



Title	マウス胎生末期肝 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ〔 $\gamma$ -GT〕活性高騰の生理的意味
Author(s)	中嶋, 加代子
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32661">https://hdl.handle.net/11094/32661</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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)	中 嶋 加 代 子
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 4 8 1 4 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 2 月 22 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	マウス胎生末期肝 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ [ $\gamma$ -GT] 活性高騰の生理的意味
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 坂 本 幸 哉 (副査) 教 授 浜 岡 利 之 教 授 山 野 俊 雄

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

Glutathione の分解酵素である  $\gamma$ -Glutamyltransferase [EC2.3.2.2,  $\gamma$ -GT] 活性は何故胎生末期に肝臓で一過性に急上昇するのか, その生理的意味を明らかにしたい。

### 〔方法ならびに成績〕

#### 1. 周生期マウスにおける肝 Glutathione 量の変動

動物は, ICR/Jclマウス (日本クレア) を用い, 固型飼料CA-1 (日本クレア製) を与えた。9-11 週令雌マウスを一夜 mating 後, 翌朝腔栓の確認をもって妊娠第 1 日とした。空調室内 24 時間の明暗サイクル (22:00 to 8:00 dark) 下で飼育し, 水は自由に与えた。日周変動差をさける為に通常 10:00~12:00 の間に断首により屠殺した。液体窒素中に可及的速やかに採取した肝より過塩素酸可溶性画分を得, GSH は Saville 法, GSH+GSSG は Tietze 法, Cysteine は Gaitonde 法により測定した。

成熟マウス肝には通常 g あたり,  $10 \mu\text{mol}$  の Glutathione が存在するが, 胎生 14 日の胎仔肝では  $2.5 \mu\text{mol}$  と低く, 胎生 16 日では  $3.7 \mu\text{mol}$  に上昇し, 誕生日には横這いないしは減少の傾向 ( $3.2 \mu\text{mol}$ ) をみせ, 生後急速に上昇する。

一方, Cysteine 量は, 成熟マウスでは  $0.15 \sim 0.2 \mu\text{mol}$  で胎生末期に上昇する ( $0.5 \mu\text{mol}$ ) ものの, Glutathione 量の変動に比べるとみかけ上, 非常に少ない。

#### 2. 周生期マウス肝 $\gamma$ -GT 活性及び Glutathione 合成酵素活性の変動

$\gamma$ -GT 活性の測定は,  $0.15\text{M}$  KCl homogenate を粗酵素液とし  $\gamma$ -L-glutamyl-p-nitroanilide

(4.4mM)を $\gamma$ -glutamyl基のdonorとしglycylglycine (22mM)をacceptorとしてpH 8.6にて測定した。

$\gamma$ -GT活性は胎生14日頃より上昇しはじめ、誕生時には成熟マウス肝酵素の約300倍にも達し、誕生後は急激に下降して生後1週～10日で成熟動物レベルになる。

Glutathione合成酵素活性の測定は $^{14}\text{C}$ -glycineを基質とし、0.15M KCl homogenateより得た105,000g 1時間上清を粗酵素液として反応停止後、沪紙電気泳動法により基質と生成物を分離しGlutathione画分の放射活性を測定した。

OverallのGlutathione合成酵素量は、胎生13日では成熟動物の $\frac{1}{4}$ しかなく、胎生後期より上昇しはじめ、生後14日で既に成熟動物レベルに達する。

### 3. 母親からの $^{35}\text{S}$ -Cysteine, $^{35}\text{S}$ -Methionineの経胎盤的、経母乳的移行

妊娠第15日から19日の母マウス及び産後1日、3日、5日目の母マウス尾静脈内に $14\mu\text{Ci}$ の $^{35}\text{S}$ -L-Cysteine又は $^{35}\text{S}$ -L-Methionineを注射し、3時間後に屠殺して仔肝における放射活性の分布を調べた。

仔肝における全放射活性は、胎生期では末期になる程高くなっていった。しかもCysteine  $^{35}\text{S}$ の放射活性は、酸可溶性画分よりもむしろ酸不溶性画分へ多くとりこまれていた。 $^{35}\text{S}$ -Methionineからの肝酸不溶性画分へのとりこみはさらに著しかった。

生後の母乳からの移行度は妊娠末期の胎盤を通しての移行度より少なく、又、肝酸不溶性画分へのとりこみも胎生末期よりも少なかった。

### 4. 肝Glutathione画分、肝Cysteine画分へのとりこみ率の変動

母マウスに投与した前駆体アミノ酸( $^{35}\text{S}$ )の胎仔肝Glutathione画分への総とりこみ量は、胎仔の成長につれて高くなっていくが、とりこみ率は胎生末期に至る程低くなっていった。Cysteine画分へは常に低いレベルの放射活性しか検出できなかった。

〔総括〕

1. 近年、腎 $\gamma$ -GTの膜における局在性が明らかになるにつれ、アミノ酸輸送への関与(transpeptidation活性)が疑問視されるようになり、代って水解活性が主たる役割(メルカプツール酸生成に先立つGlutathione conjugateからのglutamateの遊離)ではないかと考えられつつある。しかし、胎仔肝においてはGSH S-transferase, Cysteinylglycine dipeptidase, N-Acetyl-transferase活性のいずれもが成熟動物より低く、 $\gamma$ -GT活性の動向とは一致しない。
2.  $\gamma$ -GTの生理的基質はGlutathioneである。Glutathioneを基質にした場合の本酵素活性(Glutathionase)の至適pHは $\gamma$ -GTのそれより低く、生理的pHでは本酵素はtranspeptidationよりもむしろhydrolysisを行っていると考えられる。
3. 成熟動物ではCysteineはTranssulfuration pathwayによってMethionineから供給されるので必須アミノ酸ではない。胎仔肝においてもCystathionine合成酵素, Cystathionase等が発達しつつはあるが胎生末期にはMethionineの要求量が増す為、MethionineからCysteineへ転換する余裕が少なくなっているのではないか。

4. CysteineはSH基を有する点で生体にとっては重要なアミノ酸であるにも拘らず他のアミノ酸に比較すると肝内濃度は1桁低い。過剰に与えると肝障害をおこす。従ってCysteineとして供給されたものをGlutathioneとして一時的に貯蔵し、必要に応じてGlutathionease ( $\gamma$ -GTの水解活性)により分解し、Cysteineとして利用しているのではないか。即ち、胎生末期肝における $\gamma$ -GT活性の上昇はCysteine要求の増大に応える為であり、これによりGlutathione量増加の一時的停滞がもたらされたと考えている。

## 論文の審査結果の要旨

さきに我々は、グルタチオンがシステインの貯蔵型乃至は輸送型として作用するのではないかと主張して来た。

本論文はマウス胎生末期肝の $\gamma$ -GTが極めて高い値を示すことを発見し、その生理的意義についてグルタチオン代謝に関連する酵素活性、S<sup>35</sup>の動向等から検討し、胎生末期にはシステインの要求が増大し、その結果グルタチオンからのシステイン動員が要求されるとの結果を得たものでさきに我々が主張して来た事をより明らかにしたもので高く評価される。