



Title	β -Glucuronidase Isozyme に関する研究
Author(s)	大河内, 寿一
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28876
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

氏 名・(本籍)	大 河 内 寿 一 お お こ う ち と し か ず
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 8 7 8 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学位規則第5条第1項該当
学 位 論 文 題 目	β -Glucuronidase Isozyme に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 山 村 雄 一 (副査) 教 授 須 田 正 巳 教 授 坂 本 幸 哉

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

最近、従来の酵素診断法に加えて、体液または組織の酵素活性をさらに質的に分析する方法として、isozyme の概念を臨床的に応用する試みが各種の酵素について行なわれている。臨床酵素診断に用いられている酵素の1つである β -glucuronidase (以下 β G) については、肝・胆道疾患、各種悪性腫瘍、糖尿病、動脈硬化症、甲状腺機能亢進症などの際に血清中に上昇することが知られている。しかし、その isozyme に関する研究はいまだ極めて少ない。そこで本研究では、ラット肝 β G を isozyme に分離する方法およびその isozyme としての性状を検し、さらに臨床的応用の可能性につき検討することを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

材料は Sprague-Dawley 系ラット体重やく150g のものを使用した。 β G 活性の測定は p-nitro-phenyl glucuronide を基質とする塚元氏法に準じて行なった。

ラット肝を酢酸緩衝液または蒸留水で抽出した粗酵素液を用いて次の如く電気泳動およびカラム・クロマトグラフィーで分離した。

1 澱粉ブロック電気泳動で分離すると、 β G 活性の主ピークは β -グロブリン位および α_2 -グロブリン位にみられ、さらにアルブミン位にも小ピークを認めた。

2 DEAE-cellulose カラム・クロマトグラフィーを用いて粗酵素液の β G を食塩濃度 0.130 M, 0.187M, 0.230M で3つに分画することが出来、その画分をそれぞれ β G III, II, I と名づけた。

硫酸分画, DEAE-cellulose カラム・クロマトグラフィーを用いて β G I および β G III (β G III の精製の場合には予め熱処理を行なった) を部分的に精製し、次の如き検討を行なった。

3 セルローズ・アセテート膜電気泳動によって β G I および β G III の蛋白の泳動を染色すると、

β G I は α_2 -グロブリン位に、 β G III は β -グロブリン位に存在した。

4 シアノガム電気泳動を行なった後に、6-bromo-2-naphthyl glucuronide を用いてシアノガムで上 β G 活性の染色を行なうと、やはり β G I は α_2 -グロブリン位に、 β G III は β -グロブリン位に活性を認めた。

5 β G I および β G III について、耐熱性の点では β G III の方が安定であった。しかし至適 pH は両者とも4.3~4.5で差異を認めなかった。

6 β G I および β G III の免疫化学的研究

部分的に精製した β G I および β G III を抗原としてウサギを免疫してえた抗 β G I 血清および抗 β G III 血清について次の検討を行なった。

i) 抗 β G III 血清の一定量と 倍数稀釈した β G III の一定量を加えると沈降物を生じ、 β G III は抗 β G III 血清によって沈降せしめられ、沈降物中からはほぼ完全に β G 活性を回収しえた。一方、抗 β G III 血清は β G I を沈降せしめえず、 β G I と β G III は抗 β G III 血清に対する態度を異にした。

ii) 同様に抗 β G I 血清を用いて β G I および β G III に対する沈降度をしらべると、抗 β G I 血清は β G I および β G III をともに完全に沈降せしめ、 β G I と β G III を区別することが出来なかった。

7 四塩化炭素投与ラット血清 β G 活性は健常の約2.5倍、Walker's carcinosarcoma 移植ラット血清 β G 活性は約1.3倍の上昇がみられる。これらの血清について検討した。

i) DEAE-Sephadex A-50 カラム・クロマトグラフィーでラット血清 β G 活性を分画すると、四塩化炭素投与ラットでは、健常ラットおよび担癌ラット血清に比して食塩0.1 M画分 (β -グロブリン位) の増加がみられ、パターンに差異のあることを認めた。

ii) 抗 β G III 血清を用いてこれらのラット血清 β G 活性に対する沈降度を検討すると、四塩化炭素投与ラット血清 β G 活性は健常ラットおよび担癌ラットに比して有意に強く沈降せしめられた。すなわち四塩化炭素投与ラット血清 β G が肝より由来するものであることを示唆し、担癌ラット血清 β G と鑑別しうることを認めた。

〔総括〕

1 ラット肝 β G をクロマトグラフィーおよび電気泳動を用いて3つに分離し、そのうち β G I および β G III と名づけたものについて検討を行なった。

2 β G I と β G III はそれぞれ α_2 -グロブリン位と β -グロブリン位に属し、耐熱性の点で差異がみられた。

3 β G III に対する抗血清 (抗 β G III 血清) は β G III を完全に沈降せしめるが、 β G I を沈降せしめず、免疫化学的に態度を異にした。しかし抗 β G I 血清では、このような交叉性は認められなかった。いずれも抗原抗体沈降物から β G 活性を完全に回収しえた。

4 四塩化炭素投与ラットの血清中に増加する β G 活性は抗 β G III 血清によって、健常ラットおよび担癌ラットのものよりも強く沈降せしめられ、肝由来のものであることを証拠づけ、抗血清を鑑別診断に用いることを示した。

論文の審査結果の要旨

血清 β -Glucuronidase (β G) 活性は肝・胆道疾患、各種悪性腫瘍、糖尿病、動脈硬化症などの際に上昇することが知られている。一方最近では、isozyme の概念が臨床酵素診断法に導入され、とくに LDH (Lactic dehydrogenase) については、心筋梗塞と急性肝炎の際の血清パターンの差異が診断に応用せられている。しかし β G の isozyme については知られるところが極めて少ない。著者は本研究において、ラット肝の β G をクロマトグラフィーを用いて3つの画分に分け、このうち β G I および III と名づけたものが電気泳動、耐熱性などの点で異なり、さらに抗 β G III 血清により免疫化学的にも両者を区別し得ることを認め、またこの抗 β G III 血清を用いることにより、肝障害時に血清中に増加する β G 活性は肝 β G に由来するものであることを示唆する成績を得ている。

本研究は β G の isozyme の存在を証明するとともに、抗酵素血清を用いることにより、血清中酵素の起源を探究する方法を示したもので臨床応用への可能性を示唆した優れた研究であると考え