

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | 新しく見出した正常肝組織に存在する腸型アルカリホスファターゼについて  |
| Author(s)    | 大谷, 理智子   |
| Citation     | 大阪大学, 1979, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/32513">https://hdl.handle.net/11094/32513</a>   |
| 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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 大 谷 理 智 子                                     |
| 学位の種類   | 医 学 博 士                                       |
| 学位記番号   | 第 4 6 6 4 号                                   |
| 学位授与の日付 | 昭和 54 年 5 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  | 新しく見出した正常肝組織に存在する腸型アルカリホスファターゼについて            |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 山村 雄一<br>(副査)<br>教授 熊原 雄一 教授 田中 武彦 |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

我々はすでに、肝癌組織から笠原アイソザイム、および FI-type AP と呼ぶ 2 つのアルカリホスファターゼ (以下 AP と略す) を見出し、前者は FL-羊膜培養細胞の AP と同一であり、後者は胎児小腸の AP に類似する事を報告した。

これら両酵素はまた、ヒト (成人) 小腸 AP とも多くの類似点をもつので、これらの肝癌に出現した腸型酵素が、正常組織中にも存在するか否かを 24 例の正常肝について検索した。その結果、この二酵素は認められなかったが、今までに報告されていない新しい酵素の存在を見出したので、これを部分精製して、その性質の詳細について検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

正常肝および正常小腸組織は、事故死により、死後 12 時間以内に剖検されたものを、臓器に病変のない事をたしかめ、操作時まで  $-20^{\circ}\text{C}$  に保存して用いた。

AP の部分精製は、肝臓は細切し、小腸は粘膜面を硝子棒で擦過して得たものを材料として、何れも Morton の変法により抽出し、アセトン分画 (30% - 60%)、ついで DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーによって行った。

24 例の正常ヒト肝から得た AP 画分に、ニューラミニデーヌを作用させ、作用前のそれと共に 5% ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動すると、主たる活性部分である「いわゆる肝 AP」は、ニューラミニデーヌの作用をうけて易動度の遅延がみられたが、24 例中 4 例に易動度は変わらず、したがって

ニューラミニデーゼの作用をうけない成分が低い活性ながら含まれている事がわかった。

このニューラミニデーゼ抵抗性のAPのみを得るために、前記と同様にしてアセトン30%—60%飽和画分を調製し、これに適当量のニューラミニデーゼを加え、37℃16時間孵置後、DEAEセルロースカラムクロマトグラフィーによって分離精製した。

この酵素は肝に存在したが、予備実験から、その性質が小腸APに似ていると思われたので、「肝に存在する腸AP類似酵素」という意味で、I-L AP(intestine-like liver AP)と仮称し、肝AP、および小腸APと比較して性質を検討した。

各種アミノ酸に対する態度についてみると、I-L APは小腸APによく近似するが、肝APとは全く異なる態度を示した。即ち、I-L APと小腸APは、L-phenylalanineとL-tryptophanによっては強く阻害をうけ、(10mMでそれぞれ約80%、約70%)、L-homoarginineによっては阻害をうけにくい(10mMで約15%、約20%)。これに対し、肝APの前二者による阻害の程度は弱く(それぞれ約25%、約40%)、後者によっては、強く阻害された(約70%)。

また、EDTAによる不活性化の程度も、I-L APと小腸APは、極めてよく似た値をとるが、肝APでは全く異った。

更に、免疫学的性質についても、抗ヒト小腸AP抗体との反応を二重拡散法によりみると、I-L APと、小腸APはこれと反応し融合したのに対し、肝APは反応しなかった。

I-L APと、小腸APとの相異点は少いが、その一つは尿素による不活性化の程度で、I-L APは不活性化され難い小腸APと、され易い肝APの中間の態度を示した。また耐熱性について、I-L APは、肝APや小腸APよりは遥かに易熱性で、これはこの酵素の一つの特長と云い得よう。更に、この酵素の小腸APとの類似性を確かめるため、各種のAPアイソザイムのうち、小腸APのみを阻害しないとされているレバミゾールを作用させると、I-L APは小腸APよりも一層強い抵抗性を示し、この点も本酵素を特長づけるものと思われた。

なお、Km値および等電点は、これら三酵素において大きな差はなく、至適pHも、何れも10.1ないし10.2で、ほぼ等しかった。

つぎに、この酵素の検出は、電気泳動後の活性染色によったが、極めて微量の酵素の存在下では検出が困難で、検出法の改良とともに、この酵素の出現率も増加する可能性があると考えられる。

#### 〔総括〕

正常肝には、いわゆる「肝アルカリホスファターゼ」と呼ばれる臓器固有のAPとは別に、低活性ではあるが、腸APに類似する成分も含まれる事を、24例中4例に見出した。

この酵素の、5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動(pH8.9)における易動度は、「いわゆる肝AP」とおなじで、小腸APより速いが、ニューラミニデーゼを作用させても変化せず、この点では前者と異り、後者に類似した。

酵素学的、免疫学的性質もまた、肝APとは異なるが、腸APとは極めて多くの点で類似した。

この酵素と腸APとの相違点は少いが、耐熱性、尿素による不活性化やレバミゾールによる阻害の

程度，などに差がみられた。

### 論文の審査結果の要旨

アルカリホスファターゼは，血清酵素診断に広く用いられているので，新しい酵素の特性の解明が必要である。従来，正常肝組織には肝型アイソザイムのみが存在するとされていたが，著者は基本的には小腸型に属するが，独特の性質を備えたアルカリホスファターゼが，低活性ながら共存することを見出して，その性質を明らかにし，この分野に新しい知見を加えた。