



# Age-related decrease of urinary excretion of human epidermal growth factor (hEGF)

内橋, 正仁

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1984-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0470

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000470>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	うち 内	はし 橋	まさ 正	ひと 仁	（兵庫県）
学位の種類	医学博士				
学位記番号	医博い第417号				
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当				
学位授与の日付	昭和59年3月31日				
学位論文題目	<b>AGE-RELATED DECREASE OF URINARY EXCRETION OF HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR (hEGF)</b> （加齢によるヒト上皮成長因子（hEGF）尿中排泄の減少）				

審査委員	主査教授	藤田拓男		
	教授	山口延男	教授	岩村昇

### 論文内容の要旨

上皮成長因子 Epidermal growth factor (EGF) は、最初マウス顎下腺より単離された53個のアミノ酸からなるポリペプチドホルモンである。EGF は、各種細胞に対して増殖作用を持つことが知られている。最近生物活性を持つヒト上皮成長因子 (hEGF) が、尿中より単離精製された。また hEGF は、尿中から精製され胃酸分泌抑制効果のある  $\beta$ -ウログασトロンと同一の物質と考えられている。尿中には多量の hEGF が排泄されている（約  $20\mu\text{g/day}$ ）。その濃度はクレアチニン濃度とよく相関することから、クレアチニンで補正した値は hEGF の1日排泄量の有効な指標となると考えられる。hEGF の尿中排泄と年齢による変化を調べるために、正常ヒト102名（年齢20～79歳）の尿中 hEGF 排泄をラジオイムノアッセイ（RIA）を用いて測定した。

#### 方 法

尿は正常人（20～79歳、女性51名男性51名）から採取した。尿は午前中に採取され、RIA まで  $-20^{\circ}\text{C}$  にて保存された。年齢により6群に分けられた。（Ⅰ：20歳代，Ⅱ：30歳代，Ⅲ：40歳代，Ⅳ：50歳代，Ⅴ：60歳代，Ⅵ：70歳代）。各群は12名以上から成った。hEGF の RIA は次のとおり行った。

Cohen と Carpenter による方法にて尿中より分離された hEGF を、標準物質及び標識物質として用いた。Orth と Cohen 博士より供与されたウサギ抗 hEGF 血清を使用した。抗血清と結合した標識ホルモンと、結合しない標識ホルモンの分離には、二抗体法を用いた。標準 hEGF の RIA は3本について行い、検体の RIA は、2本ずつ2つの希釈濃度（5と  $20\mu\ell$ ）について行なっ

た。つまり

- ① 100  $\mu$ l の標準 hEGF または希釈された試料と 200  $\mu$ l の抗 hEGF 家兔血清 (1 : 4000) を 24 時 4℃ でインキュベーション。
- ② 100  $\mu$ l の  $^{125}$ I-hEGF ( $1 \times 10^4$  cpm) を加え、24 時間 4℃ でインキュベーション。
- ③ 100  $\mu$ l の正常家兔血清 (1 : 200) と 100  $\mu$ l の抗家兔山羊血清 (1 : 10) を加えて 1 晩インキュベーション。
- ④ 遠沈 (3,000 rpm  $\times$  20 分) 後上清を吸引し、沈査中に残っている  $^{125}$ I 活性を  $\gamma$  カウンターにて 1 分間測定した。標準曲線よりその活性を求めた。

検体の希釈曲線は、標準 hEGF の曲線と平行し特異的反応と考えられた。尿中のクレアチニンは自動分析器にて測定した。統計学的検討は Student t-検定にて行った。

## 結 果

表 1 に示すように、尿中の hEGF とクレアチニンの濃度は年齢が増えるにしたがって両者とも有意 ( $P < 0.01$ ) に減少した。hEGF の濃度とクレアチニンの濃度とには、有意の相関 ( $P < 0.01$ ) がみられた。図 1 は、尿中 hEGF 排泄量すなわち hEGF 濃度をクレアチニン濃度で補正した値と年齢との関係を示した図である。尿中 hEGF 排泄量もまた年齢が増加するにしたがって、有意 ( $r = -0.548$ ,  $P < 0.01$ ) に減少した。女性の排泄量は男性と比べると有意に多かった (女性  $14.9 \pm 0.9 \mu\text{g/gm creatinine}$ , 平均  $\pm$  標準誤差, 男性  $10.1 \pm 0.6$ )。

## 考 按

尿中 hEGF の排泄が、男性に比べ女性に多かったのは、これまでの他の報告と同じであった。尿中 hEGF 濃度とクレアチニン濃度はともに年齢とともに減少した。さらにクレアチニンで補正した hEGF 濃度もまた加齢とともに減少した。つまり hEGF 排泄量は、年齢が増えるにしたがって減少した。Gregory らはウロガストロ排泄と年齢との間に明らかな相関を認めなかった。彼らと相違については不明である。ひとつの原因は、1 回尿の測定が 24 時間排泄量をかならずしも反映しないということである。しかし尿中の hEGF 排泄には明らかな日内変動がないことや、尿中 hEGF 排泄がクレアチニン排泄とよく相関することから考えにくい。今回検討したクレアチニンで補正した hEGF 濃度は、1 日排泄を反映すると思われる。別の原因としては、彼らの報告が 24 時間排泄を体重で補正したものであるが、今回我々は 1 回尿をクレアチニンで補正したのでその表現方法が異なるためかもしれない。また、使用した抗体の特異性が異なることが原因かもしれない。彼らの抗体は  $\gamma$  ウロガストロンに比べ  $\beta$  ウロガストロンに対して、親和性が少なかった。

今回の結果は、副腎皮質ホルモンの尿中排泄とは対照的であった。副腎ホルモン排泄はクレアチニンで補正すると全年齢でほとんど変化はない。また男性ホルモン女性ホルモンらの性腺ホルモンは、よく知られているように加齢によって急速に減少する。さらにマウス EGF の合成は男性ホルモン依存性で加齢で顎下腺中の合成は減少する。それゆえ加齢による尿中 hEGF の減少は、血中の性腺ホルモンの減少を反映しているかもしれない。しかし、EGF の合成分泌機構はさらに複雑である。マウス EGF の合成は男性ホルモン依存性であるが、血中の EGF 濃度は顎下腺中濃度を反映していない。

さらに最近甲状腺ホルモンや副腎皮質ホルモンもまた顎下腺 EGF に合成に影響することが明らかとなった。加齢による hEGF 排泄減少は、副腎皮質、甲状腺、性腺ホルモンなどの多くの内分泌腺の機能低下に伴うものかもしれない。それゆえ hEGF の合成分泌に多くのホルモンが影響していることが考えられ、さらに検討される必要がある。

#### ま と め

EGF はまずマウス顎下腺から単離され、最近ヒト尿中から分離された。EGF は各種組織に増殖効果を持つが、その生理学的作用は不明である。尿中 EGF 排泄に対する年齢の影響を、RIA を用いて検討した。

尿中 hEGF 排泄は加齢とともに減少した。女性は男性に比べより多く排泄した。これらは、hEGF の合成分泌が加齢によって減少しているためと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

上皮成長因子 (epidermal growth factor) は最初には雄マウス顎下腺から分離精製されたペプチドで 53 個のアミノ酸から成り上皮その他種々の組織の成長を促進する効果が in vivo でも in vivo の培養系でも認められている。人でも尿中に大量の EGF がみとめられ、精製同定されて hEGF としてアミノ酸配列も明きらかになっている。EGF は又消化管ホルモンの一つとして強力な胃酸分泌抑制因子でありガストリンに拮抗して十二指腸から分泌されるウロガストロンと同一物質であるとされる。

EGF の人体において果たしている役割りはまだ不明の点が多いがもしウロガストロンと同一であるとする胃液分泌の抑制を行っていると思われ、又ある種の悪性腫瘍の患者で増加がみとめられていることから、腫瘍の発生や発育にも関連がある可能性がある。

本研究者は人における EGF の生理作用と諸種の疾患における病態生理的な役割りを明きらかにする第一歩としてヒト EGF の精製を行い又 Orth 及び Cohen 博士から提供された抗ヒト EGF 抗体を用いてラジオイムノアッセイを開発し、20 から 79 才の男子 51 人女子 51 例の健康者で腎機能の正常のものから 8 時～10 時の早朝空腹時の尿を採取して hEGF の含量を測定した。尿はそのまゝ 5 及び 20  $\mu$ l を用い二抗体法による hEGF のホモログスをラジオイムノアッセイを行った。

被検者は年齢によって 20 才～29 才の第 I 群、30～39 才の第 II 群、40～49 才の第 III 群、50～59 才の第 IV 群、60～69 才の第 V 群、70～79 才の第 VI 群に分け hEGF とクレアチニンを測定し、その比率を測定した。

hEGF の濃度は第 I 群の  $32.4 \pm 3.0$  ng/ml から第 VI 群の  $5.4 \pm 0.7$  ng/ml まで加齢とともに直線的に低下し、クレアチニン濃度も  $166 \pm 17$  mg/dl から  $81 \pm 10$  mg/dl まで低下したが、hEGF/クレアチニン比は 0.735 から 0.499 まで明きらかに年齢とともに下降した。又各年齢群で女性は男性より多量の hEGF を排泄することがみとめられた。

本研究は早朝尿において行われたが EGF 又はウロガストロンの排泄には明らかな日内変動はなく 1 日の排泄量を反映するものと思われる。又蓄尿中における EGF の分解の可能性を考えると早朝尿

の使用の利点もあると考えられる。

加齢によるホルモン分泌の変化は三つの型に大別され、性ホルモンの様に加齢とともに直線的に低下するもの、副腎皮質ステロイドや甲状腺ホルモンの様に各年齢を通じて略。同様に分泌されあまり加齢の影響を受けないもの、又下垂体ゴナドトロピンの様に加齢によりかえって増加し、性ホルモンの変化と逆の方向に動くものであり、EGFの加齢による変化は性ホルモンのそれと似て明らかに加齢による減少を示したことは、性ホルモンことにアンドロゲンによってその分泌が調節されている可能性を示すものと思われる。しかしながら EGF の分泌の加齢による低下機体との意義は現在の所不明である。

以上本研究は新しい成長因子である EGF の人尿中における排泄の年齢・性による変化を明らかにしたものであって従来殆ど知られていなかった EGF の分泌調節について重要な知見を得たものとして価値ある集積とみとめられる。よって本研究者は医学博士の学位を得る資格があるものとみとめる。