

Title	担癌過程に於ける二価鉄酵素の動向に関する病態生理学的研究
Author(s)	内山, 節夫
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/28643">http://hdl.handle.net/11094/28643</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	内 山 節 夫 うち やま せつ お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 546 号
学位授与の日付	昭 和 39 年 3 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	担癌過程に於ける二価鉄酵素の動向に関する 病態生理学的研究
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 坂本 幸哉 教 授 陣内伝之助 教 授 山村 雄一

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

toxohormone の発見以来、担癌過程に於ける鉄酵素の動向が注目されているので、担癌過程に於ける二価鉄酵素 (homogentisate oxygenase, aconitate hydratase) の動向を知ると共に、酵素を一つの機能を持った蛋白と解し、その機能 (酵素活性) を指標として、動向の背景をなす代謝の様相をうかがうのを目的としている。

#### 〔方法及び成績〕

実験動物は、100g 前後の雄白鼠を用い、頸椎脱臼により殺し、臓器を冷生理食塩水で灌流後採取した。腫瘍株は AH 130 を用い、腹腔内に接種した。実験は通常 5~10匹を一群とし、数値は平均値で示した。

homogentisate oxygenase の酵素材料には、肝及び腎を用い、これら臓器を等量の海砂と共に磨碎し、0.1M phosphate buffer (pH 7.2) で、氷室中で一時間抽出後の上清を酵素液として用い、活性は蛋白 1 mg 当り 1 分間に消費する homogentisic acid を、Brigg 法により測定し、 $\mu$  moles で表した。

aconitate hydratase は、肝臓を Schneider-Hogeboom 法により分別遠沈したミトコンドリア分画と上清分画を酵素液とし、isocitrate を基質とし、活性は蛋白 1mg 当り、1 分間に生成する citrate を Ettinger 法により測定し、 $\mu$  moles で表した。

肝非ヘミン鉄は、米山氏法により測定した。

gentisic aldehyde oxidase, gentisic aldehyde forming enzyme は、肝臓を 5 倍量の 0.25M sucrose solution と共に homogenata し、その 105,000g, 60分遠沈上清を、SM 処理 (0.5%)、熱処理 (60°C, 3分) 硫酸分画 (gentisic aldehyde oxidase 0~45%; gentisic aldehyde forming enzyme 45~80%) を行ない、後者は更に、calcium phosphate gel passed のものを酵素材料とした。活性は、各々 gentisic aldehyde 及び homogentisic acid より、蛋白 1mg 当り、1 分間に生成する gentisic acid 及び gentisic

aldehyde を紫外部吸収により測定し、 $\mu$  moles で表した。

#### 〔A〕 担癌過程に於ける二価鉄酵素の動向と代謝調節機構

(1) 担癌過程に於ける動向： homogentisate oxygenase は、肝では一次的に低下して行くが、 aconitate hydratase は肝上清分画，ミトコンドリア分画，共に変動を示さない。

(2) 担癌動物の homogentisate oxygenase に対する二価鉄の効果： in vitro で反応液中に  $Fe^{++}$  を加えたが，活性の上昇を見なかった。また in vivo で，腫瘍移植の口から毎日，還元鉄を投与したが，酵素活性の低下を防止出来なかった。また肝の非ヘミン鉄量も，正常範囲にあった。

以上のことから，担癌過程に於ける homogentisate oxygenase 活性の低下は，アポ蛋白によるものと考えられる。

(3) 食餌栄養状態による影響： 無蛋白食飼育では，肝上清に於て，homogentisate oxygenase, aconitate hydratase 共に低下して来る。又 5% casein を含む低蛋白食飼育でも，肝上清 aconitate hydratase 活性は低下する。飢餓状態では，肝上清 homogentisate oxygenase は低下するが，aconitate hydratase は担癌と同様低下しなかった。尚腎上清 homogentisate oxygenase, 肝ミトコンドリアは，aconitate hydratase いずれの場合も変動を示さなかった。

(4) 副腎皮質 glucocorticoid の関与： hydrocortisone 10 mg 1日2回腹腔内注射により，無蛋白食飼育下で低下した homogentisate oxygenase 活性の上昇はみられないが，低蛋白食飼育により低下する aconitate hydratase 活性は，或程度回復した。

以上の成績から，担癌過程に於いて，低蛋白状態に副腎皮質機能亢進状態が加わり，両者の相乗作用が担癌の病態を形成するものと考えられる。

#### 〔B〕 担癌過程に於ける homogentisic acid より gentisic acid の形成について

さきに坂本らは動物肝に於て，homogentisic acid から gentisic acid 形成を認め，この反応には，homogentisic acid より gentisic aldehyde を形成する酵素と，aldehyde oxidase とが関与することを明らかにし，その酵素学的性質を明らかにしている。又，homogentisate oxygenase 活性が障碍された場合に gentisic acid 形成が著明に認められることを明らかにしている。担癌動物肝で homogentisate oxygenase 活性が低下していることが認められたので，shunt pathway である homogentisic acid より gentisic acid の形成についても検討を加えた。その結果，担癌過程初期に於て，gentisic acid forming enzyme 活性の上昇が認められるが，進行と共に活性の低下が認められ，又，gentisic aldehyde oxidase 活性は，初期より漸次軽度の低下を示した。飢餓状態では両酵素共に活性が低下し，無蛋白食飼育下では gentisic aldehyde forming enzyme 活性は上昇するので，担癌時に於ける gentisic aldehyde forming enzyme 活性の変動は，担癌初期には内的蛋白欠乏状態を，末期には全面的飢餓状態を示すのを，そのまま反映していると考えることが出来る。また homogentisate oxygenase 活性低下により側鎖の短縮がみられた先の成績をより明らかにし得た。

#### 〔総括〕

本研究は担癌過程に於ける二価鉄酵素の動向を追及すると共に，それより担癌動物の代謝の様相にも検討を加えたのである。

## 論文の審査結果の要旨

Greenstein が担癌動物の肝カタラーゼ活性の低下を報告して以来、担癌動物における鉄の動向、とくに鉄酵素の動向が注目されているので、非ヘミン鉄酵素であるホモゲンチジカーゼ、アコニターゼの担癌過程に於ける動向を研究した。

担癌過程において、肝上清ホモゲンチジカーゼ活性は漸次低下するが、アコニターゼ活性は低下しない。これらの酵素が二価鉄酵素であるので、ホモゲンチジカーゼ活性の低下の原因が助酵素である非ヘミン鉄にあるのか、アポ蛋白にあるのかを検討した結果、その原因がアポ蛋白にあることを証明した。そこで種々の食餌条件下で酵素活性を検討し、酵素活性に及ぼす因子について調べたところ、アコニターゼ活性は無蛋白食、低蛋白食下で低下するが、飢餓時には低下しない。これに対して、ホモゲンチジカーゼ活性は上記食餌条件下で低下する。また低蛋白食下で低下したアコニターゼ活性は、過剰の Glucocorticoid の投与により或程度回復する。

以上のことから、担癌過程におけるこれら酵素の動向は、担癌過程に存在する内的蛋白欠乏と、副腎皮質機能亢進の相乗作用によるものと考えられ、また酵素の動向から逆に、担癌過程における生体の代謝機能がうかがわれる。

次にホモゲンチジカーゼ活性低下時に、ゲンチジン酸形成の経路の亢進が報告されているのでこの点についても検討した。担癌過程において、とくにホモゲンチジン酸々化的脱酸酵素活性が上昇していることを認めた。

以上著者の成績は担癌過程における二価鉄酵素の動向をしらべ、担癌過程における病態生化学を明らかにした興味ある知見である。