

Title	リンゴ酸酵素の生理的意味
Author(s)	丸山, 悦子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29934
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

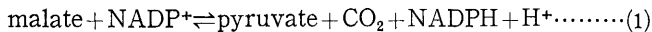
【 24 】

名氏・(本籍)	まる 丸	やま 山	えつ 悦	こ 子
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	1790	号	
学位授与の日付	昭和44年7月16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	リンゴ酸酵素の生理的意味			
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉			
	(副査) 教授 田中 武彦 教授 北川 正保			

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

malic enzyme (ME と省略) は(1)の反応を可逆的に触媒する酵素である。



肝臓における ME 活性は脂肪酸合成が盛んな時に増加すること、および脂肪酸合成には NADPH が必要であることから、その生理的意味は脂肪酸合成に必要な NADPH を供給することにあると考えられている。NADPH 産生系としては ME 以外にブドウ糖-6-リン酸脱水素酵素およびイソクエン酸脱水素酵素が存在しており、肝臓においてはいずれも ME より活性が強い。ブドウ糖-6-リン酸脱水素酵素は動物レベルで ME と似た変動を示すが、最近武田はこの酵素活性の増加がなくても脂肪酸合成が盛んになる場合があることから、ブドウ-6-リン酸脱水素酵素活性の増加は脂肪酸合成の調節において重要な意味を持つものではないことを示唆している。著者は ME の生理的意味が NADPH 産生にあるのではなく、むしろ NADPH を消費して pyruvate から malate を産生することにあると考えられる結果を得た。脂肪酸合成は acetyl CoA carboxylase により律速されており、その基質である acetyl CoA は cytoplasm に存在する ATP-citrate lyase によって citrate から作られ、citrate は mitochondria (Mt と省略) から供給されると考えられている。cytoplasm の malate は Mt 内に入り oxaloacetate となり acetyl CoA と縮合して citrate を作る。つまり ME は cytoplasm の malate レベルを調節して Mt の citrate 産生に影響を及ぼしていると考えられることが出来る。citrate は acetyl CoA の precursor であると同時に acetyl CoA carboxylase の調節物質でもあるという事実は ME が malate を産生することによって脂肪酸合成に関与するという考え方を良く説明することが出来る。

〔方法ならびに成績〕

動物は白ネズミを用いた。

- 1 Induction ; 動物に pyruvate および malate を腹腔内注射 (各 100mg/100g 体重) したところ、肝における ME 活性は pyruvate を与えると増加するが malate を与えても増加しない。pyruvate 注射後 5 時間で活性は最高値に達した。
- 2 酵素の安定化 ; この酵素は malate と共存させると不安定になる。一方、pyruvate 存在下では対照より失活は少なく更に CO₂ があると安定性を増す。
- 3 肝可溶性画分の加熱除蛋白上清 (boiled Sup. と省略) による調節 ; ME 活性は動物がおかれた条件により大きく変動するので何かこの活性を調節する物質の存在が予想される。動物を絶食再給餌し各々の boiled Sup. を調製し、精製酵素を用いてその影響を調べたところ、boiled Sup. 中には malate から pyruvate の活性には影響がなく pyruvate から malate の活性を阻害する物質が存在することがわかった。この阻害は絶食で大きくなり再給餌でとれる。しかもこの酵素活性の調節は酵素レベルでの調節に先行しているように思われる。またこの阻害は NADPH と拮抗している。
- 4 脂肪酸による調節 ; 絶食動物の肝の boiled Sup. ではこの阻害が強くなっているため、脂肪酸 acyl-CoA の影響を調べた。boiled Sup. と同様、pyruvate から malate 向きに阻害し、この阻害も NADPH に拮抗している。脂肪酸の中ではステアリン酸による阻害が最も大きい。
- 5 boiled Sup. 中の阻害物質の同定 ; Sephadex G-10 による分画、エーテル抽出、シリカゲルの薄層クロマトグラフィーから、調節に関係するのは脂肪酸又はその誘導体であろうと考えられる。
- 6 malate および oxaloacetate (OAA と省略) による citrate 産生の調節 ; Mt を用いて malate 又は OAA の有無で Mt の外に出てくる citrate を定量すると、各々の濃度に依存して著しくよくなる。しかし各々の Km からみて生理的には OAA の果す役割は小さいと考えられる。
- 7 ME による citrate 産生の調節 ; Mt を用いた系に可溶性画分に存在する ME 活性に相当する精製した ME を加えると、その citrate 産生は促進された。
- 8 ME 抗体の acetyl CoA 生成に及ぼす影響 ; Mt と可溶性画分 (Sup. と省略) を合わせた反応系で ME の抗体を用いて acetyl CoA の生成を測定した。Sup. の ME 活性を抗体で抑えると acetyl CoA 産生が42%に抑えられた。

〔総括〕

- 1 ME 活性はラットに pyruvate を投与すると増加するが malate ではこのような変化はみられない。
- 2 この酵素は pyruvate により安定化されるが malate はむしろ不安定にする。
- 3 肝可溶性画分中にこの酵素を pyruvate から malate 向きに調節する物質があり、この物質は脂肪酸、脂肪酸の acyl 誘導体であると考えられる。

- 4 Mt による citrate 産生は malate により促進される。OAA も同様の影響をもつが両者の生理的濃度から malate による調節が考えられる。
- 5 ME は Mt による cytoplasm の citrate 産生, acetyl CoA 生成に充分影響をもつ。
- 6 以上の結果から ME は pyruvate から malate 向きに生理的意味をもち, pyruvate から malate を産生することにより脂肪酸合成に関係していると考えられる。

論文の審査結果の要旨

これまでリンゴ酸酵素の生理的意味は、脂肪酸合成に必要な NADPH を産生することにあると考えられていたが、この研究は、上記の考え方に積極的根拠のないことから出発し、この酵素の生理的意味が、むしろ NADPH を消費してピルビン酸からリンゴ酸を産生することにあることを示したもので、独創的かつ発展性に富んだ研究である。