

Title	リンゴ酸酵素の肝細胞内レベルの調節とリソゾームを含む顆粒面分の役割
Author(s)	青木, 洋三
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31808
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【5】

氏名・(本籍)	青木洋三
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 3677 号
学位授与の日付	昭和 51 年 6 月 30 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	リンゴ酸酵素の肝細胞内レベルの調節とリソゾームを含む顆粒面分の役割
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉 (副査) 教授 北川 正保 教授 山野 俊雄

論文内容の要旨

〔目的〕

細胞内酵素レベルは酵素たんぱく質の合成と分解によって調節されている。たんぱく質合成の機構はかなり明らかとなり、その生理的意義は確立された観があるが、分解の機構および意味は不明の点が多い。

細胞内たんぱく質はそれぞれ異なった半減期を持ち、またたんぱく質によっては、環境条件で著しく量的変動を示すものがある。このような現象におけるたんぱく質分解系の役割についての報告は少ない。細胞内には、いくつかのたんぱく質分解酵素の存在が知られているが、量的にもっとも多いのは lysosome (以下 Lys と略) の分解系である。

著者はたんぱく質分解酵素として Lys 画分を用い、脂肪酸合成系に関連して活性変動の著しい malic enzyme (以下 ME と略) の調節における分解系の役割の機構について研究した。同時に比較的活性変動の少ない lactate dehydrogenase (以下 LDH と略), isocitrate dehydrogenase (以下 ICDH と略) に対する Lys 画分の影響を測定し ME の場合と比較検討した。

〔方法ならびに成績〕

動物は Sprague-Dawley 系ラット (200-250g) を用いた。肝を 4 倍量の 0.25 M sucrose, 5 mM MgCl₂ 溶液で homogenize し, 5,000×g, 10 分遠沈上清を homogenate とし, 105,000×g, 60 分遠沈の上清を可溶性画分 (以下 Sup と略) とした。homogenate と Sup とを 37°C で 60 分 preincubate しその間の ME の失活を測定すると、前者の方が著明であった。これは顆粒画分に失活を促進する因子が存在していることを意味している。そこで顆粒画分をさらに細分画してこの因子を解析した。その失

活はLys局在性acid phosphataseおよびmicrosome局在性glucose-6-phosphatase活性と関係があった。Lysの関与を検討するため、preincubationのpHを酸性にすると、失活は著しくなった。またその失活は加えるLys画分の量に依存していた。

絶食および再給餌した場合の肝homogenateおよびSupをpreincubationし失活の程度をみると、絶食で大きく、再給餌で小さくなったが、この傾向はhomogenateの方で一層著明であった。正常、絶食、再給餌群のSupとLys画分との種々の組合せ実験を行なったところ、SupとLys画分の相互作用によるMEの失活において、前者が主として調節的役割を持つことを考えさせる結果が得られた。このような役割がSupの高分子、低分子いずれの部分にあるのかを検討するために、SupをSephadex G-25を用いてゲル濾過してLys画分とpreincubationしてみた。低分子物質を除くとSup中のMEはLys画分による失活をうけ難くなり、絶食や再給餌による失活の差も認められなくなった。この低分子性調節因子としてまず基質、産物、助酵素の関与が考えられるので、Supおよびhomogenateを用いてそれぞれpyruvateおよびmalateを添加しpreincubationしてその間の失活をみると、pyruvateを加えた場合は対照より失活が小さく、malateを加えると失活は大きくなりこの傾向はhomogenateを用いた方が著明であった。助酵素であるNADP⁺、NADPHとについて同じ実験をすると、両者共に保護作用が認められた。MEが脂肪酸合成に関与することが知られているので最終産物としての脂肪酸（ステアリン酸）の影響を調べたところhomogenateを用いたpreincubationで脂肪酸濃度に依存した失活の促進が認められた。

〔総括〕

- 1) 細胞内たんぱく質分解機構を研究するために、肝ホモジェネートを用いたin vitroでの可溶性画分酵素 (ME, LDH, ICDH) の失活を測定し、関与する因子および調節機構について研究した。
- 2) 肝ホモジェネート (pH 7.0~6.9) のpreincubationによる酵素活性の失活は可溶性画分におけるそれより著明であり、たんぱく質分解酵素系としてリソゾームが関与し、ミクロゾームにも何らかの役割があることが示された。
- 3) 肝ホモジェネートにおける失活はin vivoで酵素活性が減少している時 (たとえば絶食) に大きく、増加している時 (たとえば再給餌) には小さい。ME, LDH, ICDHの三つの酵素について測定したが、それぞれ特異の失活パターンを示し、その調節は可溶性画分の低分子物質による。
- 4) LDH, ICDHはいずれも生理的な基質の添加で失活は小さくなり、産物の添加で失活は大きくなる。このことは、生理的意味が明らかでない可逆的に反応を触媒する酵素の役割を決定するのに役立つ。MEはその例の一つであるがpyruvateで失活が小さく、malateで大きい。これはMEの生理的基質がpyruvateであることを示している。
- 5) 以上の結果、細胞内たんぱく質分解の主役はリソゾームである。

リソゾームによるたんぱく質分解は非特異的であるが、個々の酵素の分解における特異性は、基質、産物、助酵素による。

論文の審査結果の要旨

細胞内蛋白質は合成と分解をくりかえしつつ一定のレベルに保たれている。研究はリンゴ酸酵素を中心に肝細胞内レベルの調節機構を蛋白化学的に追及し、とくにリソゾームを含む顆粒画分がその酸素蛋白の分能に大きな役割を演ずることを明らかにしたもので、学位論文として価値あるものと認める。