琉球大学学術リポジトリ

[原著]ヒト唾液腺組織における遊離アミノ酸分画について

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 琉球大学保健学部 公開日: 2014-07-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 野田, 寛, 古謝, 将宏, 新垣, 義孝, 又吉, 重光, 源河, 朝博, 饒波, 正吉, 赤松, 隆, Noda, Yutaka, Koja, Masahiro, Arakaki, Yoshitaka, Matayoshi, Shigemitsu, Genka, Tomohiro, Noha, Seikichi, Akamatsu, Takashi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016383

琉大保医誌2(1): 43～49, 1979.

ヒト唾液腺組織における遊離アミノ酸分画について

琉球大学保健学部附属病院耳鼻咽喉科
野田　寛　古謝将宏　新垣義孝
又吉重光　源河朝博　饒波正吉

琉球大学保健学部成人保健学教室
赤松　隆

はじめに

唾液腺は，我々臨床家にとっては境界領域に存在する臓器組織で，その疾患を扱う診療科は数科に及んでいるものゝ，しかし逆に数診療科にまたがっているだけに，これを専門とする研究者は少なく，したがってその生理的機能ならびに病態についての解明が充分になされていない臓器組織の一つであることも事実である。

著者らは，最近これら唾液腺組織において生理的ならびに病的動態を検索する一助として，それら組織内の遊離アミノ酸分画を検討する機会を得たので報告する。

唾液腺に関する遊離アミノ酸分析は，分泌された口腔内の混合唾液について[1)～8)]，また耳下腺および顎下腺より分泌された個々の唾液について[9)～14)]はなされているが，組織内の遊離アミノ酸分画の分析については，著者らの猟捗し得た唾液腺に関する文献1万余件の範囲内では未だ見当らない。

実験材料

実験材料は，Fig. 1 に示すごとく，昭和50年5月より昭和51年8月までに琉球大学保健学部附属病院耳鼻咽喉科において，頭頸部悪性腫瘍の根治的頸部廓清手術の際摘出された顎下腺11例および耳下腺4例で，肉眼的に悪性腫瘍の浸潤のない，また炎症所見などない，正常と思われる部分を実験に供した。

また，手術的に摘出された慢性顎下腺炎組織6例および耳下腺混合腫瘍組織1例についても，以下のアミノ酸分析を行った。

実験方法

実験方法は，摘出唾液腺組織を可及的速かに秤量細断し，9倍容の0.5％ピクリン酸溶液　て除蛋白しながら，teflon homogenizerにてhomogenate し，上清液を樹脂Dowex C1. 1×8, 200－400 meshに通し，evaporator にて濃縮，PH＝2.2のクエン酸緩衝液を加え，Fig. 2のごとく，全自動アミノ酸分析器JLC－6AH にて，必須アミノ酸7種，すなわち Isoleucine（以下 Ile. と略す），Leucine（Leu.），Lysine（Lys.），Methionine（Met.），Phenylalanine（Phe.），Threonine（Thr.），Valine（Val.），さらに必須アミノ酸10種，すなわち，Alanine（以下 Ala. と略す），Glycine（Gly.），Proline（Pro.），Glutamic acid（Glu.），Serine（Ser.），Tyrosine（Tyr.），Aspartic acid（Asp.），Cystine（Cys.），Histidine（His.），Arginine（Arg.）の17種を分析測定した。

なお，各遊離アミノ酸分画の含有量は，新鮮組織重量100gr. あたりの含有量mg，すなわちmg％にて表わした。

Fig. 1. The cases in which the individual free amino acid levels of the salivary gland tissue were analysed

1. I.Y. 48M	Parotid and submandibular glands	Tonsilar cancer	Pre-op.	radiation (+)
2. S.T. 58M	Submandibular gland	Maxillary cancer		
3. G.Y. 60M	Parotid and submandibular glands	Pharyngeal cancer	Pre-op.	radiation (+)
4. K.M. 60M	Parotid and submandibular glands	Laryngeal cancer		
5. C.U. 62M	Submandibular gland	Laryngeal cancer	Pre-op	radiation (+)
6. K.M. 64M	Submandibular gland	Laryngeal cancer		
7. Y.G. 67M	Parotid and submandibular glands	Laryngeal cancer		
8. Y.F. 68M	Submandibular gland	Laryngeal cancer	Pre-op.	radiation (+)
9. K.T. 74M	Submandibular gland	Laryngeal cancer		
10. K.T. 74.	Sudmandibular gjand	Laryngeal cancer		
11. S.S. 79M	Submandibular gland	Laryngeal cancer		

Chronic inflammation of submandibular gland

12. A.T. 17M Submandibular gland
13. K.G. 21F Submandibular gland
14. C.F. 43M Submandibular gland
15. S.K. 50M Submandibular gland
16. M.Y. 51F Submandibular gland
17. S.I. 66M Submandibular gland

Mixed tumor of parotid gland

18. S.Y. 24M Parotid gland

Fig. 2. Analysing method of individual amino acids

Analyser : JLC−6AH Automatic ion exchange column chromatographic analyser

Resin : LCR−2, two column method

Buffer : Citrate Buffer, PH=5.28 for basic and 3.25 and 4.25 for neutral and acidic amino acids

Analysing Time : 6 hours

Temperature : 52℃

実験成績ならびに考按

I　唾液腺組織中の遊離必須アミノ酸分画について

唾液腺組織中の遊離必須アミノ酸7種は，それぞれほゞ1～5 mg%の間で存在し，個々に大きなばらつきを示さず，その総量も15～20 mg%の間で存在していた（Table 1）。

まず，正常組織とみなした顎下腺組織11例と耳下腺組織4例の遊離必須アミノ酸7種を，それぞれその平均値で比較してみると，Ile., Leu., Lys., Phe., Val.，の5種は両者間にほゞ同じレベルで存在し，Met. が顎下腺でやゝ少なく，Thr. は耳下腺で低値を示していた。そして遊離必須アミノ酸7種の総和では，顎下腺組織でやゝ高値を示す傾向を示していた。

なお，文献上唾液腺組織内の遊離必須アミノ酸検索の報告は見当らないが，人唾液中については，Kirsch ら[1) 5)] が Ile., Leu., Lys., Phe., Thr. を証明し，Met. はわずかであったとし，Goldberg ら[3)] も，Leu., Lys., Met., Phe., Val. を証明している。また Hanson ら[11)] は絶食犬の耳下腺よりの唾液の中に Lys. と Thr. を認め，Ile., Leu., Met., Phe., Val. を認めておらず，蛋白に結合した必須アミノ酸としては，Leu., Lys., Thr., Val. を多く，Ile., Met., Phe. を少量認めている。そして，Lindsay ら[12)13)] は犬の耳下腺および顎下腺よりの唾液のそれぞれについて，^{14}C でラベルした Leu. と Lys. を証明し，Phe. はわずかであったと報告している。

つぎに，慢性顎下腺炎組織（6例）の遊離必須アミノ酸分画をみてみると，正常顎下腺組織のそれらと大差はなく，全般にやゝ多い傾向を示し，その総和でもやゝ多くなる傾向を示していた。また，わずか一例ではあるが，耳下腺混合腫瘍組織では，正常耳下腺組織のそれらに比し，Thr. と Val. の増加，Phe. の軽度低下を認め，その総和では増加傾向を示していた。

II　唾液腺組織中の遊離非必須アミノ酸分画について

唾液腺組織中の遊離非必須アミノ酸10種は，遊離必須アミノ酸とは異なり，0.10～40 mg% の間で存在し，そのばらつきは非常に大きく，Glu. と Ala. が10～40 mg% と多く，Asp. と Gly. が6～9 mg% とこれにつぎ，Tyr., Ser., Arg., Pro., His. が2～4 mg% で，Cys. が少なく，その総量も60～90 mg% で存在していた（Table 2）。

正常の耳下腺組織と顎下腺組織の遊離非必須アミノ酸分画は，その機能が異なるためか，Glu. が 38.89 ± 10.64 mg% と 25.00 ± 7.19 mg%，Ala. が 22.50 ± 7.85 mg% と 9.51 ± 5.08 mg% と顎下腺組織に多く，Cys. は 0.13 ± 0.18 mg% と 1.00 ± 0.61 mg% と耳下腺組織に多く，それぞれ大差を示したが，Gly., Pro., Ser., Tyr., Asp., His., Arg., の7種は誤差範囲内の変動で，大差はないと判定された。そして，

Table 1. Individual free essential amino acid levels in salivary glands (mg%)

	Submandibular Gland (N=11)	Parotid Gland (N=4)	Chronic Inflammation of Submandibular Gland (N=6)	Mixed Tumor of Parotid Gland (N=1)
Isoleucine	1.18 ± 0.42	1.41 ± 0.40	1.53 ± 0.55	1.45
Leucine	2.69 ± 1.01	2.59 ± 0.41	3.58 ± 1.26	3.33
Lysine	4.38 ± 1.73	4.12 ± 0.57	5.02 ± 1.60	4.13
Methionine	0.88 ± 0.38	1.65 ± 0.89	1.06 ± 0.36	0.69
Phenylalanine	2.06 ± 0.96	1.77 ± 0.34	2.24 ± 0.59	1.60
Threonine	3.89 ± 1.05	1.67 ± 0.37	3.88 ± 1.43	6.70
Valine	2.28 ± 0.60	1.71 ± 0.23	2.99 ± 0.98	3.68
Total	17.35 ± 4.71	14.92 ± 1.77	20.30 ± 4.13	21.57

これら遊離非必須アミノ酸の総和では，顎下腺組織に 91.74 ± 20.84 mg% と多く，耳下腺組織に 61.45 ± 16.75 mg% と少なく，明らかな差があることが判明した。

なお，文献上唾液腺組織中の遊離非必須アミノ酸検索の報告は見当らないが，人唾液中については，Kirschら[1]が，Gly.，Pro.，Glu.，Ser.，Tyr.，Cys.，His.，Arg. を証明，とくにGlu.，Arg.，Gly. を多く認め，Hawkinsら[10]は人耳下腺唾液中にTyr. を証明し，Hansonら[11] は絶食犬の耳下腺唾液中にAla.，Gly.，Glu.，Ser.，Asp.，His. を認め，また Arg.，Pro.，Cys. を少量認め，Tyr. を認めておらず，蛋白質に結合した非必須アミノ酸としてAla.，Gly.，Pro.，Glu.，Ser.，Tyr.，Asp.，Arg. を認め，Cys. と His. がやゝ少なかったとしている。また，Lindsayら[12][13]も犬の耳下腺および顎下腺よりの唾液のそれぞれについて，^{14}Cでラベルした Ala.，Gly.，Pro.，Glu.，Asp.，His.，Arg. を証明している。

つぎに，慢性顎下腺炎組織（6例）の遊離非必須アミノ酸分画については，正常顎下腺組織のそれらに較べて，Ala. と Pro が少なくなっており，Tyr. もやゝ低値を示し，また Cys. がやゝ高値を示していた。そして，遊離非必須アミノ酸の総和では，やゝ低値傾向を示していた。また，耳下腺混合腫瘍では正常耳下腺組織に較べ，Ala.，Gly.，Ser. が多く，Pro.，Asp.，Cys. が少なくなっており，とくに Ala. の増加と Asp. の減少が顕著であった。そして，これら遊離非必須アミノ酸の総和では著変を示さなかった。

Ⅲ 唾液腺組織における遊離アミノ酸の代謝経路よりの分析

唾液腺組織における遊離アミノ酸をその代謝経路により glucogenic な経路をとるアミノ酸，ketogenic な経路をとるアミノ酸，およびその他のアミノ酸に分類して検討してみた（Table 3）。

すなわち，アミノ酸の脱アミノ化によってできてくるケト酸の代謝には二つの経路があり，一つは炭水化物の代謝物による glucogenic な経路で，もう一つはケトン体を生成する ketogenic な経路である。glucogenic な経路をとるアミノ酸は，アミノ酸のうちでピルビン酸やトリカルボン酸サイクルに入ることのできるもの，またグルコースやグリコーゲンにも転換できるもので，Alanine，Glycine，Proline，Valine，Arginine，Glutamic acid，Cystine，Aspartic acid，Threonine，Serine がこの経路をとり，ketogenic な経路をとるアミノ

Table 2. Individual free non-essential amino acid levels in salivary glands (mg%)

	Submandibular Gland (N = 11)	Parotid Gland (N = 4)	Chronic Inflammation of Submandibular Gland (N = 6)	Mixed Tumor of Parotid Gland (N = 1)
Alanine	22.50 ± 7.85	9.51 ± 5.08	13.56 ± 4.27	17.50
Glycine	7.65 ± 3.82	5.98 ± 1.12	9.90 ± 1.08	8.76
Proline	2.11 ± 0.96	1.18 ± 0.69	1.06 ± 0.36	0.64
Glutamic acid	38.89 ± 10.64	25.00 ± 7.19	36.24 ± 9.58	22.98
Serine	3.28 ± 0.66	2.81 ± 1.21	3.51 ± 0.78	4.04
Tyrosine	3.63 ± 1.62	3.44 ± 1.80	2.67 ± 0.56	3.82
Aspartic acid	8.72 ± 2.69	7.43 ± 2.40	8.49 ± 2.99	1.77
Cystine	0.13 ± 0.18	1.00 ± 0.61	0.43 ± 0.21	0.40
Histidine	1.92 ± 0.94	2.03 ± 0.87	1.66 ± 0.61	2.59
Arginine	2.91 ± 1.32	3.06 ± 0.73	3.20 ± 1.04	2.61
Total	91.74 ± 20.84	61.45 ± 16.75	80.72 ± 13.81	65.11

酸はアセチル－CoAあるいはアセト酢酸をつくるもので、Leucine, Isoleucine, Phenylalanine, Tyrosine がこの経路をとる[15)～17)]。

そこで，まず正常唾液腺組織におけるこれら代謝経路により分類された遊離アミノ酸グループを検討してみると，glucogenicなアミノ酸は顎下腺組織に多く，耳下腺組織に少なく，明らかな相異を示すのに反し，ketogenic なアミノ酸およびその他のアミノ酸は両唾液腺でほとんど差を示していない。そして，遊離アミノ酸の総量については，glucogenicなアミノ酸量の差がそのまゝ反映して，顎下腺組織に多く，耳下腺組織に少ないことが明らかとなった。

このように，glucogenicなアミノ酸のみに差が認められることは，両唾液腺組織におけるエネルギー代謝に相異があるためではなかろうかと考えられた。

つぎに，慢性顎下腺組織中における遊離アミノ酸の代謝経路による分析では，正常顎下腺組織に較べて，glucogenicなアミノ酸のみがやゝ低下しているのみで，ketogenicなアミノ酸およびその他のアミノ酸に著変を認めず，また遊離アミノ酸総量についても大差を認めていない。したがって，慢性顎下腺では，エネルギー代謝に関連して，アミノ酸が低下してきているのではないかと考えられた。

わずか一例ではあるが，耳下腺混合腫瘍組織においては，glucogenicなアミノ酸がやゝ増量し，ketogenic なアミノ酸およびその他のアミノ酸に著変を認めず，その遊離アミノ酸総量はやゝ増量を示しており，やはりエネルギー代謝に関連して遊離アミノ酸が変動しているように思われた。

以上，唾液腺組織内の遊離アミノ酸分画分析の検討結果をまとめてみると，まず耳下腺と顎下腺とは遊離アミノ酸構成の上からも相異がみられ，個々の相異については今後症例を増して検討されるべきと考えるが，全体的にみて，それら遊離アミノ酸の相異は，エネルギー代謝に関連しての相異と考えられた。また，炎症および腫瘍に関しての組織内遊離アミノ酸の変動についても，やはりエネルギー代謝に関連してのものと推測されたが，わずかな症例での検討結果であるので，今後の検索に待ちたい。

Table 3. Free amino acid levels in salivary glands according to the classification of amino acid metabolic pathways (mg%)

	Amino Acid Metabolic Pathway			Total
	Glucogenic	Ketogenic	Others	
Submandibular Gland (N＝11)	92.35±21.12	9.57±3.51	7.17±2.62	109.09±24.25
Parotid Gland (N＝4)	59.36±14.86	9.21±2.59	7.80±1.98	76.37±18.42
Chronic Inflammation of Submandibular Gland (N＝6)	83.26±14.81	10.02±2.69	7.74±2.14	101.01±16.73
Mixed Tumor of Parotid Gland (N＝1)	69.07	10.20	7.41	86.68

まとめ

唾液腺組織における生理的ならびに病的動態を検討する一助として，頭頸部悪性腫瘍の根治的頸部廓清術時摘出された顎下腺11例および耳下腺4例の正常組織部分，ならびに慢性顎下腺6例および耳下腺混合腫瘍1例について，唾液腺組織内遊離アミノ酸17種を全自動アミノ酸分析器JLC－6AHにて分析測定した。

耳下腺と顎下腺とは，組織内遊離アミノ酸の組成の上からも明らかな相異を示し，これはエネルギー代謝の相異に関連するものと考えられた。

唾液腺の炎症ならびに腫瘍に関しても，組織内エネルギー代謝に関連して遊離アミノ酸が変動していることが推測された。

参考文献

1) Kirsch, E. R. , Kesel, R. G. , O'Donnell, J. F., Wach, E. C.: Amino acids in human saliva. J. Dent. Res. 26, 297－301, 1947.

2) Kesel, R. G., O'Donnell, J. F., Kirsch, E. R., Wach, E. C.: Amino acids and their deaminating system in saliva. Am. J. Orthodont. Oral Surg. 33, 68－79, 1947.

3) Goldberg, H. J. V., Gilda, J. E., Tischhoff, G. J.: Paper partition chromatography; Free amino acids in saliva. J. Dent. Res. 27, 493－496, 1948.

4) Kirsch, E. R., Kesel, R. G., O'Donnell, J. F., Wach, E. C. : Amino acids in saliva of human beings on a low protein diet. J.Dent. Res. 29, 779－783, 1950.

5) Kirsch, E. R., Kesel, R. G., O'Donnell, J. F., Wach, E. C. : Influence of ingestion of single amino acids on the level of free amino acids in human saliva. J. Dent. Res. 32, 57－60, 1953.

6) Rose, G. A., Kerr, A. C. : The amino acids and phosphoethanolamine in salivary gland metabolism. Quart. J. exp. Physiol. 43, 160－168, 1958.

7) Bathistone, G. C., Burnett, G. W. : The free amiho acid composition of human saliva. Arch. oral Biol. 3, 161－170, 1961.

8) Petrovich, Y. A., Podorzroya, R. P. : Discharge of glycine $C^{14}$and methionine S^{35} by salivary glands during conditioned and unconditoned secretion. (Translated from Dokl. Akad. Nauk. S. S. R. 143, 483－490, 1962.) Natl. Sci. Found. 143, 404－406, 1962.

9) Well, P. : Amino acid chromatograms of parotid saliva and of buccal liquid. Riv. ital. Stom. 12, 63－70, 1957.

10) Hawkins, G. R., Zipkin, I., Marshall, L.M.: Determination of uric acid, tyrosine, tryptophan and protein in whole human saliva by ultraviolet absorption spectrophotometry. J. Dent. Res. 42, 1015－1022, 1963,

11) Hanson, R. W., Catanzaro, O. C., Lindsay, R. H. : Secretion of amino acids in dog parotid saliva. Am. J. Physiology 214, 1068－1073, 1968.

12) Lindsay, R. H., Catanzaro, O. L., Hanson, R. W. : Amino acid secretion and metabolism by dog salivary glands. Am. J. Physiology 210, 233－238, 1969.

13) Lindsay, R. H., Catanzaro, O. L., Ueha, T., Hansan, R. W. : Site of amino acid transfer in dog parotid glands. Am. J. Physiloogy 217, 1025－1029, 1969.

14) GJand, R. J. : Amino acid pools in rat parotid gland during epinephrine-stimulated protein synthesis. Biochim. Biophys. Acta 195, 252－254, 1969.

15) Refelson, M. E. Jr., Binkley, S. B. (三浦義彰訳) : Basic Biochemistry (基礎生化学)：アミノ酸とタンパク質代謝 P.207～269, 東京化学同人, 1973.

16) 吉川春寿：生化学；第14章，アミノ酸と蛋白質代謝，P. 192～211，医学書院，1973.

17) Harper, H. A. (三浦義彰監訳)：Review of Rhysiological Chemistry (ハーパー・生化学)：15. タンパク質とアミノ酸代謝. P. 341～396，丸善Co. 1975.

Abstract

An Investigation of the Alterations of the Free Amino Acid Levels in Human Salivary Glands

YUTAKA NODA, MASAHIRO KOJA, YOSHITAKA ARAKAKI, SHIGEMITSU MATAYOSHI, TOMOHIRO GENKA, and SEIKICHI NOHA

Department of Otorhinolaryngology, College of Health Sciences, University of the Ryukyus

TAKASHI AKAMATSU

Department of Adult Health, College of Health Sciences, University of the Ryukyus

In order to evaluate the amino acid metabolism in the salivray glands under physiological and pathological conditions, the seventeen different individual free amino acid levels (Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Threonine, Valine, Alanine, Glycine, Proline, Glutamic acid, Serine, Tyrosine, Aspartic acid, Cystine, Histidine and Arginine) were analysed by the column chromatographic method with automatic amino acid analyser (JLC - 6AH) .

The specimens were obtained from the eleven submandibular glanbs and the four parotid glands which were removed at the radical neck dissection of the malignant tumors in head and neck regions and were not injured macroscopically, the six submandibular glands with a chronic inflammation, and the parotid gland with a mixed tumor.

The results of the present study were summarized as follows :

1. It is considered that the differences of the free amino acid levels in the tissues between submandibular and parotid glands were caused according to the differences of the energy metabolism in the tissues.
2. The differences of the free amino acid levels in the salivary gland tissues with a chronic inflammation and a tumor were also found in the amino acid which are related to the energy metabolism in the tissues.