

# 唾液の成分：AST（血清との比較）

三橋 百合子\*、植田 伸夫\*\*

帝京短期大学ライフケア学科臨床検査専攻\*  
介護老人保健施設エスコートタウン静清\*\*

Component of saliva : AST ( comparison with serum )

Yuriko MITSUHASHI、Nobuo UETA

## Abstract

High AST ( L-Aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC2.6.1.1 ) activity was detected in human saliva. AST is aminotransferase, and there is two kind of isoenzyme. Analyzed AST of saliva by enzyme method and electrophoresis. It is AST of a mitochondria origin and AST of a cytosol origin. The enzyme activity of total AST and mAST in saliva was relatively higher than human serum. The isoenzyme was detected at a position the same as serum. Plural band was detected in some specimen. I do not reflect serum and it is thought with saliva original AST.

## 要 旨

ヒト唾液中に高い AST (L-Aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC2.6.1.1) 活性が認められた。AST はアミノ基転移酵素で、2 種類のアイソザイムを持つ。AST にはミトコンドリア内に存在する mAST とミトコンドリア外の細胞質に存在する sAST である。唾液 AST は酵素法と電気泳動法で分析した。血清と比べ唾液の総 AST と mAST 活性値は高値であった。アイソザイムは血清同様であるが、一部の検体では複数のバンドが検出された。血清を反映せず唾液独自の AST と考えられる。

## 【緒 言】

唾液成分は血液成分と色々な点で異なることが明らかになっている。実際蛋白の組成や酵素なども血清と比較すると唾液独自のものであることを前回報告している。

今回は唾液で活性が認められたアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、EC2.6.1.1 (AST: 以下 AST と略す。) とそのアイソザイムである細胞質由来 AST (sAST: 以下 sAST と略す) とミトコンドリア由来 AST (mAST: 以下 mAST と略す) について得られた所見について血清と対比し報告する。

## 【方 法】

### 1) 材 料

唾液は自然流出の混合唾液を使用した。採取前に水

で口腔内をゆすいだ後、脱脂綿を口にいれ流出する唾液を含ませた後、注射器に脱脂綿を押し出し出した唾液を使用した。

今回の唾液採取は健常人を対象にした。

### 2) 測定法

① AST 活性値は MDH - UV 法 (株国際試薬) を使用し、自動分析装置コバスマラ (株ロッシュ) で測定した。測定原理を図 1 に示す。

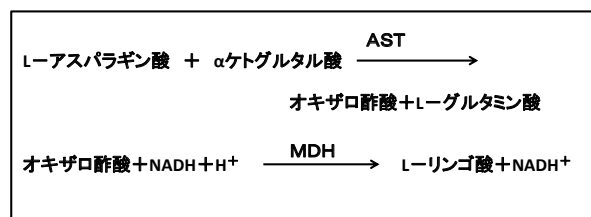


図 1. AST 活性値の測定原理

mAST 活性値はプロテアーゼ・UV 法（㈱国際試薬）を使用し、自動分析装置で測定した。測定原理は血清および唾液中にプロテアーゼ K を作用させて sAST を失活させた後残存する mAST を前述の AST 活性測定法（図 1）で測定した。

- ② AST のアイソザイム分析法は電気泳動法を行った。支持体はセルロースアセテート膜、緩衝液はバルビタール緩衝液 pH8.6、イオン濃度 0.05 モルを使用し、300V、10 分通電し、L-シスチンスルフィン酸を基質とする方法（GOT アイソザイム試薬：㈱国際試薬）で紫色に染色した（37℃、30 分）後、デンシトメーター（570nm）で分画の % を測定した。染色原理を図 2 に示す。

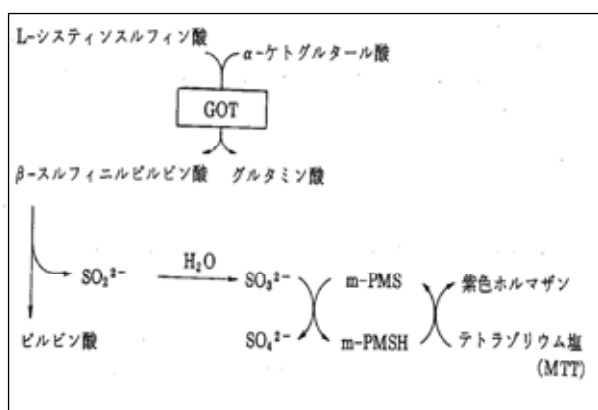


図 2. AST の染色原理（電気泳動法）

\* GOT とは AST の旧略名である。

- ③ 非特異反応（アルブミン分画の染色）<sup>1)</sup> の確認は AST の基質を含まない試薬を使用し染色される（非特異反応）か否かを判定した。
- ④ プロテアーゼ K による sAST の阻害法<sup>2)</sup> はプロテアーゼ K が sAST を阻害する分解酵素であり、今回使用した㈱国際試薬の測定試薬（mAST 試薬・A）の標準液（リファザイム mAST：ブタ心筋由来）とヒト血清にて阻害処理し非処理検体との比較で確認をした。

## 【結果】

### 1) 唾液の AST 活性値について

唾液 63 検体の分析結果では、最低値 0 U/L、最大値 141 U/L、平均活性値 24.6 U/L、であった。

活性値の分布型は対数正規分布型であった。図 3 に唾液 AST 活性値のヒストグラムを示す。

健康人血清の AST 活性値は 10 ~ 35 U/L<sup>3)</sup>、mAST 活性値は 0 ~ 4 U/L<sup>4)</sup> である。唾液 AST 活性値の平均値は血清とほぼ同レベルであるが、活性が 0 U/L の唾液も 13 検体（20%）認められた。また血清の上限

値をはるかに超える高い活性値を示した検体も多く認められた。

分布型については血清と同様に対数正規分布型であった。

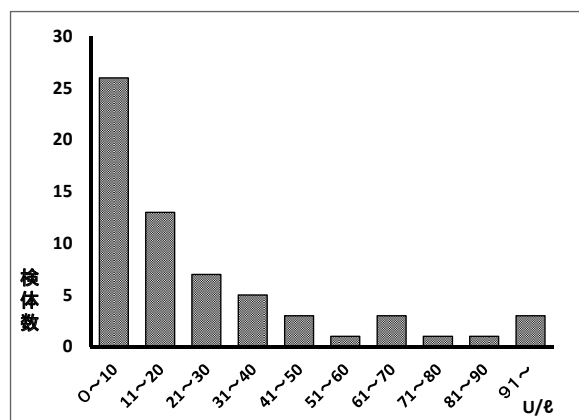


図 3. 唾液 AST 活性値のヒストグラム

### 2) mAST の活性値について

プロテアーゼ法（自動分析法）で測定した mAST 活性値は最低値 0 U/L、最大値 41 U/L、平均活性値 6.0 U/L（n=63）であった。mAST 活性値のヒストグラムを図 4 に示す。

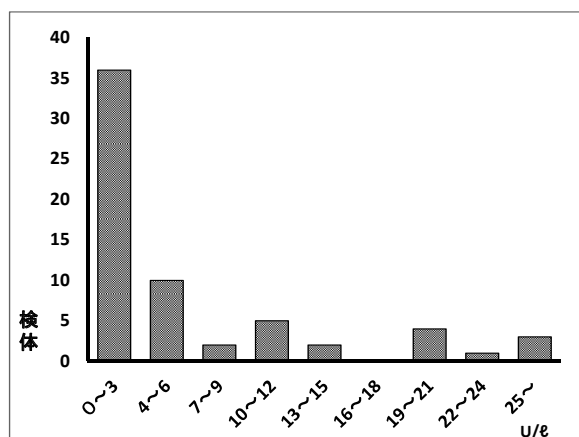


図 4. 唾液 mAST 活性値のヒストグラム

電気泳動分析を行った 32 検体を酵素法と比較すると、mAST 活性値の相関係数は  $r=0.946$  であった。図 5 に相関図を示す。（電気泳動法の mAST 値は酵素法で測定した総 AST 活性値から mAST 分画 % で求めた。）

### 3) 唾液 AST の電気泳動分析パターン

図 6 に示すとおり、血清（対照）では陽極よりに sAST 分画（蛋白分画の  $\alpha$  2 位）が、塗布位置付近に mAST 分画が検出される。

唾液 AST 分画については血清と同位置に sAST と mAST が泳動された検体が 20 例（62.5%）、sAST 分

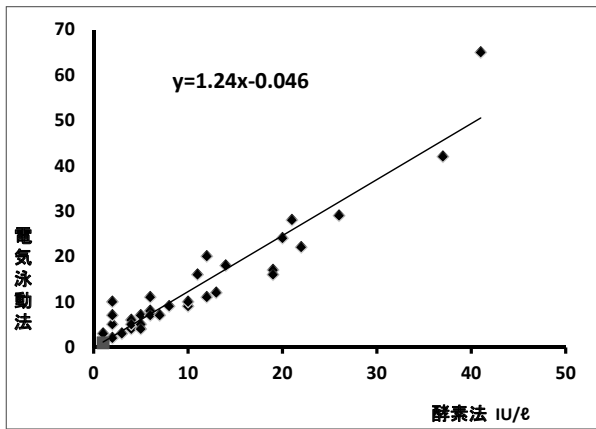


図5. 酵素法と電気泳動法の mAST 活性値の相関図

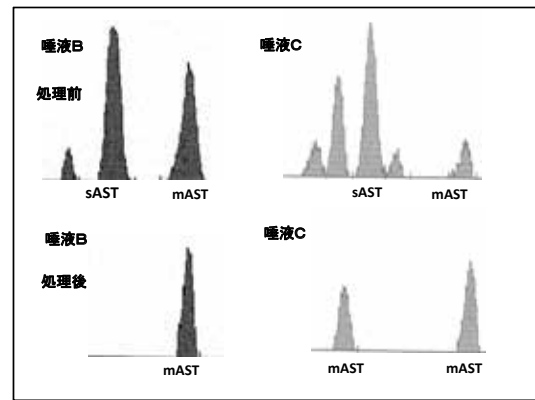


図7. 唾液 AST アイソザイムのプロテアーゼ処理

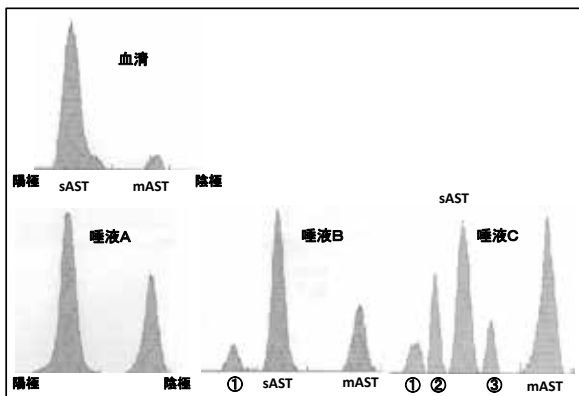


図6. 唾液 AST アイソザイムパターン

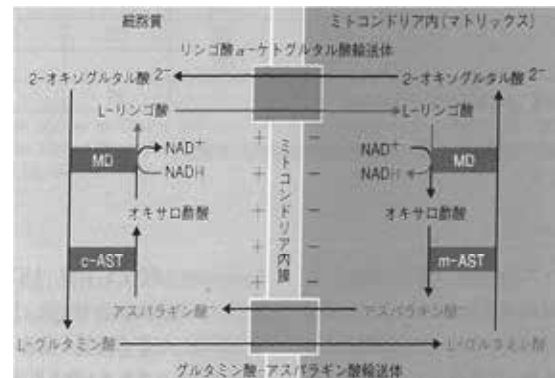


図8. リンゴ酸-アスパラギン酸シャトル

画よりさらに陽極側にもう一つ分画が得られた検体が8例(25.0%)、それ以上の分画数が得られた検体4例(12.5%)あった。

この染色法でアルブミンが染色される非特異反応については方法③で示した識別法にてアルブミン分画ではない事を確認済みである。

血清 AST 分画位置と異なる分画についてはその成分が細胞質由来の sAST か、ミトコンドリア由来の mAST かを調べるため前述の方法④で示したプロテアーゼ K 阻害法を実施した。プロテアーゼ K は sAST を阻害する分解酵素である。その結果図7の唾液検体 B の一番陽極側の①分画は sAST 成分、唾液検体 C の①分画、③分画は sAST 成分、②分画は mAST 成分であることが確認された。図7に示す。

## 【考察】

### 1) 唾液 AST 活性値について

唾液中の AST 活性値は今回測定した結果では、約80%は血清 AST 値の基準範囲と同レベルの活性値であるが、唾液に特徴なことは活性値が0 U/Lを示す検体が13例もあり、全体の約20%にあたる。血清では

活性が0 U/Lであることは健常人ではあり得ない。一方、血清より高い値を示した検体も約20%あり、中には100 U/Lを超える検体も3例あった。血清と比べると健常人唾液 AST 活性値の検出範囲は非常に大きい。つまり唾液 AST 活性は個人差が大きいと言える。

今回結論を出すには検体数が少ないが、個人の日内変動は大きかった。そのことが要因の1つであると考えられる。

ミトコンドリア由来の mAST 活性については、健常人血清中ではほとんど活性を認めないが、唾液 mAST の平均活性値は6.0 U/L と高い。ただし0 U/Lの検体は24例(約40%)、平均値より高値の活性値は17例(約30%)と健常人唾液 mAST 活性値も検出範囲が大きい。

ただし総 AST 活性に比べ活性が0である割合が多い(約2倍)。また AST 活性を認める検体の mAST 活性値はかなり高い値を示すものもある。

### 2) 電気泳動法による唾液 AST 分画について

血清分画パターンと同位置に sAST と mAST の分画が認められる。しかし血清と違うことは mAST 分画%が大きいことである。

また血清と大きく異なる点は、2分画以上の分画を認めるパターンが検出されたことである。そのうちの多くはsASTより陽極側に小さい分画が1本あるパターンが8例、それ以上の複数分画出現パターンが4例である。この分画はプロテアーゼ処理によりほとんどが消失しているのでsAST成分(重分画)と判断した。複数分画出現パターンで2例(採取日は異なるが同一人物検体)については、sASTより陽極側の分画の1つがmAST成分であった。血清ではこのような分画の出現は見られない。唾液独自の分画と考えるが、出現理由については不明である。血清では起こらないので唾液と血清の環境の違い(pH等)や含まれる酵素の種類の違いがこの現象の要因と考える。ただ、デンプンゲルを支持体とした方法ではmASTがさらに3つのisoformに分画され、それは補酵素と結合した活性部位の数が異なるためと言う記載<sup>5)</sup>もあるが今回使用した支持体の種類はセルロースアセテート膜で異なる。ただ、唾液という環境を考えると食事による「デンプン」の存在があるので、血清では重分画を認めないが、唾液に認められた要因として今後検討する必要がある。

## 【まとめ】

唾液は主として三大唾液腺より口腔内に分泌される(耳下腺25%顎下腺70%舌下腺5%)。ヒトでは約1.5 lである。その他に口腔内粘膜に埋め込まれた小分泌腺、また鼻腔、副鼻腔からの分泌腺も含まれる。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)はヒトのアミノ酸代謝では中核的な重要な働きをする酵素であるが、果たして口腔内がアミノ酸代謝の場になるであろうか。

唾液の主成分は水でありそして粘液物質(巨大な糖鎖を持つ蛋白質)が含まれる。唾液それ自体は口腔内に入った食物あるいは噛み砕かれた食物片を嚥下し易いように“ぬめり”を与える役割をしているので、唾液の成分が口腔内で酵素によって代謝を受けるとは考えられない。

また、唾液中には $\alpha$ アミラーゼが含まれているが消化酵素でありこれもASTの基質になるようなものではない。

また最近では健康飲料として諸種のアミノ酸を含むものがある。そのなかにアスパラギン酸やグルタミン酸があれば、唾液のASTの基質にはなる可能性はあるが、そのために唾液中にASTが分泌されているとするのは考えすぎであろう。

ただ、口腔中には非常に多糖類の口内細菌群がある。これら細菌群が唾液ASTの供給源になり得るこ

との可能性は検討する必要がある。

ASTは生体内ではL-アスパラギン酸および $\alpha$ ケトグルタル酸とL-グルタミン酸およびオキザロ酢酸との間のアミノ基転移酵素として窒素や炭素の代謝に有用な役割を果たしている。ASTは分子量45000の2量体蛋白である。しかし、sASTとmASTは別々の染色体に座位する遺伝子産物である(sAST:染色体10番長腕、mAST:染色体16番長腕)。mASTは細胞質で合成されたあとプロセッシングを受けてミトコンドリア内に入るとされている。ASTはピリドキサルリン酸(PLP)を補酵素とする酵素で、PLPを結合したホロ酵素と結合していないアポ酵素が存在する。活性のないアポ酵素は今回の測定法では検出できないので唾液中にどの程度存在するかは不明である。ヒトの体内ではあらゆる細胞に存在しているが、特に心臓、肝臓、骨格筋、赤血球などに高濃度分布している。sAST/mAST比はいずれの臓器でもおおむね0.7~1.5<sup>6)</sup>ぐらいである。

ASTの役割の一つはミトコンドリア膜を介したプロトン転移の鍵酵素としての役割(リンゴ酸-アスパラギン酸シャトル)である。図8<sup>7)</sup>に示す。

即ち、ミトコンドリア内膜にある電子伝達系ではNADHあるいはFADH<sub>2</sub>がプロトンが供給を受けATPの産生が行われる。しかしミトコンドリア膜はNADHを透過させないので、ミトコンドリア膜を通過できるアミノ酸の脱アミノ反応とリンゴ酸の脱水素反応を利用してミトコンドリア外で生じたNADHのプロトンがミトコンドリア膜を透過移送される。ASTはこのシャトルを作動させるために必要である。

食物を咀嚼したり、言葉を発する時など口周辺の筋肉を激しく動かす場合もあり、ATP消費量が多い場合このシャトルが有用であり、そのためにも口腔付近にはASTが含まれていることも考えられる。

今回の唾液の結果を考えると、活性が認められない場合と、非常に高い場合がありそれは口を動かすことと関連があるのではないかと考える。またミトコンドリア由来のmASTが高い活性で認められる検体も多いのは、食物の咀嚼などで口腔内の細胞が剥がれ破壊すればミトコンドリア由来のmASTが唾液中にも混入するので血清と比べ活性が高いと考えることもできる。食物を咀嚼するなどの負荷をかけ、負荷前後の唾液でAST活性が変化するか否かを今後検討したい。

健康人血清にはほとんどmASTは認められない。血清でmASTが上昇するのは劇症肝炎、心筋虚血などでミトコンドリアの障があることを示し重篤な状態を表す。しかし、唾液では健康人でもmASTが認められるので、疾患との関連より唾液独自の環境要因が示唆される。

前回報告した乳酸脱水素酵素（LD）も唾液は血清と異なり、活性値の範囲が大きく、また血清より非常に高い活性を示す唾液検体もあり、その点では今回のAST活性の状況と似ている。さらにアイソザイム LD 5が一番多く含まれていた<sup>8)</sup>がLD 5は骨格筋にも多く含まれ、Mサブユニットという嫌気的な条件下で働くアイソザイムである。口腔内という特殊な環境のもといろいろな分泌液が混ざった唾液には乳酸脱水素酵素と同様にASTも血清とは大きく異なり唾液独自のASTであることが確認された。

#### 参考文献

- 1) GOT アイソザイム試薬（国際試薬株式会社）試薬説明書 p 4
- 2) 渡津吉史、その他：ProteinaseKを用いた新しいm-ASTの測定法．生物試料分析13,3：123～128、1990
- 3)、7) 前川真人：標準臨床検査学・臨床化学、医学書院、P217、P215
- 4)、6) 浦山修、その他：臨床検査学講座第3版・臨床化学検査学、医歯薬出版、P223、P221
- 5) 米田孝司：6．AST（GOT）、ALT（GPT）．臨床病理116：72～77、2001
- 8) 三橋百合子、植田伸夫：唾液の成分（血清との比較）．帝京短期大学紀要17：115～120、2012