の傾向は見られない様である。

(5)

既に行徳教授の報告にもある様に腓リパーゼの陳旧なものでは腸液添加によつても作用増進を見る事が出来ない。それが如何なる理由によるものか不明であるが、リパーゼより何か觸手様のものが出ていてこれが腸液内にある Aktivator と結合する様な關係であるものか、而してこれが陳旧となると共に此の所謂觸手が結合する能力を失うか、又は觸手そのものが脱落でもするものか、兎に角、此の關係は極めて嚴正である。全く同様の關係は腓液中のトリブシノーゲンを腸液を以て賦活する際にも經驗する事が出来る。而してこれは腓液の陳旧なるものに限らず腸液が陳旧なれば腓液は新鮮であつても、失張り賦活現象は証明する事が出来ない。これに似た現象は胆汁を以て腓リパーゼを賦活する際にも亦見る事が出来る。

自分は此の腸液を以てリパーゼ及びトリブシノーゲンを賦活させる事實から此の兩酵素の Aktivator が同一物であるとか、或は異なるものであるとか云う確証がつかないものかと考えて見た。そしていろいろ實驗を重ねて見たが室温25~31°C

位の晩夏の候に脾液を室温に2日以上放置しておけば腸液は新鮮なものをを用いてもトリプシンを賦活する能力が失われるに反し、リパーゼを賦活する能力は尙よく残っているのを知った。反對に腸液を同様室温に保存して陳旧ならしめれば脾液は新鮮なものをを用いても、矢張り賦活現象は見られなくなるものであるが、これもリパーゼの賦活作用が後まで残っておるものである。即ち脾リパーゼも腸液内の Aktivator もトリプシンに對するものよりもリパーゼに對するものが抵抗力が強いと云うか保存し得る期間が長いと云う事が出來よう。これも兩者おのおの異なる物質であると云えるか否か遽かに確言し難いが、しかし兩者同一物質であるとは少し云い難い様である。

(6)

腸液中の賦活物質の性質については吾人の上記せる1, 2の検査の外に田仲博士³⁾の研究がある位で未だ殆ど知らるゝ所がない。これがカオリンを以て吸着される所を見れば、恐らく蛋白質か或は蛋白質と近い關係にあるものではあるまいか。従つて熱によつて相當程度の損害を蒙るものと考えて差支えあるまい。自分は50~60°C或は70°C位の水浴中にて30~50分加温すればリパーゼの賦活作用が或程度の減弱を蒙るであろうと予想して實驗を繰返したが其の傾は塗り見られなかつた。しかし更に80~90°C或はそれ以上の高温を用うれば最初は賦活現象の減弱が現われる様に思われたが實驗を繰返す中に上記の關係が甚だ不明瞭に現われる事を知った。

今實例を示して説明して見よう。即ち腸液3ccに水を加えて10ccとなしこれにカオリン2gを加えて十分混和したる後、完全に遠心沈澱したものを4分し、1本はその儘とし、他の3本は65°C, 75°C及び85°Cの水浴中におのおの30分間保ち、此の4者について賦活する程度を測定して見た。其の結果は第2表に示す様に1時間後の測定では、加熱しない腸液を用いたものは脾リパーゼを6.4倍に賦活したが、種々なる温度に加熱した他の3つの腸液を加えたものは賦活度が明かに低いので

第2表 加温せる腸液で賦活したリパーゼの作用力

	リパーゼ量	
	賦活後1時間	賦活後2時間
P	538	538
P+D ₆₅	3055	4050
P+D ₇₅	1733	3974
P+D ₈₅	1460	4084
P+D	3450	2063

Dは其のまゝの腸液

D₆₅は65°に加温した腸液

Pは脾液

恐らく腸液が非活性になつた當然の結果だと思つた。しかし3時間後に再び測定した結果は表の如く加温した腸液を加えたものは何れも1時間値よりも却つて大となつてゐる。生の腸液を其のまゝ加えたものは當然減弱している。最初は何の意味か分らないで實驗の誤りかとも思つたが、同様の實驗を繰返せば多少の例外はあるにもせよ大体類似の成績を得た。又賦活時間を10時間も15時間も取つても普通の如く酵素力の減弱を余り來たさない。即ち腸液を添加してリパーゼを賦活する際には腸液の性質如何によつて賦活度も、又其の時間的關係も一定してはいないが初め1~2時間以内には數倍乃至數十倍に増強されるが其後は急速に破壊されて作用が減弱されるので、一旦賦活されたリパーゼ液を以てしては定量法を繰返して定まる値を得ることは不可能だと云う事は、幾度も經驗もし記載もしている所であるが、しかし表記の様な成績が事實とすればこれを説明し得る研究を積まねばならない。それで此の種の實驗を繰返し行なつて見たが、腸液を90°C前後の水浴にて30分間加温すれば、加温せざる正常の腸液よりも初めは脾リパーゼを賦活する能力が弱い、混合して數時間経つと共に益々作用力高まり減弱する事がない。これに反し普通の腸液を用いて賦活した際には、兩液を混合して1~2時を経ればリパーゼ作用力は最高に達し、其後は急速に破壊されて作用力急減する事は既に繰返し記載した處である。更に一例を擧げて説明を加えてみよう。

腸液を水にて約3倍半に稀釋し、これを2分し半分はその儘とし（Ⅰ）他の半分は89°Cに30分間加温す（Ⅱ）。又脾液を85倍にうすめ上記2種の腸液を以て賦活作用の程度を檢査した。その成績は第3表に掲げた様に脾液1ccのリパーゼ量は293單位で翌日まで變る所がないのは當然である。これに普通の腸液を加えて賦活したものは2時間後において、2482單位と云う最高量を示すが、既に3時間半後においては1635單位に減少し翌日は著しく弱まり516單位となつてゐる。これに反し89°Cに加温した腸液を用いて賦活した場合は1時間後には988單位となり、明かに賦活されはするが、加温されざる腸液を用いた場合よりも甚だしく微弱である。しかし3時間以後になれば普通の腸液を使用したものでは漸次に、而も急速に、酵素の破壊を証明するが、加温せる腸液を以て賦活したものは混合後3時間半にして2896單位となり、其のまゝ持續して一晝夜位の間なれば酵素の破壊を來たす事がない。

第3表 加熱及び非加熱の腸液にて
リパーゼを賦活した場合

	リパーゼ量			
	1時間	2時間	3時間半	22時間
脾液1.0cc	293	293	293	285
1.0+腸液Ⅰ	1680	2482	1635	510
1.0+腸液Ⅱ	988	1247	2896	2840

以上2つの實驗成績を表示したが實に驚くべき事實と云わねばならない。而して腸液を加温する温度は85°Cと89°Cのものについて實驗したが、92~3°Cの高温でも多少の相違は認められるにしても大体は類似の成績を得るものである。90°C前後と云えば、腸液を30分も加温すれば蛋白質の凝固する結果であろうが、明かに白色の混濁を生ずるもので、従つて腸液に相當の變質を來たす事は想像に難くない。自分の最初の予想は此の加温によつてリパーゼの賦活作用は當然減弱するであろうと思つた。若し6~70°Cの加温で作用減弱が認められなければ更に高温にては何時かは作用減

弱する点があるに相違ないと思つた。而して實驗の結果も脾液に此の加温した腸液を加えた後の初めの項は余り賦活現象は現われないので、吾人の予想が的中したのであらうと思つた。しかし混合後10時間以上を経て再び測定したが、初めに定量したものよりも遙かに強力な作用力を証明したので、更に實驗を繰返し此の事實に誤りなき事を知つたので其の意義を考察するに至つたものである。

腸液によるリパーゼの賦活現象が如何なる機序によつて惹起されるかは未だ明かではない。しかし一面リパーゼが賦活強力となると共に他面、これが急速に破壊減弱する現象も起こつてゐるもので此の兩者は離るべからざる關係にあるものと考えていた。しかし今度の實驗成績から考えて見れば腸液内にはリパーゼを賦活強力となす物質があると同時に他面、賦活されたリパーゼを破壊減弱せしめる他の物質をも含有しているものの様に思われる。即ちこれ迄腸液による脾リパーゼの賦活現象として見て來たものは腸液内の2つの異なる物質によつて惹起されていた事を知る事が出來た。而して其の前者、即ち賦活強力となす物質は加温によつて其の作用を幾分緩慢に現わす事は認められるが、しかし余り強くは障害されない様であるが、後者即ちリパーゼを破壊減弱せしめる物質は此の加温によりて強く害されるため、一旦強まつたリパーゼも其後容易に減弱しないものであらう。

此の事實は極めて重要な發見で從來は腸液を以て一度賦活すれば最初は強力となるが、其後は急速に作用力減弱して止まる所が多いので實驗を繰返し行なつて、確實を期する事も出來ないし、或は此のリパーゼ液を用いて種々なる比較研究も出來なかつたが、此の試験の様に腸液を90°C前後に加温して賦活したるものは他の消化酵素液と同様、これを原液として貯蔵して繰返し實驗を重ね得られるに至つたので研究者に非常な便益を與えるに至つた譯である。

(7) 結 論

(1) 腸液を以てリパーゼを賦活するには其のメジウムを $\text{pH} = 6.5$ 前後の弱酸性に保ちて行えば最も急速に最高値に達するものである。

(2) トリプシノーゲンを賦活する腸活素とリパーゼを賦活する腸液内の物質とは極めて類似して區別し難いが、カオリンを以て吸着する試験ではその程度に大小を認められる様である。即ちリパーゼの賦活物質は比較的容易に吸着されるに反し腸活素は吸着される程度が多少小である。

(3) 2～3日室温に保てる脾液を腸液を以て賦活する際トリプシンは尙、賦活されるがリパーゼは既に賦活されない。反對に古い腸液を用いて賦活現象を検する際にも同様にリパーゼの方が賦活され難い。即ち兩酵素の Aktivatorは同一物ではないように思われる。

(4) 腸液を 90°C 前後に加温すれば初めリパーゼを賦活する性質は弱まるが、時間経ちたる後では強力に賦活された結果となつている。且つ普通は其後に見られる作用力の減弱を來たすが、此の場合には減弱を認めない。此事は頗る興味ある發見であつて、著者は從來見ていた腸液内の賦活物質を二つのものから成つていてと考えた。即ち、一は眞の賦活作用を現わすもので熱に強く、他は一旦賦活されたリパーゼを破壊減弱せしめるもので、 90°C 前後の熱で大体無力となるものであろう。

主要文献

- 1) 行徳, 松原: 東京醫學會雜誌, 第42卷, 9號(昭和3年)。
- 2) 行徳: 日本醫大稿, 第2卷, 第6號(昭和6年)。
- 3) 田仲: 日本內科學會雜誌, 第42卷, 第3號(昭和28年)。

[受稿・昭和30年9月8日]