



Title	ラット肝臓グルコース-6-リン酸脱水素酵素の結晶化及び食餌性変動の原因について
Author(s)	松田, 友宏
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28900
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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)	松田友宏 まつだともひろ
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 904 号
学位授与の日付	昭和 41 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ラット肝臓グルコース-6-リン酸脱水素酵素の 結晶化及び食餌性変動の原因について
論文審査委員	(主査) 教授 須田 正巳
	(副査) 教授 山村 雄一 教授 久保 秀雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

高等動物における代謝調節機構を、酵素蛋白のレベルで解明するために、肝臓のグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G 6 P D H) を研究材料として選んだ。肝臓の五炭糖リン酸回路の活性は、高脂肪食餌投与のとき著しく低いことが知られている。他方では、脂肪酸合成に多量の NADPH が必要であることも知られている。そこで、NADPH の供給に重要な役割を果す肝臓の G 6 P D H 活性が、食餌変動する際に、食餌中の脂肪含量とどのように連関しているかを詳しく検討するとともに、ラット肝臓から G 6 P D H を高度に精製して、特に脂肪酸による影響をしらべ、肝臓における脂肪酸合成系の調節機構を明らかにする目的で本研究を行なった。

〔方法並びに成績〕

(1) 肝臓の G 6 P D H に対する食餌の影響

i) 2日間絶食したラットに合成無脂肪食を与えると、肝臓の G 6 P D H 活性は日を追って上昇し、4日目に最高値に達し、以後しだいに低下し、約1週間で定常値になる。最高値は正常値の約30倍となる。赤血球、腎臓の G 6 P D H 活性は殆んど変動しない。

ii) 上記の最高値は投与する食餌中の脂肪含量により異なり、3%、5%、10%脂肪投与のときは、無脂肪食投与の最高値のそれぞれ、61%、52%、41%となる。

(2) 肝臓の G 6 P D H の精製及び結晶化

ラットを2日間絶食し、4日間無脂肪食を投与した肝臓のホモジェネートの遠心上清から、エタノール分画、DEAE セルローズ・カラムクロマトグラフィ、CM セルローズ・カラムクロマトグラフィにより精製した。特に CM セルローズカラムからの溶出には本酵素の基質であるグルコース-

6-リン酸を用いて G 6 P D H のみを特異的に溶出した。次に第 2 回目の D E A E セルローズ・カラムクロマトグラフィを行ない、活性画分から、硫酸を用いて結晶を得た。結晶は角柱状、沈降数は 5 S である。比活性は 130μ moles/min/mg 蛋白。Km (G 6 P) = 4.0×10^{-5} M, Km (N A D P) = 0.5×10^{-5} M。

(3) G 6 P D H の長鎖脂肪酸による阻害及びヌクレオチドの影響

i) G 6 P D H の精製酵素は長鎖脂肪酸により阻害され、阻害度を脂肪酸の炭素数についてみると、 $14 > 12 > 16 > 10$ の順になり、8以下の短鎖脂肪酸、18以上の脂肪酸の阻害効果は低い。

ii) 脂肪酸による阻害は N A D P により拮抗的に保護され、G 6 P も高濃度で保護する。

iii) 脂肪酸による阻害は A T P 添加により増強され、A T P による阻害増強作用は A D P 又は A M P により消失する。

vi) 脂肪酸による阻害は pH に無関係であるが、A T P による阻害増強作用は、pH が高い程著明となる。

v) Km (G 6 P) は脂肪酸存在及び A T P と脂肪酸共存下でも変わらない。

[総括]

(1) 肝臓の G 6 P D H 活性は食餌中の脂肪含量が増加するにつれて低下する。(2) 肝臓の G 6 P D H を精製し、ラット肝臓から始めて結晶化した。(3) 精製した G 6 P D H は長鎖脂肪酸により阻害され、阻害は N A D P により保護され、A T P により増強される。

肝臓における脂肪酸合成系は、既に知られているように Acetyl CoA carboxylase の脂肪酸による阻害機構のみならず、以上の事実から、G 6 P D H の脂肪酸による阻害機構を通じて二重に調節されていると考えられる。

論文の審査結果の要旨

ラットを2日間絶食し、無脂肪食餌を投与するとき、肝臓のグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G 6 P D H) が著しく誘導されることを見出し、この誘導現象を利用して、動物の肝臓から G 6 P D H を初めて結晶化することに成功した。本酵素の結晶化により、免疫学的な研究が容易になった。

アセチル CoA からマロニル CoA を形成する酵素はアセチル CoA カルボキシラーゼと呼ばれる。長鎖脂肪酸は、マロニル CoA から脂肪酸合成酵素によって合成される。後者の脂肪酸合成酵素が作動する為には、多量の還元型トリリン酸ピリジンヌクレオチド (N A D P H) が必要である。

他方、G 6 P D H は N A D P を補酵素としており、肝臓の可溶性分画における主要な N A D P H 再生産源となる酵素である。著者の実験結果によれば、ラット肝臓の G 6 P D H 活性は食餌中の脂肪含量に依存する。即ち、高脂肪食によっては活性は低下し、無脂肪食では活性が高い。

一方、in vitro で G 6 P D H 活性は遊離長鎖脂肪酸により阻害される。その阻害は補酵素 N A D P により保護される反面、A T P により増強される。A T P による阻害増強作用は A D P, A

MP により特異的に抑制されることが明らかになった。

すでに著者及びその共同研究者は肝臓における脂肪酸合成の初期段階の酵素である前述の、アセチル CoA カルボキシラーゼ遊離長鎖脂肪酸によって著明に阻害されることを明らかにしており、また、Lynen, Wieland (ドイツ) らは長鎖脂肪酸の CoA 誘導体が本酵素をアセチル CoA との拮抗を通じて調節していることを報告している。

しかし、上述の著者の研究により、長鎖脂肪酸は、NADP, ATP, ADP, AMP 等の細胞内濃度との関連において G 6 PDH 活性を調節し、NADPH の濃度が変動することを通じて、マロニル CoA からの脂肪酸合成酵素の作動を調節することが証明されたのである。

著者の得た知見は、長鎖脂肪酸が脂肪酸合成の調節に際し、アセチル CoA カルボキシラーゼのみならず細胞内 NADPH レベルを通じて、脂肪酸合成酵素活性に影響を与えるという2重のフィードバックシステムの存在を示したものであって、G 6 PDH の結晶化にはじめて成功した事実と併せて、貴重な論文として推奨するにたるものと認める。