The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	癌細胞に於けるEthanolamine遊離反応に就いて
Author(s)	東, 監
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28596
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【26】

氏　名・(本籍)	東（ひがし）　監（けん）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　509　号
学位授与の日付	昭和39年3月25日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**癌細胞に於ける Ethanolamine 遊離反応に就いて**
論文審査委員	(主　査)　教授 坂本　幸哉　(副　査)　教授 山村　雄一　教授 須田　正己

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　　的〕

先に及川等は Amine の微量定量法を確立し，種々の動物組織の Amine を定量したが，その際 Rat の肝癌，再生肝では正常肝よりも Ethanolamine (El) 含量の多い事を見出した。ところが，この定量法では，Dinitrofluorobenzene (DNFB) で，Amine を DNP 化する時50%に Acetone が存在する状態で3時間攪拌するが，その反応の間に El が酵素的反応で遊離することが分って来た。そこで著者は，これを検討した結果，正常肝でも Acetone が存在しない時には，肝癌とほぼ同程度の El 遊離反応が見られるが一旦50%に Acetone が存在すると肝癌，再生肝では，尚 El 遊離反応は著明に抑制される為に上記の見かけ上の El 含量の差となって現われていることを明らかにした。更に著者は，この Acetone に対する態度の差は何に起因するのかを検討した結果 Acetone に耐性を示す El 遊離反応は基質が Phosphoryl-ethanolamine (P-El) で酵素は，所謂非特異的な Alkaline phosphatase である事を明らかにしたので更に肝癌，再生肝と，正常組織との比較を行なった。

〔方法並びに成績〕

Rat は Sprague-Dawley 系の体重約150～200g のものを用いた。肝癌は腹水肝癌 (AH 130) を移植後，8日～10日めの癌細胞を用い，再生肝は肝部分切除後，48時間のものを用いた。El の定量は，組織 Homogenate を DNFB で Dinitrophenylation (DNP 化) し，DNP-Amine を Ether で除去後，濃縮し，Dowex－50(H^+) Column にかけ，P-El の Fraction を Ninhydrin 反応後，比色定量した。Alkaline phosphatase の精製は，Morton の方法によった。

組織 Homogenate を37°C で反応させると，腹水肝癌や新生児 Rat 肝の様に細胞分裂の旺んな組織では，Acetone が50%に存在しても El の遊離は20～30%位抑制されるにすぎないが正常肝の様に分裂の殆んど認められない組織では Acetone により，この反応は著明に阻害を受ける。正常肝でも若干は Acetone

に耐性を示す El 遊離反応が存在する。

Acetone に非感受性のこの反応は AH 130 細胞上清にも存在することを利用し，この上清分劃に就き酵素と基質の分離を試みた処，透析により基質を透析外液に分離出来た。この外液を濃縮し，Amberlite CG-120(H^+) を用いて分離精製し，基質の Fraction を電気泳動法その他の方法で P-El であることを確認した。次に肝癌，再生肝及び正常肝の P-El 含量を測定した処肝癌で約 8 倍，再生肝で約 3 倍正常肝よりも高い値を示した。

次に P-El 分解酵素を検討した。AH 130 の細胞上清の透析内液につき，その至適 PH，種々の化合物のその酵素活性に及ぼす影響等を検討し，この酵素が所謂非特異的な Alkaline phosphatase であることが分った。この酵素活性も肝癌，再生肝では正常肝の夫々約18倍及び 5 倍高い。更に肝癌より Alkaline phosphatase を精製し有機溶媒がその活性に及ぼす影響を調べた処 P-El を基質とした場合には種々の有機溶媒で活性化がみられるが β-Glycerophosphate や p-Nitrophenylphosphate を基質とした場合にはこれらの溶媒により阻害を受ける。又再生肝と正常肝からも Alkaline phosphatase を精製し P-El を基質とした時，50%に Acetone が存在しても El の遊離は阻害されない。

以上の P-El 含量及び Alkaline phosphatase 活性が癌細胞に高いこと，及び基質としての P-El の特異性が肝癌と正常肝との Acetone 存在下の El 遊離反応の差異をもたらした原因と考えられる。

El の遊離反応としては，(1) P-El の Alkaline phosphatase による加水分解，(2) Glycerylphosphorylethanolamine からの遊離が考えられ，反応 (1)は Acetone 耐性で反応 (2)は Acetone に対し鋭敏である。癌組織の場合には(1)の活性が強く，正常組織では(2)の活性が強いことが考えられる。

〔総　　括〕

1. Rat の正常肝，再生肝及び腹水肝癌の Homogenate には Ethanolamine 遊離反応がある。

2. 反応液中に50%に Acetone が存在すると正常肝では反応が著明に抑制されるが，再生肝及び腹水肝癌では殆んど抑制されない。

3. 上記の差異の原因に就き検討を加えた結果 Acetone に耐性を示す Ethanolamine 遊離反応の基質は Phosphorylethanolamine であり，酵素は Alkaline phosphatase であり，Phosphorylethanolamine の基質としての特異性も加わった結果であることが分った。

論文の審査結果の要旨

Rat の正常肝，再生肝及び肝癌等には Ethanolamine の遊離反応が二つ，又はそれ以上存在することが推定されている。その一つは Acetone 等の有機溶媒に耐性があり，一つは感受性がある。著者は細胞の分裂の盛んな組織程 Acetone に耐性を示す反応系が多くを占める事実を発見し，これを追究した。Acetone に耐性を示す Ethanolamine 遊離反応の基質は Phosphorylethanolamine であり，酵素は Alkaline phosphatase である。この両者の含量が癌組織では増大する他に，基質が β-Glycerophosphate のときは，Alkaline phosphatase による分解は Acetone により抑制されるが，Phosphorylethanolamine の場合にのみ，寧ろ分解が Acetone により促進される。

この様に Lipide の Nitrogene base である Ethanolamine を遊離する反応が，正常組織と癌組織とで Enzyme pattern が異なる事は興味ある事であり，何故増殖の旺んな組織では Phosphorylethanolamine が増加するのかということも，Lipide metabolism と癌との関係から興味ある事である。

又，有機溶媒と酵素反応との関係，即ち部分精製した Alkaline phosphatase で Phosphorylethanolamine を分解させる場合，Acetone その他の溶媒で，反応が寧ろ促進される事は，これらの有機溶媒と酵素蛋白との関係を示唆する重要な知見である。

以上著者の研究は特に癌細胞と正常細胞の生化学的差異を脂質代謝の面から検討し，癌細胞の生化学的特徴を示した興味ある研究である。