

Title	口腔扁平上皮癌におけるジペプチジルペプチダーゼIVの酵素偏倚について
Author(s)	小松, 正隆
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34729">https://hdl.handle.net/11094/34729</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	こ	まつ	まさ	たか
	小	松	正	隆
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	6627	号	
学位授与の日付	昭和59年10月17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	口腔扁平上皮癌におけるジペプチジルペプチダーゼIVの酵素偏倚について			
論文審査委員	(主査)			
	教授	宮崎	正	
	(副査)			
	教授	鈴木不二男	教授	作田 正義 助教授 石田 武
	講師	柴田	聡明	

論 文 内 容 の 要 旨

1966年、Hopsu-HavuとGlennnerはグリシル-プロリル-β-ナフチルアミドをプロリンのカルボキシ末端で加水分解する酵素を腎に発見した。その後、肝、腎、顎下腺、小腸などから本酵素の精製と、酵素化学的性質の研究が進み、ジペプチジルペプチダーゼ(DPP)IV(EC.3.4.14.5)と分類された。

血清中の本酵素活性は肝障害時に上昇するが、近年、本酵素活性が肝癌を除く数種の癌患者血清では逆に有意に低下し、病態をよく反映していることが報告され、担癌のmarker enzymeとして注目されつつある。

そこで本研究は、口腔癌患者血清中のDPPIV活性の変化を検索するとともに、扁平上皮癌培養細胞における同酵素の偏倚を解析することにより、本酵素が、口腔癌の診断および予後追求の1指標となる可能性を明らかにしようとしたものである。

供試血清は口腔扁平上皮癌患者の1次症例より得た32検体および対照群として年令、性別の一致した健常人血清28検体を用いた。培養細胞としてはヒト扁平上皮癌由来のHeLa, KB, K-44細胞, シリアンハムスター腎由来のBHK細胞を用いた。正常細胞としては、ヒト口腔粘膜より得た初代線維芽細胞(HF)および上皮細胞(HE)を用いた。これら細胞は20%仔牛血清添加のイーグルMEM培地で培養した。血清中DPPIV活性の測定には人工基質Gly-Pro-パラニトロアニリド(pNA), 培養細胞のDPPIV活性測定には蛍光により一層高感度で測定できるGly-Pro-メチルクマリンアミド(MCA), 血清中および培養細胞中のDPP II活性の測定にはLys-Ala-β-ナフチルアミド(βNA)を用い、比色または蛍光測定した。

その結果、口腔扁平上皮癌患者の血清中DPPIV活性は $30.0 \pm 9.3$  (IU/1 serum)で、対照健常人の

43.2 ± 7.3 に対し、有意 (P < 0.001) に低値であった。さらにUICCのstage分類可能な22症例について、酵素活性とstage進行度を比較するとstageの進行に伴って活性が低下する傾向を示し、担癌宿主の血清中DPP IV 活性が腫瘍の消長を反映していることが示唆された。

このことは、KB細胞により形成されたヌードマウス腫瘍、BHK細胞により形成されたハムスター腫瘍という異種または同種移植の動物実験系においても、腫瘍重量の増加にしたがって血清中DPP IV 活性が曲線相関々係をもって有意に低下していることから支持された。

この酵素変化の機序を検索するためにまずヒト扁平上皮癌組織、培養癌細胞、または癌患者血清中にDPP IVの抑制物質が存在するか否かを各々の抽出液あるいは血清と正常血清を反応させ検索したが正常血清中のDPP IV活性は抑制されなかったため、次に癌組織における酵素偏倚の有無を培養癌細胞を用いて検討した。K-44およびKB細胞は、対照としたHF細胞に比べDPP IV比活性が1/4以下に低下したが、酵素の細胞内局在および至適pHの検討から、逆にGly-Pro-MCAの加水分解に対して酸性領域に至適 pHをもつリゾーム酵素の比率が増加していることが示唆された。そこでセファデックスG-200を用いたゲル濾過法により酵素の分離を行うと、HF細胞には、ピークA (MW=40 × 10<sup>4</sup>)、ピークB (MW=23 × 10<sup>4</sup>)、ピークC (MW=10 × 10<sup>4</sup>)の3つのGly-Pro-MCA加水分解酵素活性が検出されたのに対し、癌細胞群はいずれもピークCしか検出されなかった。至適pH、ConAへの吸着、抗ヒトDPP IVとの結合、基質特異性を検討した結果、ピークBがDPP IV、ピークCがLys-Ala-β NA加水分解活性を示しDPP IIと判明した。DPP IIはリゾーム酵素で容易に血清中に遊出することから、癌患者血清中Lys-Ala-β NA加水分解活性を測定すると5.3 ± 2.9 (IU/1 serum) で対照健康人の1.4 ± 1.2 に対し、有意 (P < 0.001) に高値であった。

以上の結果から、血清中DPP IV活性の低下あるいはLys-Ala-β NA加水分解活性の上昇が、担癌のパラメーターとして有用であり、癌細胞における酵素偏倚が、それらの酵素変化の一因であることが強く示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、口腔癌患者血清中のジペプチジルペプチダーゼ (DPP) IV活性の変化を検索するとともに、扁平上皮癌培養細胞における同酵素の偏倚を解析することにより、本酵素が口腔癌診断および予後追求の1指標となる可能性を明らかにしようとしたものである。

口腔扁平上皮癌患者の血清中DPP IV活性は、対照健康人に比べ有意に低値であり、また癌の進展度に伴って活性が低下する傾向を示し、担癌宿主の血清中DPP IV活性が腫瘍の消長を反映していた。このことは、異種および同種移植の動物腫瘍実験系においても明らかにされた。酵素変化の機序を培養癌細胞を用いて検索した結果、正常細胞と異なり、癌細胞には、DPP IV活性はほとんど検出されず、代ってDPP IIと考えられるLys-Ala-β NA加水分解活性が増加していた。そこで、癌患者血清中のLys-Ala-β NA加水分解活性を測定したところ、健康人のそれより有意に上昇し、病勢を反映して変動している

ことが明らかとなった。

以上の結果から、血清中DPPIV活性の低下あるいはLys-Ala- $\beta$  NA加水分解活性の上昇が担癌のパラメーターとして有用であることが示唆された。本研究によって得られた知見は、癌の血清学的診断において重要な意義を与えるものであり歯学博士の学位に十分値するものと認める。