The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32879
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

【42】

氏名・(本籍)	波田寿一（はだ としかず）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5166 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γGTP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。γGTPの部分精製は正常腎組織γGTPでは，ホモジネートをBromelainにて酵素を可溶化し，硫安分画，DEAE-cellulose column chromatography及びSephadex G-200ゲルろ過により行った。腎癌組織γGTPは正常腎γGTPの精製法のうち硫安分画を省略して行った。また正常肝組織γGTP，胎児腎γGTP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。γGTP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γGTPに対する抗体は部分精製したγGTPをモルモットに免疫して産生せしめ，γGTPの抗原性はOuchterlonyの二重拡散法及び抗体による

γGTP 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，腎癌組織より見い出した異常γGTP（以下novel γGTP）は正常腎組織γGTPより陽極側に泳動されるが正常肝組織γGTPよりわずかに陰極側に泳動され，胎児腎γGTPとも移動度は異なっていた。ニュラミニダーゼ処理後もnovel γGTPは正常腎γGTPよりやや陽極側に泳動された。

2）novel γGTPと正常腎γGTP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 γGTPが約13万，正常腎γGTP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γGTP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 γGTPはpH 3.6以下に約二つの活性帯がみられた。ニュ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γGTPのpIは約5.6，novel γGTP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γGTPは全活性の90%以上がCon A-sepharoseに非吸着であったが，novel γGTPでは非吸着部分は全活性の約60%であった。ニュラミニダーゼ処理後は正常腎γGTPは全活性の約75%がやはり非吸着であったがnovel γGTP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γGTPに対する抗体による正常腎γGTP，novel γGTP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γGTP抗血清は正常腎γGTP，novel γGTP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い出しており，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，年令別で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γGTP(novel γGTP)を見い出し，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 γGTPと正常腎γGTPは活性基や抗原決定基に関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い出し，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べ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。