

Title	ラット肝および腎の可溶性画分に存在するAcetyl-CoA Hydrolase活性の種々の代謝条件下における変動と、その生理的意義の解析
Author(s)	松永, 高晴
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34965
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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)	まつ 松	なが 永	たか 高	はる 晴
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6952	号	
学位授与の日付	昭和60年7月4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	ラット肝および腎の可溶性画分に存在するAcetyl-CoA Hydrolase 活性の種々の代謝条件下における変動と、その生理的意義の解析			
論文審査委員	(主査) 教授	坂本 幸哉		
	(副査) 教授	田中 武彦	教授	田川 邦夫

論文内容の要旨

(目的)

ラット肝可溶性画分に存在するAcetyl-CoA hydrolaseはほぼ単一までに精製され、その生化学的性質が明らかにされてきたが、生理的役割に関しては殆どわかっていない。そこで、本酵素の生理的意義を解明する一環として、ラットを諸種の代謝条件下で飼育し、酵素活性の変動を調べることにより、本酵素がいかなる代謝過程に関与し、どの様な役割を果たしているかを検討した。また本酵素の臓器分布および肝ミトコンドリア酵素との異同を生化学的・免疫化学的に検討した。

(方法ならびに成績)

1) Prass等は本酵素活性は絶食で肝湿重量当たり約2倍上昇するが、これは絶食による肝重量の減少によるためであろうと報告した。この点をまず検討してみると、絶食で活性は肝湿重量、肝蛋白量、DNA量当たりでも有意に上昇していた。即ち、酵素活性の上昇は肝重量の変化による二次的なものではない事が推測された。

2) 本酵素の臓器分布を調べてみると、肝臓以外に腎臓にのみ活性が認められた。肝臓の約1/20であった。この腎酵素も絶食で約2倍の活性上昇を認めた。DEAE-セルロース・カラムクロマトグラフィーで腎酵素の部分精製を試み、約8倍の比活性を持つ酵素を得た。この酵素は肝酵素と同様に低温下で失活し、2 mM ATP添加で活性化され、2 mM ADPで完全に阻害された。Acetyl-CoAに対する親和性も肝酵素と類似していた。

3) 肝臓の本酵素を精製単一化し、家兎に注射して抗体を作成した。この抗体は本酵素活性を阻害(80%)するのみならず、部分精製した腎酵素活性も同程度阻害した。オクタロニー二重拡散法を用い

て検討すると、肝臓と腎臓の各酵素と抗体間に生じた沈降線は一本であり互いに融合していた。これらの事より肝臓と腎臓の可溶性画分に存在する酵素は免疫化学的に非常に類似したものである事が示唆された。

4) ラット肝可溶性画分と肝ミトコンドリア画分に存在するAcetyl-CoA hydrolaseの異同を検討した。可溶性画分の酵素とは異なりミトコンドリア画分の酵素はスクレオタイドによる制御を受けず、可溶性画分の酵素に対する抗体によっても活性は阻害されず、オクタロニー二重拡散法において沈降線は認められなかった。従って両者は互いに異った酵素蛋白である事が推測された。

5) ラット肝可溶性画分に存在するAcetyl-CoA hydrolase活性は脂肪酸の酸化が亢進している状態、即ち絶食、糖尿病（ストレプトゾトシン投与）、抗高脂血症剤であるクロフィブレート（ α -(*P*-chlorophenoxy) isobutyric acid, 以下CPIBと略す）投与時に1.6～2倍に上昇していた。

6) 種々の代謝系を亢進させると考えられている甲状腺ホルモン投与によっても約2倍の肝可溶性画分酵素活性の上昇が認められた。甲状腺摘除ラットでは本酵素活性は低下した（正常の約60%）。甲状腺摘除ラットにCPIBを投与しても酵素活性の上昇は認められず、甲状腺摘除ラットと同様の低値を示した。CPIB投与による活性上昇には甲状腺ホルモンが必須である事が推測された。

7) 脂肪酸合成が亢進している代謝状態での肝可溶性画分酵素の活性変動を検討した。ラットを絶食後、低脂肪・高炭水化物食で再給餌すると本酵素活性の上昇が認められた。

以上の結果を総合すると、本酵素は脂肪酸の酸化や合成といった様な相異った代謝の状態で、その活性が上昇しているという非常にユニークな酵素であった。

8) 肝酵素活性の上昇が酵素蛋白の増加を伴っているか否かを酵素的免疫化学法（ELISA法）を用いて検討した。絶食、糖尿病、甲状腺ホルモン投与、およびCPIB投与によって認められた本酵素活性の上昇は全て酵素蛋白の増加を伴っていた。

9) 蛋白合成阻害剤であるサイクロヘキシミドまたはアクチノマイシンDをCPIBまたは甲状腺ホルモンと同時に投与すると、CPIBまたは甲状腺ホルモン投与による本酵素活性の上昇は完全に阻害された。この事より本酵素活性の上昇が、主として酵素蛋白の合成増加によるものである事が推測された。

（総括）

1) ラット肝可溶性画分に存在するAcetyl-CoA hydrolase活性は脂肪酸の酸化亢進時（絶食、糖尿病、抗高脂血症剤投与）および脂肪酸合成亢進時（低脂肪・高炭水化物食による再給餌）という相反した代謝の状態で上昇していた。最近、脂肪酸の酸化や合成時にCoASHがそれらの調節に重要な役割を果たしている事が知られてきた。従って本酵素の生理的役割はAcetyl-CoAを加水分解してCoASHを産生する事により、細胞質内のCoASHプールを調節し、脂肪酸の酸化や合成の代謝を調整している事が推定された。

2) 甲状腺ホルモン投与により本酵素活性の上昇が認められ、甲状腺摘除ラットでは活性が低下していた事より、本酵素活性は甲状腺ホルモンによっても制御されている可能性が推測された。これは更に、その薬理作用上甲状腺ホルモンが必須とされるCPIBを投与しても本酵素活性が上昇したので甲状腺ホルモンが本酵素活性の制御に重要な役割を担っている事を示唆している。

3) 本酵素活性の上昇は酵素蛋白の合成増加を伴っていた。

4) 肝臓以外では腎臓の可溶性画分にのみATPで阻害される本酵素活性が認められたが、肝臓の約1/20であった。腎酵素活性も絶食により約2倍の上昇を認めた。肝臓と腎臓の酵素は免疫化学的・生化学的に区別できず非常に類似したものであった。しかし、肝ミトコンドリアの酵素とは明らかに異っていた。

論文の審査結果の要旨

本論文は近年ラット肝可溶性画分に発見されたATPで活性化され、ADPで阻害されるAcetyl-CoA Hydrolaseの生理的意義解明を目的としている。本酵素は脂肪酸酸化や合成といった代謝状態で誘導されるユニークな特徴を有し、それら代謝調節に重要な役割を持つCoASHプール維持に関与している事を明らかにした。更に本酵素が肝臓に局在する事を生化学的・免疫学的に明らかにしており、今後の臨床的応用が期待される独創的な発展性のある研究であり、高く評価出来る。