

Title	腎癌で見い出された異常 γ -グルタミルトランスペプチダーゼの酵素学的免疫学的性質について
Author(s)	波田, 寿一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/32879
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	波 田 寿 ^{かし}
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 1 6 6 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 2 月 24 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	腎癌で見い出された異常 γ -グルタミルトランスペプチダーゼの 酵素学的免疫学的性質について
論文審査委員	(主査) 教 授 岸本 忠三 (副査) 教 授 田中 武彦 教 授 和田 博

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

人癌における酵素偏倚の研究は各種癌組織及び癌患者の体液について各種の酵素を指標にして行われ、そのうちのいくつかは癌の診断と治療の指標として臨床に応用されてきている。しかし腎癌における酵素偏倚の研究は少く、従って臨床的にも酵素偏倚を利用した腎癌の診断や治療の指標となる生化学的検査方法は見当らない。著者はヒト正常臓器では成人腎臓に最も活性が高い膜結合酵素である γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(EC 2.3.2.2) (以下 γ GTPと略す)が腎癌診断の指標酵素となる酵素偏倚を起こすかどうかを検討した。

[方 法]

人腎癌組織は手術により得られ、正常腎組織およびその他の臓器は事故死又は剖検例より得られた。 γ GTPの部分精製は正常腎組織 γ GTPでは、ホモジネートをBromelainにて酵素を可溶化し、硫酸分画、DEAE-cellulose column chromatography及びSephadex G-200ゲルろ過により行った。腎癌組織 γ GTPは正常腎 γ GTPの精製法のうち硫酸分画を省略して行った。また正常肝組織 γ GTP、胎児腎 γ GTPは各々のホモジネートにBromelainを作用させた後、遠心した上清を用いた。これらの標品はディスク電気泳動上一本の活性帯を示すことを確認した。 γ GTP活性測定はL- γ -glutamyl-p-nitroanilideを基質として行った。ディスク電気泳動法はDavisの方法に準じて行い、その活性染色にはN- γ -L-glutamyl- β -naphthylamideとFast Garnet GBC saltを用いた。等電点電気泳動は、LKB社の等電点電気泳動用カラムを使用した。正常腎 γ GTPに対する抗体は部分精製した γ GTPをモルモットに免疫して産生せしめ、 γ GTPの抗原性はOuchterlonyの二重拡散法及び抗体による

γ GTP 活性阻害試験を用いて検討した。

[成績]

- 1) ディスク電気泳動上、腎癌組織より見出した異常 γ GTP (以下 novel γ GTP) は正常腎組織 γ GTP より陽極側に泳動されるが正常肝組織 γ GTP よりわずかに陰極側に泳動され、胎児腎 γ GTP とも移動度は異なっていた。ニューラミニダーゼ処理後も novel γ GTP は正常腎 γ GTP よりやや陽極側に泳動された。
- 2) novel γ GTP と正常腎 γ GTP の酵素学的、免疫学的性質を比較検討し、以下の成績を得た。
 - a) 各種金属イオン, EDTA, SH 阻害剤, 尿素, SDS などに対する態度, km 値, 至適 pH, γ -グルタミル基アクセプターとしての各種アミノ酸の活性に対する影響などでは両者に差を認めなかったが、ゲルろ過法で分子量を求めると, novel γ GTP が約13万, 正常腎 γ GTP が約9万と両者に差がみられた。
 - b) 等電点電気泳動では, 正常腎 γ GTP は pH 4.0~5.0 に約6つの活性帯がみられ, 分子多様性を示唆したが, novel γ GTP は pH 3.6以下に約二つの活性帯がみられた。ニューラミニダーゼ処理後は両者共に一つの活性帯を示すようになり, 正常腎 γ GTP の pI は約5.6, novel γ GTP の pI は約5.4 と両者に接近がみられた。
 - c) Con A-sepharose への吸着率を比較すると, 正常腎 γ GTP は全活性の90%以上が Con A-sepharose に非吸着であったが, novel γ GTP では非吸着部分は全活性の約60%であった。ニューラミニダーゼ処理後は正常腎 γ GTP は全活性の約75%がやはり非吸着であったが novel γ GTP は逆に約80%が吸着し, 両者に著明な相違がみられた。
 - d) 正常腎 γ GTP に対する抗体による正常腎 γ GTP, novel γ GTP 活性の阻害試験では, 両者共にほぼ同じ程度に阻害され, 最大約70%の阻害率であった。又 Ouchterlony 法による二重拡散法では, モルモット抗正常腎 γ GTP 抗血清は正常腎 γ GTP, novel γ GTP のいずれとも反応して沈降線を形成し, 又両者の沈降線は完全に融合するので, 両者は抗原性が同じであることが示唆された。
- 3) 著者は本酵素を電気泳動的に12例中7例の腎癌組織より見出し、病理組織学的形態との関係では Skinner の分類で grade 3~4 に属する分化度の低い腫瘍に多く認められる傾向にあり, 細胞型については clear, granular, mixed type のいずれでも認めている。又性別, 年齢別の差に特徴はみられなかった。

[総括]

- 1) 人腎癌組織より正常腎にみられない異常な γ GTP (novel γ GTP) を見出し, その酵素学的, 免疫学的性質を明らかにした。これらの性質から, novel γ GTP と正常腎 γ GTP は活性基や抗原決定基に關与するペプチド部分には差はなく, それ以外の部分に相違があることが示唆され, これらには少なくともシアル酸の含量の差だけでなく他の糖鎖構造にも相違があることが示唆された。
- 2) 電気泳動的に, 12例中7例の人腎癌組織で本酵素を認め, 病理組織学的には分化度の低い腫瘍に多く認められる傾向にあった。

論文の審査結果の要旨

本研究は人腎癌組織より正常腎にみられない異常な γ -グルタミルトランスペプチダーゼをはじめて見出し、その酵素学的免疫学的性質を明らかにしたもので、これらの性質からこの異常 γ -グルタミルトランスペプチダーゼは正常腎のそれと比ベシアル酸の含量の差だけでなく他の糖鎖構造にも違いがある可能性を示唆している。本酵素は電気泳動により容易に検出出来るので患者体液を用いての腎癌診断に有用な基礎を提供するものと評価する。