The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	STUDIES ON THE ENZYMATIC REACTION CONCERNING LIBERATION OF ETHANOLAMINE IN ASCITES HEPATOMA OF RAT
Author(s)	Inoue, Masayori
Citation	大阪大学, 1963, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27725
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 2 】

氏 名・(本籍)	**井上正順**（いのうえ まさより）
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 368 号
学位授与の日付	昭和38年3月25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	**ラッテ腹水系肝癌におけるエタノールアミン遊離反応について**
論文審査委員	(主 査) 教 授 赤堀 四郎 (副 査) 教 授 奥貫 一男 教 授 佐藤 了 教 授 倉橋 潔 教 授 二国 二郎

論 文 内 容 の 要 旨

(1) ラッテ腹水系肝癌におけるエタノールアミン (El) 遊離反応の基質

先に我々は参考論文(5)及び(6)において組織中のアミンの定量法を研究し，その方法によりラッテ肝癌組織中のアミンの定量を試みたところ， El が正常肝の約10倍又再生肝の場合は細胞分裂の増加にともなって El 量も増加していることを報告した。更に参考論文(5)において上記の El 量の相違はそれぞれの組織中の El 量の差によるのではなく，アミン定量時に用いた条件下における組織中の El 遊離にあづかる酵素反応の質的な相違を反映したものであることが判った。即ち，正常肝，再生肝のホモジネートを保温するとほゞ同程度の El 遊離がみられるが，これを50%アセント中で行なうと再生肝における El 遊離反応はほとんど変化を受けないが正常肝の場合はほゞ100%阻害される。

本論文に於て，ラツテ腹水系肝癌細胞 (AH130) のホモヂネート及び105,000×g， 1時間遠沈の上清 (Soluble fraction) について再生肝の場合と同様の現象を確認し，更に Soluble fraction を用いて El 遊離反応に与る基質— El の先駆物質—の分離固定を行った。このものは透析により透析外液に酵素系から分離され，カラムクロマトグラフィーにより精製した後，種々の方法でホスホエタノールアミン (PE) であることを確認した。又上記の方法により種々の組織中の PE 含量を調べ AH130 および再生肝では，正常肝の約8倍 PE 含量の多いことが判った。

更に PE を基質とするホスファターゼは AH130 についても正常肝についても50%アセント(v/v)で阻害されないことを見出し，以上の結果より参考論文(5)で得られた正常肝と肝癌の間にみられた相違について論究した。

(2) ラツテ腹水系肝癌アセトン耐性ホスファターゼの性状について

次に El 遊離反応の酵素系について研究した。PE を基質とする酵素を AH130 より部分的に精製し，その酵素の性状を調べた所，至適 pH および種々の物質の活性に及ぼす影響よりいわゆる非特異的なアルカリ性ホスファターゼであることが判った。この酵素活性に及ぼす種々の有機溶媒の効果を調べた所，

PE を基質とした場合はアセトン，ジオキサン等の有機溶媒による活性化がみられるが，β-グリセロリン酸（GP）を基質とした場合にはこれらの溶媒によっても全く活性化がみられなかった。同様の事実を正常肝，再生肝のホスファターゼについても認めた。

又アルカリ性ホスファターゼ活性は AH130 では約18倍，再生肝では約5倍，正常肝より高いことが判った。

（3） アルカリ性ホスファターゼ活性に及ぼすアセトンの効果について

AH130 より約140倍精製したアルカリ性ホスファターゼ活性に及ぼすアセトンの効果について研究した。PE を基質とした場合はアセトン濃度10～30％（$^{v}/_{v}$）で活性化がみられるが，P-ニトロフェニールホスフェート（PNPP）を基質とした場合は GP よりも更に著しくアセトン濃度の増加とともに活性が阻害される。PE と PNPP を基質とする酵素が同一であることを証明し上記の相違を反応速度論的に検討した。

論文の審査結果の要旨

主論文；ラッテ腹水系肝癌に於けるエタノールアミンの遊離反応に就いて（英文）本論文は次の三編より成っている。

Ⅰ，ラッテ腹水系肝癌におけるエタノールアミン（以下 El と約す）の遊離反応の基質

Ⅱ，仝上肝癌のアセトン耐性フォスファターゼの性状

Ⅲ，アルカリ性フォスファターゼに及ぼすアセトンの効果について

井上君及びその共同研究者はかってラッテの肝癌組織中の El を定量し，その量が正常肝の約10倍に達することを報告した。その後これが肝癌性組織に含まれる遊離 El の量を示すものでなく，El の定量時に用いた条件下での酵素反応に由来するものであることを発見した。また再生肝においては肝癌と略同様であった。即ち，正常肝，再生肝のホモジネートを保温すると略同程度の El の遊離が見られるが，これを50％アセトン中で行なうと再生肝における El 遊離はほとんど変化を受けないが，正常肝ではほとんど100％の阻害されることを見出した。またラッテ腹水系肝癌のホモジネート及び 105,000xg，1時間の遠心沈澱の上清に就いて再生肝の場合と同様の現象を確認し，更に仝上清を用いて El の先駆物質の分離定量を行なった。この物品は透析によって外液に出るもので，カラムクトマトグラフィーにより精製しフオスフオエタノールアミン（PE）であることを確認した。また上記の方法により種々の組織中の PE 含量を検べ，ラッテの肝癌及再生肝では正常肝の約8倍であることを認めた。更に PE を基質とするアルカリ性フォフアターゼ作用は肝癌についても正常肝についても50％アセントで阻害されないことを見出した。

次に上記の PE を分解する酵素を肝癌より部分的に精製し，その至適 pH 及び種々の物質の影響よりいわゆる非特異的なアルカリ性フォスファターゼであることを認めた。非常に興味ある結果としては PE を基質とした場合はアセトン，ジオキサン等の有機溶媒による顕著な活性化が見られたが，β-グリセロリン酸を基質とした場合はこの様な溶媒効果は見られなかった。仝様のことは正常肝及再生肝のフォスファターゼについても見られた。猶アルカリ性フォスファターゼの活性は正常肝に比し再生肝では約5倍，

肝癌では約18倍であることがわかった。この事実は癌組織の増殖機作を研究する上に重要な意義を有するものと思われる。

ラッテ腹水肝癌より約140倍精製したアルカリ性フォスファターゼに対するアセトンの効果を研究し，PE を基質とした場合はアセトン濃度 10〜30% において活性の増大を認めたが， p- ニトロフエニールフォスフェートを基質とした場合にはアセトンは強く阻害することを認めた。しかし，両基質に対する酵素の作用を速度論的に研究した結果，同一の酵素が両基質に対して働いていることを証明することができた。

以上井上君の研究は癌組織の酵素化学的異常性に関して重要な知見を得たと同時に肝臓フォスファターゼの特異な性質を明らかにしたもので生化学上極めて注目すべき業績である。よってこの論文は理学博士の論文として十分の価値あるものと認める。