OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	癌性アルカリホスファターゼアイソザイムの電気泳動法的研究
Author(s)	益澤, 学
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31971
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

【20】

氏名・(本籍)	益(ます)　澤(ざわ)　学(まなぶ)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　4022　号
学位授与の日付	昭和52年7月5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	**癌性アルカリホスファターゼアイソザイムの電気泳動法的研究**
論文審査委員	(主査) 教授 阿部　裕
	(副査) 教授 大久保舜三　教授 和田　博

論文内容の要旨

〔目　的〕

人血清アルカリホスファターゼ（ALP）はポリアクリルアミドゲル（5％w/v）を支持媒質とした薄層電気泳動法によって，肝性，骨性，胎盤性，小腸性，原点さらに癌性アイソザイムに分画される。

このうち胎盤性アイソザイムには3種の亜型（Slow, Intermediate, Fast）が見られ，癌性アイソザイムにも3種の亜型（Regan, Nagao, Variant)が見られる。これら両者はその物理生化学的性質が似ているところから，この癌性アイソザイムをCarcinoplacental ALP(CPALP）と呼称している。今迄このCPALPを特異的に検出する方法は無く，耐熱性試験，電気泳動法，抗胎盤性ALP抗体との抗原抗体反応などを組合わせて検索する必要があった。電気泳動法においても用いる支持媒質によってアイソザイムパターンが異なり，ポリアクリルアミドゲルを用いてもゲル濃度5％では，CPALPの一部が骨性アイソザイムと重なり，ゲル濃度 7.5%では肝性アイソザイムと重なるなどゲル濃度によって易動度が違ってくる。

著者はCPALPおよび胎盤性ALPが他のアイソザイムに比し分子量が小さいこと，ポリアクリルアミドゲルが分子篩効果を持つことを利用して，種々の濃度のゲルについて検討した結果，濃度8％以上でCPALPは陽極側へ一番速く泳動されるアイソザイムとして検出されることを見出した。
そこでMargolis らのポリアクリルアミドグラジエントゲル電気泳動法を応用して，CPALPが陽極側へ一番速く泳動されるアイソザイムバンドとして検出し得る条件，さらに肝性，骨性，小腸性など他のアイソザイムバンドの分離が良好な条件を求めた。そしてこの方法を確立させることにより

CPALPの検出を容易にし，診断能力の向上に資することを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

ＳＥ－500型直立平板式アクリルアミドゲル電気泳動装置を用いて，ポリアクリルアミドグラジエントゲルを作製し，試料孔も兼ねた濃縮用ゲルを重層した。既知試料として肝性ALP，胎盤性ALP（Slow, Intermediate）およびCPALP（Regan, Nagao, Variant）を選び，試料添加後電気泳動し，α-naphthylphosphoric acid disodium salt を基質とし Fast violet B salt にてジアゾ反応させ染色した。試料，グラジエントゲル，緩衝液などの泳動条件と得られた結果との比較検討を行なった。そして緩衝液はLaemmli の組成に基づき，グラジエントゲルは 0.094M Tris-塩酸緩衝液(pH8.8)，濃縮用ゲルは0.031M Tris-塩酸緩衝液（pH 6.8），泳動槽用として 0.013M Tris-棚酸緩衝液(pH 8.3)，アクリルアミドは16%と８%を選び，グラジエントゲルを作製し，試料は酵素活性値に合わせて５～８μℓ 添加し，室温下30mA の定電流で４時間電気泳動する条件を選んだ。

その結果，胎盤性ALPおよびCPALPは対照として泳動した肝性ALPより陽極側へ泳動され，しかもサブバンドも見られることを確認した。そして，胎盤性ALPと同じように CPALPも各亜型間でその易動度に微少差が見られ，陽極側へ最も速く泳動されるCPALP（Variant），中間に泳動されるCPALP（Nagao），遅い易動度を示すCPALP（Regan）の順に検出された。さらに，CPALP（Variant）のみを比較してもその中で易動度の差がみられ，微少差の存在することが確かめられたが，CPALP（Nagao）の１例はこれらサブバンドの全てを含む広い範囲に泳動され，その連続性が示唆された。他のアイソザイムの分離能も良好であった。

〔総　括〕

1）　CPALPおよびALPアイソザイムを検出するため，ポリアクリルアミドグラジエントゲル電気泳動法を導入し，検討した結果，Tris-塩酸，Tris-棚酸緩衝液で，ゲル濃度16%～８%のグラジエントゲル電気泳動法によって，CPALPを陽極側へ一番速く泳動されるアイソザイムバンドとして検出できることを確かめた。

2）　CPALPおよび胎盤性ALPはサブバンドが検出された。

3）　他のアイソザイムも良好なバンドとして検出できたので，陽極側よりCPALP ＋ 胎盤性アイソザイム＝ALP １，肝性アイソザイム＝ALP ２，骨性アイソザイム＝ALP ３，小腸性アイソザイム＝ALP ４，原点アイソザイム＝ ALP ０と分類した。

4）　本法を用いることによりCPALPの検索が容易になり，診断精度の向上に役立ち得る。

論文の審査結果の要旨

消化器系の癌疾患では血清アルカリホスファターゼ活性の上昇が見られるとともに，癌特異性アイソザイムの存在することが知られている。この癌性アイソザイムには３種の亜型が存在し，そのためもあって，特異的に検出する方法は今迄見出されていなかった。本論文は，これら癌性アイソザイム

を特異的に検出し，同時に他のアイソザイムも検出できるポリアクリルアミドグラジエントゲル電気泳動法を確立し，さらに，癌性アイソザイムには多くの電気泳動法的微少差の存在することを明らかにした。

この研究成果は，癌の表現する微少差を検出する一方法を開発し得たのみならず，癌の診断学上意義あるもので，学位論文として評価し得る。