The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Marris実験肝癌におけるCa++依存性ホスホジエステラーゼとそのCa++依存性調節蛋白
Author(s)	上西, 圀宏
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32900
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

【21】

氏名・(本籍)	上西園宏（うえにしくにひろ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5051 号
学位授与の日付	昭和55年8月6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	**Marris実験肝癌におけるCa++依存性ホスホジエステラーゼとそのCa++依存性調節蛋白**
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉 (副査) 教授 垣内 史朗　教授 吉田 博

論文内容の要旨

〔目　的〕

cyclic nucleotide及びCa++が細胞増殖に大きく関与していることは広く認められていることであり，このCa++の作用の細胞内mediatorとしてCa++依存性modulator蛋白（calmodulin, CDR）の存在が注目されている。Morris実験肝癌の早い増殖型（3924A），遅い増殖型（9633, 7794A）及び正常肝を用いて，Ca++依存性phosphodiesterase（以下PDE）とそのCa++依存性modulator蛋白の動態を比較検討した。

〔方　法〕

Morris実験肝癌3924Aは移殖后2週間，直径約5cmのものを，9633及び7794Aは移植后6ケ月及び3ケ月の3cm～5cmのものを用いた。可溶分画，顆粒分画PDE及びmodulator蛋白標品の分離は，肝癌（又は正常肝）を5g秤量，5mM Tris HCl (pH7.5), 1mM $MgSO_4$, 0.2mM dithiothreitol, 2mM EGTA にて終末50mlのホモジェネートを作り，10,5000×g，70分にて遠心沈澱し，この沈澱を10mM Tris HCl (pH 7.5), 1mM $MgSO_4$, 0.05mM dithiothreitol, 150mM NaCl, 0.1mM EGTAに溶かし，顆粒分画のPDE及びmodulator蛋白の測定に用いた。上清は濃縮し，一部をゲルロ過に，残りを10mM Tris HCl (pH 7.5), 1mM $MgSO_4$, 0.05mM dithiothreitol, 150mM NaCl, 0.1mM EGTAにて透析して可溶分画のPDE活性及びmodulator蛋白の測定に用いた。肝癌（又は正常肝）の上清の1.25g分をセファデックスG200のゲルロ過に用いた。PDE及びmodulator蛋白の測定は垣内らの方法によった。cyclic AMP-PDE, cyclic GMP-PDEは基質濃度 4μM cyclicAMP, cyclic GMPに，ラット大脳より部分精製されたmodulator蛋白と0.05mM Ca++添加の

場合と1mM EGTAのみ添加の場合が測定された。

上記の酵素標品と同じものについて，可溶分画と顆粒分画のmodulator蛋白の測定を行った。尚，顆粒分画のmodulator蛋白は0.2% Lubrol PXにて可溶化した后測定した。

〔成　　績〕

可溶分画におけるcyclic AMP-PDE, cyclic GMP-PDEは0.5mM Ca^{++}とmodulator蛋白を添加した場合（添加型活性）と1mM EGTAのみ添加した場合（無添加型活性）について測定した。早い増殖型3924Aでcyclic AMP-PDEの添加型活性は正常肝のそれの約4倍に増大していたが，添加型活性と無添加型活性の比，すなわち，Ca^{++}とmodulator蛋白によるcyclic AMP-PDEの活性化は正常肝，遅い増殖型9633，3924Aの間に大きな差はなく，むしろ順次低くなっていた。これに反して，cyclic GMP-PDEのCa^{++}とmodulator蛋白による活性化，すなわち添加型活性と無添加型活性の比は3924Aで最も高く3.39倍，9633で2.20倍，正常肝で1.26倍と顕著な差を認め，肝癌の可溶分画cyclic GMP-PDEはCa^{++}及びmodulator蛋白の感受性に変化のあることが認められた。この肝癌における変化はゲルロ過によるisozymeにも現われている。3924Aのcyclic AMP-PDEは添加型，無添加型とも大きな4個のピークを有し，9633，7794Aでは分子量の10万のピーク以外その活性は減少し，先の可溶分画PDEの結果に一致している。又，cyclic GMP-PDEは正常肝では3個の明らかなピークを有するのに，3924Aにおいては分子量15万の単一ピークのみとなり，9633，7794Aは，その中間型を呈する。この分子量15万のcyclic GMP-PDEはCa^{++}及びmodulator蛋白依存性PDEである。このようにゲルロ過において，3924AのCa^{++}及びmodulator蛋白依存性cyclic GMP-PDEが増加していることは，先の可溶分画のPDE活性の結果，3924Aで添加型cyclic GMP-PDE活性が増大していることに一致する。次に，これらの組織の可溶分画のmodulator蛋白は，3924Aで正常肝の4.6倍，9633は1.3倍，逆に顆粒分画では，3924Aは正常肝の5分の1，9633は2分の1となっており，可溶分画と顆粒分画のmodulator蛋白の合計には大きな変動がないのに，3924Aのmodulator蛋白の大部分は可溶分画に存在していた。すなわち，肝癌組織において，modulator蛋白の顆粒分画から可溶分画への局在変位が生じていることが示唆される。顆粒分画PDEは，3924Aにおいてcyclic AMP-PDE活性の増大が認められた以外，正常肝と肝癌組織の間に大きな差異はなかった。

〔総　　括〕

3924Aで明らかなように，cyclic AMP-PDEの上昇が肝癌組織で認められることは，この組織のcyclic AMP含有量が減少していることと一致するが，cyclic AMPの減少（又はcyclic AMPとcyclic GMPの比の減少）が必らずしもこの腫瘍群の増殖速度と一致しないというHickieらの見解からも，cyclic AMP-PDEとcyclic GMP-PDEの変動を直接細胞増殖と結びつけることは困難である。しかし，これらの腫瘍組織でCa^{++}依存性cyclic GMP-PDE活性が上昇し，特に3924Aでは，無添加型活性の低下を補うために，cyclic GMPの加水分解の大部分をCa^{++}とmodulator蛋白依存性PDEに依っていることは興味ある知見である。加えて，肝癌組織におけるmodulator蛋白の顆粒分画から可溶分画への局在変位は，この組織におけるmodulator蛋白のcyclic GMP-PDEへの関与をより強固にするものである。換言すれば，この肝癌組織においては，cyclic GMPの加水分解のために，

PDE自身のCa^{++}及びmodulator蛋白への感受性の変化と，modulator蛋白の顆粒分画から可溶分画への移行をしていると考えられる。又，このmodulator蛋白が他の多くのCa^{++}依存性酵素活性及びtubulinの脱重合，分裂装置の形成等のCa^{++}依存性生理機能に関与していることを考え合わせると，肝癌組織でのmodulator蛋白の局在変位はPDE活性の調節以外に直接，間接に細胞分裂に関与している可能性がある。

論文の審査結果の要旨

Morris実験肝癌においてphosphodiesteraseの活性，isozymeの変動，Ca^{++}とmodulator蛋白への感受性の変化，及びmodulator蛋白の顆粒分画から可溶分画への局在変位を認めたことは，肝癌組織におけるcyclic nucleotideの動態及びCa^{++}の細胞内mediatorとしてのmodulator蛋白の生理機能を明らかにしたもので，学位を授与する価値のあるものである。