



Title	肝コレステロール合成に対する細胞質の意義に関する研究
Author(s)	片山, 善章
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31686
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)	片山善章
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 3771 号
学位授与の日付	昭和 51 年 12 月 23 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	肝コレステロール合成に対する細胞質の意義に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 宮井潔 (副査) 教授 山村雄一 教授 熊原雄一

論文内容の要旨

〔目的〕

近年, cholesterol (chol) の生合成には、酵素系以外に非酵素的な細胞質因子が必要であることが示され、これらは蛋白性のものであって難溶性の基質を酵素と反応させやすくする一種の担送蛋白であると考えられるに至った。しかし、現在まだその精製は行なわれておらず、性状もなお明らかでない。このような細胞質因子がどのような病態下で、どのように chol の生合成系に影響をおよぼしているかを知るために、本実験ではラット肝 chol 合成に変化を与える諸因子が細胞質因子におよぼす影響を知り、その意義について検討を加えた。

〔方法ならびに成績〕

動物肝は 0.25M 蔗糖液で破碎し、ミトコンドリア、ミクロゾームおよび細胞質画分を分離し、必要な補酵素を加えて、標識酢酸ならびにメバロン酸からの chol 合成を *in vitro* で測定した。まず、これらの細胞画分を用いて chol 合成におよぼす細胞質因子の基礎的検討を行なった。ついでラットの chol 合成系に影響する諸条件、たとえば、chol 合成の低下する高 chol 食投与、加令、絶食、および合成の促進するブドウ糖投与、肝部分切除などの条件下の動物より細胞画分を調製し、対照群および実験群のそれぞれの画分の組合せにより、細胞質因子の chol 合成におよぼす効果を検索した。

肝 chol の生合成はミクロゾームや細胞質画分の単独のみでは全く行なわれず、ミクロゾームに細胞質因子を加えることにより進行することを認めた。この因子は熱変性を受けやすく、Sephadex ゲル沪過により分画した細胞質蛋白の 1 画分に局在し、血清蛋白とは異なったものと考えられた。 *in vitro* でミクロゾームに添加する細胞質蛋白量を減少させると、chol 合成能は急激に低下し、細胞

内の活性細胞質因子の濃度は比較的低いことを推定せしめた。

chol食投与後には肝ミクロゾームのchol合成能は著しく低下するが、これに正常動物の細胞質を加えると正常ミクロゾームの水準までにはおよばないが、かなりの程度までchol合成能の回復がみられた(0.74より4.59n moles mevalonate/h/mg protein)。また正常ミクロゾームをchol投与群の細胞質で孵置すると、正常細胞質に比較すると有意の合成の低下が認められた(9.30より1.34 n moles mevalonate/h/mg protein)。細胞質内にはchol合成反応を阻害する因子は存在せず、cholやエステルcholをTween 80に溶解して合成系に加えてもchol合成への直接効果は観察されなかつたゆえ、chol食投与により細胞質因子に何らかの変化の生じることが推定された。従来、chol負荷が酵素系とくにHMG CoA還元酵素フィードバック阻害を加えることは諸家により研究されてきたが、細胞質因子もchol投与により顕著な影響を受けることは重要な知見と思われる。

また加令によりchol合成は低下するが、この酵素活性も発育期動物の細胞質を加えると、かなりの程度の合成能の増加がみられた(1.88より5.80n moles mevalonate/h/mg protein)。逆に発育期動物の酵素系は加令動物の細胞質を加えることにより合成能が有意に低下した(20.52より4.32 n moles mevalonate/h/mg protein)。すなわち、加令によるchol合成酵素活性の低下とともに細胞質にも加令変化を生ずるものと推定される。

一方、肝部分切除後、48時間には酢酸からのchol合成は偽手術群と較べて増加がみられ、このような再生肝のミクロゾーム画分には対照群の細胞質を加えてもchol合成は変化を生じなかつた。したがって、再生肝でみられるchol合成の増加は細胞質因子には全く関係せず、酵素活性の増加によるものとみられる。再生肝ではメバロン酸からのchol合成は対照群と比較して変化がないゆえ、このcholの合成促進はHMG CoA還元酵素の活性増加によると思われる。

また48時間の絶食後ブドウ糖を投与すると3～4時間後にchol合成は顕著に増強するが、この際にも細胞質の酵素系に対する作用には対照群とほとんど差が認められなかつた。

[総括]

肝ミクロゾームのin vitroにおけるchol合成系には細胞質因子が必要であることが認められた。加令やcholの過剰摂取などによるchol合成の低下には、この細胞質因子の活性低下が関与することが推測された。一方ブドウ糖負荷、再性肝などにおけるchol合成增加に際しては、細胞質因子の活性変化はみられなかつた。

論文の審査結果の要旨

本研究はコレステロール合成系におよぼす細胞質の役割を知ることを目的として、コレステロール生合成に変化を与える諸条件下で、肝コレステロール合成を種々の面から検索している。

肝細胞画分の単独またはそれぞれの組合せによるコレステロール合成能の検討結果より、その合成には酵素系以外に細胞質因子が必要であることを証明しえた。また組合せ実験でコレステロール経口

投与時には、メバロン酸合成に関与するHMG CoA還元酵素の変化とともに、メバロン酸以降の細胞質酵素も関係することが認められた。加令にともなう変化としては、酵素以外に細胞質因子の変化がおこり、難溶性基質の担送能を減弱する結果、コレステロール代謝回転を低下させるという結果を得た。この事実は老化によるコレステロール代謝能の変化の機序に関して、重要な新知見をえたものである。一方再生肝、ブドウ糖負荷では、コレステロール合成は著明に増加するが、この際には、細胞質因子は関与していないことが認められた。これは細胞質因子の量的な検討で、一定量以上の細胞質が存在すれば、合成が進行するという成績より、たとえ細胞質が増加しても附加的効果は現われないと推測している。

以上のことから本論文はコレステロール代謝に細胞質が重要な役割を演じていること、とくに加令における意義を解明した価値ある業績と評価する。