

Title	ネズミ肝浮游細胞よりの酵素漏出に及ぼすグルココルチコイドの影響
Author(s)	谷岡, 博昭
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29301
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 2 】

氏名・(本籍)	谷 岡 博 昭 <small>たに おか ひろ あき</small>
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 1039 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 10 月 31 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	ネズミ肝浮游細胞よりの酵素漏出に及ぼすグルココルチ コイドの影響
論文審査委員	(主査) 教 授 竹 田 義 朗 (副査) 教 授 山 本 巖 教 授 川 勝 賢 作

論 文 内 容 の 要 旨

グルココルチコイドは臨床的に最も重要なホルモンの一つである。特に最近抗炎症作用の著しく増強された合成グルココルチコイドが登場するに及んでその臨床的意義は急激に増大している。しかしながらこのホルモンの作用の実体や機作についてはこれまで殆んど明らかではない。

本研究は、細胞レベルでの代謝調節機構を研究する目的で開始されたものであって、申請者は先づ従来の方法に改良を加え、新しい浮游細胞分離法を考案した。次いでネズミ肝臓より浮游細胞を調製し、これを用いて、従来細胞レベルでの研究の最大の難点であった細胞よりの酵素漏出に検討を加え、この酵素漏出が、動物をグルココルチコイドで前処置することによって防止されることを見出した。このようなグルココルチコイドの酵素漏出防止作用は、浮游細胞を用いることによって始めて明らかにされたグルココルチコイド作用の新しい一面であり、またこの作用がグルココルチコイドの持つ抗炎症作用と密接な関連性を有することも併せて示唆した。

実験にはドンリュウ系雄性ネズミを用い、断頭瀉血后クエン酸ソーダ含有ロック氏液で肝臓を灌流し、后歯科用即時重合レジンで作製した Pestle を有する特殊ホモゲナイザーで粗細胞浮游液を調製する。この粗浮游細胞液を金属篩で濾過し、次いでその濾液を2回低速遠心して細胞を分離する。このようにして得られた細胞は形態学的に完全な細胞構造を保持しており、破壊された細胞破片、血球等の混在は殆んど認められない。この浮游細胞を用いて次の様な結果を得た。

(1) 細胞を浮游状態にすると、細胞の可溶画分局在の種々の酵素が細胞より漏出する。これに反し細胞内顆粒に局在することが知られている酵素は殆んど漏出ししない。また細胞内の可溶画分とミトコンドリア画分の両方に存在するグルタミン酸—ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) は、その約35%が細胞内に残るが、DEAE—セルローズカラムクロマトグラフィーを用いて検討した結果、細胞内残存の GPT はミトコンドリア画分のものであり、細胞より漏出するものは全て可溶画分のもので

あることを明らかにした。

(2) グルココルチコイドで前処置したネズミより調製した浮游細胞では細胞よりの GPT の漏出は著しく防止される。デキサメサゾンで前処置した場合、その効果は注射後 1 時間で発現され、注射後 2 日後で最高に達し、GPT の漏出はほぼ完全に阻止される。このグルココルチコイドの漏出防止効果は、このホルモンの持つ抗炎症作用と平行関係にあり、従って抗炎症作用を持たない DOCA では酵素漏出防止作用は全く認められない。また乳酸脱水素酵素も同様にグルココルチコイドによりその漏出が防止される。

(3) 蛋白合成阻害剤であるピューロマイシンはグルココルチコイドの酵素漏出防止作用の発現に殆んど影響を与えない。従ってこの効果発現には蛋白合成は関係しないと思われる。

(4) 動物をメチオニン欠乏状態にするとグルココルチコイドの酵素漏出防止作用は全く発現されなくなる。一方他の必須アミノ酸欠乏ではこのような現象は認められない。

以上を要約するとネズミ肝細胞を浮游状態にすると、可溶画分の種々の酵素が細胞より漏出する。この酵素漏出は動物をグルココルチコイドで前処置することにより防止され、その効果はグルココルチコイドの持つ抗炎症作用と平行関係にある。このようなグルココルチコイドの酵素漏出防止作用は蛋白合成とは直接関係はないが、メチオニンと何らかの密接な関係を有するようである。

論文の審査結果の要旨

浮游細胞を生化学的研究手段として用いようとする試みはこれ迄すでに数多くなされてきたが、細胞を浮游状態にすると種々の酵素が細胞より漏出するため何れも中断されてきた。本論文はこのような細胞よりの酵素漏出現象に検討を加え、グルココルチコイドが強い酵素漏出防止作用を有することを見出すと共にグルココルチコイド作用の新しい一面を明らかにしたものである。

即ち、先ず従来行なわれて来た浮游細胞調製法に検討を加えて新しい浮游細胞調製法を考案した。次にこの方法を用いて調製したネズミ肝浮游細胞系を用いて細胞より漏出する酵素が可溶画分局在のものであることを示し、またこれらが肝炎の際血清中に出現する血清酵素と質的に良く類似していることを明らかにした。次にグルタミン酸—ピルビン酸—トランスアミナーゼを指標として酵素漏出現象に検討を加え動物をグルココルチコイドで前処置することにより酵素の漏出が防止されることを見出し、更にこのようなグルココルチコイドの酵素漏出防止効果はこのホルモンの持つ抗炎症作用と平行関係にあることも明らかにした。また蛋白合成阻害剤であるピューロマイシンがこのようなグルココルチコイド作用の発現を阻害しないことからこの作用発現には蛋白合成の関与しないことを明らかにした。加えて動物をメチオニン欠乏にするとグルココルチコイドの酵素漏出防止作用は全く発現されなくなり、一方他の必須アミノ酸欠乏ではこのような現象は認められないことから上記のグルココルチコイドの酵素漏出防止作用とメチオニンとの間の密接な関連性を示唆した。

要するに、本研究の結果、従来浮游細胞を用いる研究の最大の難点であった酵素漏出に解決の糸口が与えられ、併せて酵素漏出防止作用というグルココルチコイド作用の新しい一面も明らかにされた。

また本研究は浮游細胞系が診断学上重要な血清酵素出現の機作解明にも有力な研究手段となり得ることを示したものであり、学位論文として充分価値あるものと認める。