The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	肝由来トリグリセリドリパーゼの研究
Author(s)	久保, 正治
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33429
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

【24】

氏名・(本籍)	久保正治（くぼ まさ はる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5764 号
学位授与の日付	昭和57年7月29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	**肝由来トリグリセリドリパーゼの研究**
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 田中 武彦　教授 山野 俊雄

論文内容の要旨

〔目　的〕

Heparin 静注後に血中へ遊出して来るリパーゼには，末梢組織由来の Lipoprotein Lipase(LPL) と，肝由来の Hepatic Triglyceride Lipase (H-TGL) が有る事は既に知られた事実である。LPL の生理的意義については，LPL 欠損症やLPL の活性化因子である apolipoprotein C-Ⅱ欠損症が高カイロミクロン血症を呈する事から，外因性の中性脂肪の分解に関与している事が明らかである。しかし H-TGL に関してはその欠損症の報告もなく生理的意義が明らかでない。本研究は，H-TGL のこれらの問題を解明するため，酵素学的に H-TGL の性質を検討したものである。

〔方法ならびに成績〕

1．Hepatic Triglyceride Lipase の精製

健康成人男性に Heparin を静注し，10分後に採血して postheparin plasma を得てheparin-Sepharose のaffinity column により精製した。

2．各リポ蛋白分画の調製

健康成人から早朝空腹時に採血した血清を超遠心分離にて，Very Low Density Lipoprotein (VLDL), Intermediate Density Lipoprotein (IDL), Low Density Lipoprotein (LDL), High Density Lipoprotein (HDL), Lipoprotein free fraction (d>1.21 fraction) を分画し，0.1 M Tris-HCl (pH9.0) で透析した。

3．Apolipoprotein A-I, A-Ⅱの精製

超遠心分離にて得た HDL を脱脂して得た apo HDL を Sephadex G-200 を用い，6 M尿素を

含むVeronal buffer でゲル濾過を行なってapo A-I, A-Ⅱを精製した。apo A-Ⅱについては，apo A-Ⅰの混入をのぞくためにゲル濾過をくりかえして行なった。精製したapo A-Ⅰ，A-Ⅱは SDSポリアクリルアミド電気泳動で単一バンドを示した。

4．Hepatic Triglyceride Lipase 活性の測定

ヤシ油から得られた中性脂肪（Ediol）又は[^{14}C] Triolein を基質とした系を使用した。前者はDole の方法に従って遊離脂肪酸を測定し，後者はBelfrage の方法に従って遊離した脂肪酸を抽出し液体シンチレーションカウンターで測定し，酵素活性とした。

5．血清成分によるH-TGL活性の抑制

従来からの報告どおりH-TGL活性は全血清の添加により抑制を受けた。そこで超遠心分離にて得た血清の各分画，VLDL, IDL, LDL, HDL, d＞1.21 fraction, による影響をみた。いずれの分画も軽度の活性抑制効果を示したがその程度は血清よりはるかに弱いものであった。しかしHDLとd＞1.21 fraction を同時に添加すると著明な抑制がおこり血清の抑制効果を再現した。

6．Apolipoprotein A-Ⅰ，A-ⅡによるH-TGL活性の抑制

apo A-Ⅰ，A-Ⅱ共にH-TGL活性を抑制し，その程度はapo A-Ⅱの方が強かった。添加蛋白量の変化に伴う抑制効果は両者共，160μg/mℓまでは軽度であるがそれ以上では強かった。また apo A-Ⅰ，A-Ⅱによるこの抑制効果は基質量が多いと弱く，少ないと強い傾向があり，Inhibitor であるapo A-Ⅰ，A-Ⅱ，が基質であるTriolein と何らかの相互作用をもって出現する現象である事を示唆した。apo A-Ⅰ，A-Ⅱ，がTriolein particle と結合するか否を検討すると両者ともある飽和点をもって結合した。そこで，apo A-Ⅰ，A-Ⅱがある解離定数(Kd)でTriolein particle の表面に結合し，結合したapo A-Ⅰ，A-ⅡがH-TGL のTriolein への作用をさまたげて抑制効果を発現させていると仮定した。この仮定を計算式で表現し，種々の基質濃度におけるH-TGL活性を種々のapo A-Ⅰ，A-Ⅱの添加量で検討した抑制実験のデータをもとに，解離定数，結合蛋白量を計算すると，結合実験の結果と良く一致した。この事よりapo A-Ⅰ，A-Ⅱ，のH-TGL活性抑制作用は，これらのアポ蛋白がTriolein particle に結合しH-TGLの作用をさまたげる事によりおこる現象である事が明らかになった。

〔総　括〕

1．Hepatic Triglyceride Lipase が血清により抑制を受けるのは主にHDL とd＞1.21 fraction によるものである。

2．HDLの主要アポ蛋白であるapo A-Ⅰ，A-ⅡはHepatic Triglyceride Lipase 活性を抑制し，その程度はapo A-Ⅰよりapo A-Ⅱの方が強かった。これらのアポ蛋白による活性抑制の機作は，基質であるTriolein particle の表面にアポ蛋白が結合しH-TGLが作用できなくなる事によるものである。

論文の審査結果の要旨

本研究は，未だ充分な分析が行われていない肝由来トリグリセリドリパーゼをとり上げ，その酵素の性質，阻害因子の存在を明らかにした。すなわち，apo A-Ⅰ，A-Ⅱがこの酵素活性を抑制するという事実と，その抑制のメカニズムとして基質にapo A-Ⅰ，A-Ⅱが結合しておこる現象である事を見い出し，この肝由来トリグリセリドリパーゼについて特異な調節機構の存在する事を示した点で学位論文に値すると考える。