OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Studies on pyrimidine Metabolism in Tumor and Normal Tissues
Author(s)	Ikenaka, Kazuhiro
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24443
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【1】

氏名・(本籍)	池中(いなか)一裕(かずひろ)
学位の種類	理学博士
学位記番号	第5015号
学位授与の日付	昭和55年6月23日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**癌および正常組織におけるピリミジン代謝に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 藤井 節郎 (副査) 教授 倉橋 潔 教授 中川 八郎

論文内容の要旨

分裂が盛んな細胞においては，DNA合成が盛んになり，特にピリミジンヌクレオチド合成系の酵素活性が上昇してくることは良く知られた事実である。ピリミジンヌクレオチド合成は，de novo合成経路と，salvage合成経路とに大別される。今回，ピリミジンヌクレオチド合成系の各酵素活性を癌，正常組織および分裂の盛んな正常組織（骨髄，胸腺など）について比較検討した。癌および分裂の盛んな正常組織においてde novo合成経路の酵素として，dCMP deaminase, salvage合成経路の酵素として各種nucleoside kinase活性が著明に上昇しており，従来の成績と一致した。癌と正常組織（分裂の盛んな組織も含む）を区別できる酵素としては，ribonucleotide reductasc, dTMP Kinase, DNA polymeraseが挙げられ，いずれも癌細胞では正常組織より著しい活性の上昇が認められた。又，癌細胞でもAH—130のようにde novo合成経路が盛んな細胞と，吉田肉腫のようにsalvage合成経路の盛んな細胞があり，癌細胞の種類により二経路の利用に著明な差異のあることを明らかにした。又，分裂の盛んな正常組織でも胸腺はde novo合成に骨髄はsalvage合成に依存していることを見出した。

Elfordらは Morris肝癌細胞の分裂速度と ribonucleotide reductase(RR)活性が比例関係にあり，本酵素活性阻害因子がラット正常肝に存在していることを見い出しており，細胞分裂の律速酵素としてRRが極めて重要であると報告している。そこで，RRの制御機構について詳細に検討した。ラット肝細胞質にはElfordにより報告された蛋白質様阻害物質(High Molecular Weight Ribonucleotide Reductase Inhibitor: HRRI)の他に低分子の阻害物質(Low Molecular Weight Ribonucleotide Reductase Inhibitor: LRRI)も存在することを明らかにした。両阻害物質とも肝で最も活性が高く分裂の盛んな組織（癌，再生肝，骨髄など）では活性が低下していた。このように阻害活性は増殖の

速度と逆相関を示し，ＲＲ活性を調節をしていると考えられる。HRRIを硫安分画，Sepharose 6Bによるゲルロ過により精製したところ，HRRIはSepharose 6Bのvoid volumeに溶出され，RR の基質であるCDPをリン酸化するCDPキナーゼ，分解するCDPホスファターゼ，又RRのアロステリックアクチベーターであるATPを分解する酵素の複合体であり，CDP，ATPの量を減少させRR 活性を阻害していることが判明した。LRRIをエタノール抽出，有機溶媒洗浄，Amberlite IR 45及びDowex 50によるイオン交換クロマトグラフィーにより精製し，グルコースであることを示した。本因子は，ＲＲの酵素溶液に含まれていたHexokinaseによりグルコース－６－リン酸となり，ATPを消費していることを明らかにした。以上のように，両阻害物質とも直接にＲＲに反応するのではなく，ヌクレオチドの分解及び合成活性のバランスとさらに細胞内の基質濃度を調節することによりＲＲ活性，ひいてはDNA合成を制御していることが考えられる。

これらのヌクレオチド合成系酵素の研究の一環として，5－FU及び5－FU誘導体の制癌効果を上げるために5－FU代謝に対するウラシルの影響を調べた。ウラシルは5－FUの分解を強く阻害するが，特に低濃度の5－FUのリン酸化には影響を与えなかった。酵素のキネティクスに関する研究から，このことは良く説明された。

論文の審査結果の要旨

正常および癌細胞の増殖の調節機構を解明することは癌細胞の本体を知る上で極めて重要なことである。細胞分裂が盛んになるとDNA合成が上昇し，前駆体であるピリミジンヌクレオチドの合成も盛んになることは良く知られた事実である。本学位論文では，これらピリミジンヌクレオチドの合成系酵素13種類を動物癌（５種類）とラットを用いて正常組織でも分裂の盛んな組織（骨髄，胸腺，脾）と他の正常組織（肝，肺，胃，小腸，筋肉，睾丸）について広範囲に検討したところ，リボヌクレオチドリダクターゼ，dTMPキナーゼ，DNAポリメラーゼ活性が顕著に変動しており，癌で高値を示すことを見い出した。また癌の種類によりピリミジン合成の代謝パターンが異なり，特にAH-130細胞は，de novo経路に，吉田肉腫はSalvage経路に依存して増殖していることが示唆された。以上の成績から，ピリミジンヌクレオチドに関与するほとんどの酵素活性が測定可能になり，癌と正常の区別が明確にできた。これらの研究は今後ヒトの正常および種々の癌組織について代謝パターンの特異性を調べることにより癌治療の応用に貢献するものと考えられる。

次にDNA合成の律速酵素の１つであるリボヌクレオチドリダクターゼの阻害物質に関する研究で，細胞内でリダクターゼ活性が他の合成および分解酵素のバランスにより，その基質量やcofactor量を調節し，間接的に酵素活性が制御されている可能性を示し，この合成および分解酵素が複合体を形成していることも示唆している。これらの成績は新しい細胞増殖の調節機構の１つとして考えられると共に，他のヌクレオチドの合成酵素群が１つの複合体を形成している可能性を推測させる成績でもあり，最近注目されている微小管(microtubules)との関連性についても極めて重要なことのように思わ

れる。さらに一連の研究の応用として5－フルオロウラシル(5-FU)の代謝に関してウラシル(Ura)と比較検討したところ，Uraは5-FUの分解に対して強く阻害するが，低濃度の5-FUのリン酸化には殆んど影響を及ぼさないことを見い出し，この現象を酵素のキネティックからも証明している。実際，臨床上，制癌剤として巾広く使用されている5-FUのmasked formである薬剤とUraを併用すると制癌効果の著しい増強が認められ，今後ヒト癌の治療に大いに貢献するものと考えられる。これら一連の研究は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。