

Title	ラットCIエステラーゼインヒビターに関する研究
Author(s)	神田, 敬夫
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33284
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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)	神 田 敬 夫
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 6 0 5 号
学位授与の日付	昭和 57 年 3 月 25 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	ラットCIエステラーゼインヒビターに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 藤井 節郎 (副査) 教授 熊原 雄一 教授 中川 八郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

各種疾患における血中蛋白分解酵素及びそのインヒビターの変動を検索することは、病態の生化学的解析及び診断上極めて重要である。従来より、癌を含む各種疾患における急性期反応物質として、種々の血中蛋白分解酵素インヒビター、すなわち、 $\alpha 1$ アンチトリプシン、 $\alpha 1$ アンチキモトリプシン、C 1 エステラーゼインヒビターなどが挙げられている。しかしながら、これらインヒビターの変動について、広範囲な炎症と癌との間に明確な差異が認められていない。そこで、今回種々血中蛋白分解酵素の新しい基質であり、極めて高い感度を示す、 α -naphthylester (α -NE) 誘導体を用いて、種々実験炎症及び担癌ラット血中における各インヒビターとくに、C 1 エステラーゼインヒビターの動態について明らかにすべく実験を行なった。

〔方法〕

各種疾患モデルとして、クロトン油炎症の場合は、ラット背部皮下に20mlの空気嚢を作成し、24時間後、1%クロトン油を1ml注入した。また、担癌モデルとしては2種類の実験腫瘍を用いた。すなわち、吉田肉腫の場合は、ラット腹腔内で継代移植している細胞を用い、腹水型としては 2×10^7 個の細胞を腹腔内に移植し、固形型としてはラット背部皮下に移植した。AH-130の場合は継代移植した細胞をラット腹腔内に移植し作成した。また、肝切除ラットは、エーテル麻酔下で肝臓を約2/3切除し、48時間後のものを用いた。なお、ラットは全てドンリュウ系雄性ラット(150~200g)を用いた。

各種血中インヒビターの定量については、C 1 エステラーゼインヒビターの場合は、酵素としてラ

ット C1 エステラーゼ，基質として Ac-Tyr- α -NE を用い，アンチスロンビンⅢの場合は酵素としてヒトスロンビン，コファクターとしてヘパリン，基質として Bz-Leu-Ala-Arg- α -NE を用いた。抗トリプシン活性は，酵素としてウシトリプシン，基質として Tos-Lys- α -NE を用いた。試料血清は 1 m MDFP で処理し，50mM リン酸緩衝液(pH 7.0) で透析後を用いた。C1 エステラーゼインヒビターの質的検索については，試料血清を密度勾配等電点電気泳動法を用いて分画することにより行なった。ラット血清 C1 エステラーゼインヒビターの精製は，ラット血清の pseudoglobulin 分画より，40~60% 硫酸塩析，DEAE-セルロース，ハイドロキシルアパタイト，ヘパリンセファロースと順次用いて行なった。

〔成績〕

クロトン油炎症の場合，各種インヒビターのうち，C1 エステラーゼインヒビター活性が炎症惹起後 1 日目より上昇し，7 日目において正常群と比較して，約 2 倍の上昇を示した。また，アンチスロンビンⅢ及びトリプシンインヒビター活性については顕著な差異が認められなかった。一方，腹水型並びに固形型吉田肉腫の場合は，クロトン油炎症の場合とほぼ同様に C1 エステラーゼインヒビターのみ，正常群と比較して，移植後 1 日目に約 2 倍の活性の上昇が認められた。AH-130 の場合は移植後 20 日目に C1 エステラーゼインヒビター活性の上昇を認めた。また，正常ラットについて肝切除を行なうと，C1 エステラーゼインヒビター活性は約 1/10 に低下するが，アンチスロンビンⅢ活性については約 1/2 の低下しか認められなかった。

各種疾患における C1 エステラーゼインヒビターの等電点分画の結果では，正常ラットでは pI 4.73 に 1 本のピークを示したのに対し，クロトン油炎症では pI 4.54，6.0 に 2 本のピークが認められた。一方，腹水型吉田肉腫においては正常ラット群と同様に pI 4.81 に 1 本のピークが認められた。さらに，これらの血清をノイラミニダーゼ処理すると，いずれの血清についても，pH 8.3~8.9 への等電点の移動が認められた。なお，精製した C1 エステラーゼインヒビターのノイラミニダーゼ処理前後の等電点は正常血清の場合と同様であった。

〔総括〕

α -naphthylester 誘導体を基質として用いることにより，血中における各種インヒビターの微量定量法を新たに開発した。これらの基質を用いた以上の成績より，従来腫瘍マーカーとしての可能性が論じられている C1 エステラーゼインヒビターは広範囲な炎症時においても上昇することが認められた。しかし，等電点分画による質的な検索を行なった動物実験の結果では，炎症時に 2 本，担癌では 1 本のピークと，明らかな相違が認められた。さらに，ノイラミニダーゼ処理の結果は，これらの差異が糖鎖の違いによるものであることを示している。

論文の審査結果の要旨

本論文は，新しい合成基質 Acetyl-tyrosine- α -naphthylester(ATNE)を用い，ラット各種疾患モ

デルにおける C1 エステラーゼインヒビターの変動について検討した。本インヒビターの量的変動は、癌及び炎症の両疾患において、正常と比較し上昇が認められたが、癌と炎症においては量的差異は認められなかった。一方、等電点電気泳動法を用いての質的検索において、正常と癌ではpI 4.7付近に1つのピークが認められ、炎症ではpI 4.5と 6.0付近に2つのピークが認められた。ノイラミニダーゼ処理により、等電点がアルカリ側へ偏位する成績から、等電点の差異はシアル酸含量の差によるものと推測された。

本論文はラット C 1 エステラーゼインヒビターに関する多くの新知見を得ており、学位論文として価値あるものと認める。