

Title	ヒト血漿プラスミノーゲンの多様性に関する研究
Author(s)	林, 秀茂
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29110">https://hdl.handle.net/11094/29110</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	林 秀 茂 はやし ひで しげ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 1 6 7 号
学位授与の日付	昭 和 42 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	ヒト血漿プラスミノーゲンの多様性に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 山 村 雄 一 (副査) 教 授 陣 内 伝 之 助 教 授 山 野 俊 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

プラスミノーゲン (以下 PLN と略記する) の多様性が問題とされている理由は次の事実からである。

1. PLN を精製して行くと、種々の基質に対する作用比が異なって来る。
2. PLN フィブリノーゲンとカゼインを基質にした場合、それぞれの場合の PLN 活性に耐熱性の差が見られる。
3. 血清を免疫電気泳動すると、PLN に異質性の存在が考えられる。
4. 種々の PLN 試料を電気泳動すると、活性のピークが分離される。

著者は PLN の多様性を証明するため、塩析、等電点沈澱、クロマトグラフィーなどの方法で PLN を精製分画し、その電気泳動における態度、酵素化学的性状より検討を加えることを目的とする。

#### 〔実験方法〕

PLN の抽出材料としてヒトバンク血、PLN の活性化にはストレプトキナーゼ (SK)、基質としてカゼインおよびウシフィブリノーゲンを使用した。市販のウシフィブリノーゲンはウシ PLN を多量含有しているため、精製してウシ PLN を除いた。

電気泳動は生澱粉ブロックを用い、条件は veronal buffer (pH 8.6  $\mu=0.05$ ) 使用で、やく 9volt/cm, 1.3 mA/cm<sup>3</sup>, 16~18 時間泳動である。

活性測定には、酵素液に SK を加えて PLN をプラスミン (PL) に活性化した後、基質溶液を加えて反応させた。反応停止は三塩化酢酸溶液を加えて行ない、濾過後その濾液の 280 m $\mu$  における吸光度の増加を反応時間で除して測定した。

PLN に対する阻害実験では  $\epsilon$ -aminocaproic acid (EACA), trans-paraaminomethyl cyclo-hexane carbo

xylic acid (AMCHA), dicarbo benzoxy lysine (DCL), dicaprinoly lysine (DCAL) を使用した。PL に対する阻害は PLN 活性化後阻害剤溶液, 基質の順に加え, 活性化阻害には最初より阻害剤を加えた。

#### 〔成 績〕

1. ヒト血漿 PLN の電気泳動により, PLN の活性ピークは前 $\gamma$ グロブリン,  $\beta$ グロブリン, 前アルブミンの各部位に認められ陰極側より PLN-I II III と名附けた。

#### 2. PLN-I II の精製

ヒト血漿を塩析, 等電点沈澱, 酸アルカリ処理, 等電点沈澱の順に処理し, 0.009 M lysine-HCl を含む 0.01 M HCl-Tris buffer (pH 7.9) にて緩衝化した DEAE セルロースによって, 吸着されない PLN と 0.1 M NaCl で溶出される PLN とに分画された。これを更に再クロマトした。

なお, 電気泳動により, カラムに吸着されない PLN は PLN-I に相当し, 0.1 M NaCl にて溶出された PLN PLN-II であることを見出した。

PLN-I および II の血漿に対する収率, 比活性倍率は PLN-I でそれぞれ 39%, 288倍, PLN-II でそれぞれ 26%, 274倍であった。

#### 3. PLN-I および II の酵素化学的性状

カゼインを基質にした場合, 最大反応速度を得る基質濃度は PLN-I でやく 0.45%, PLN-II でやく 1.82% であり, それ以上の濃度では反応は阻害され, その度合は両者の間で著明な差が見られた。

フィブリノーゲンに対する PLN-I および II の  $K_m$  はそれぞれ  $2.96 \times 10^{-4} M$ ,  $0.986 \times 10^{-4} M$  であった。

#### 4. PLN-I II に対する阻害剤の影響

フィブリノーゲンを基質にした場合の 50% 阻害濃度は AMCHA で PL-I  $0.973 \times 10^{-3} M$ , PL-II  $2.63 \times 10^{-3} M$ , EACA で PL-I  $5.75 \times 10^{-3} M$ , PL-II  $1.0 \times 10^{-2} M$  であり, PL-I が PL-II よりも強く阻害される。一方活性化阻害では, 何れの阻害剤も PLN-II よりも PLN-I を強く阻害する。

#### 5. PLN-III について

ヒト血漿硫酸 0.5 飽和上清を pH 3.8 に調整し, その上清より 0.8 飽和で沈澱させた。PLN-III の活性は全 PLN 活性の 10% 以下であった。これを血漿を対照として電気泳動を行ない, 移動度が血漿の PLN-III と一致するのを認めた後, フィブリノーゲンを基質として酵素量を変え経時的に活性を見た結果, 蛋白分解酵素であることを見出した。

PLN-I II III のカゼインに対するフィブリノーゲンの作用比はそれぞれ 3.36, 3.78, 9.00 であり PLN-III が著しく大きい。なお, PLN-I II の作用比の差が小さいのは, 4% カゼイン溶液を用いたため, PLN-I に対して阻害がかかったためである。

#### 〔総 括〕

1. ヒト血漿プラスミノーゲンを I II III に分画した。

2. この分画した I II III の酵素化学的な差異を明らかにし, プラスミノーゲンの多様性を証明した。

## 論文の審査結果の要旨

従来、プラスミノーゲン（以下 PLN と略記する）における多様性の存在が推定されて来た理由は次の事実からである。

1. PLN を精製して行くと、種々の基質に対する作用比が異なって来る。
2. フィブリノーゲンならびにカゼインを基質とした場合、PLN 活性の耐熱性に差異が見られる。
3. 種々の PLN 試料について電気泳動を行なうと、活性のピークが分離される。
4. 血清について免疫電気泳動を行なうと、免疫化学的 PLN に異質性の存在が考えられる。

著者は、ヒト血漿の電気泳動を行ない、従来 $\beta$ グロブリン位に存在すると云われている PLN に 2本の活性ピークが認められるほか、新しくプレ・アルブミン位に PLN 活性を見出した。

これらの PLN を精製分画することに成功し、電気泳動およびクロマトグラフィー上の挙動、基質に対する作用比、酵素基質解離恒数、阻害剤の影響など、酵素化学的に検討を加えた結果、各々に差異を見出した。

これらの成績により、PLN の多様性が明らかに証明されたことは有意義な事柄であると考えられる。