

Title	血中におけるアクチンの結合様式及び死体血中アクチンの定量
Author(s)	大澤, 資樹
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36048
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)	おお 大	さわ 澤	もと 資	き 樹
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8601	号	
学位授与の日付	平成元年3月24日			
学位授与の要件	医学研究科社会系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	血中におけるアクチンの結合様式及び死体血中アクチンの定量			
論文審査委員	(主査) 教授	若杉 長英		
	(副査) 教授	祖父江憲治	教授	田川 邦夫

論文内容の要旨

〔目的〕

血清蛋白であるGc (group-specific component) は、アクチンと結合する性質を持っている。このGcが死体血を用いた免疫電気泳動において陽極側に変位する現象が以前より報告されており、これはアクチンが死後血中に放出されGcと複合体を形成することによって生じることが解明されてきた。また臨床における激症肝炎、重症妊娠中毒症の症例や、ラットを用いた実験におけるアセトアミノフェンによる肝細胞壊死でアクチンが血清中に出現してくることが報告されている。しかし血清にはもう一つ別の高親和性アクチン結合蛋白であるゲルソリンも含まれており、血清中におけるアクチンの結合様式は充分には解明されていない。そこで、まず immunoblotting の技法を用い、血清中におけるアクチンの結合様式を調べた。さらにGc-アクチン複合体がDNase Iと3重複合体を形成することを利用し、酵素免疫測定法により血清中アクチンの定量法を開発し、これを死体血に応用した。最後にこれらアクチンの isoformを決定することによりその由来を推定した。

〔方法ならびに成績〕

アクチン、Gc、ゲルソリンの各抗体を兔にて作成し、G-ないしF-アクチンを添加した血清(4 μ l/lane)をSDSを含まない5-20%ポリアクリルアミド電気泳動にて分離し、ニトロセルロース膜に転写し、3抗体のいずれかを、さらにパーオキシダーゼ標識化第2抗体を作用させ、その結合様式を調べた。G-アクチンが血清に添加された場合、アクチンはGcと優先的に結合してゆき、0.35 mg/mlですべてのGcが複合体を形成し、その後ゲルソリンと結合し始め0.45 mg/mlですべてのゲルソリンが複合体を形成したのち、これ以上に過剰のアクチンは結合蛋白を持たずに存在している。F-アクチンの場合、

アクチンはGcとゲルソリンの両者とおおむね等しい割合で結合してゆき、ゲルソリンとGcは各々0.25, 0.45 mg/mlですべてが複合体となり、これ以上に過剰のアクチンはG-アクチンの場合と同様に結合蛋白を持たずに存在している。さらに、0.25 mg/mlの濃度にてF-アクチンを血清に添加した場合の時間的経過を追ってゆくと、添加後20分よりゲルソリン-アクチン1対2複合体からGcがアクチン1分子を奪い、ゲルソリン-アクチン1対1複合体が形成されてゆく。

血清中アクチンの定量法として、DNase Iをポリスチレンビーズに固相化し、試験管内で検体、さらにパーオキシダーゼ標識化Gc抗体を反応させ、蛍光測定にて酵素免疫測定法を行なった。検出感度は5 ng/tube (0.12 pmole)であった。健康成人8例においては数値の上昇を認めなかったのに対し、死体血37例では数値の上昇を認めないものから140 mg/lと高値をとるものまで様々あり、平均51±34 mg/lであった。死後経過時間との相関では、ばらつきが大きく相関係数は0.11と低い数値しか得られなかった。

アクチン量の多い4検体を用いて尿素を含むポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動 (pH 4-6.5)を行なうが、 β , γ -型を認めるのみであった。このことは、これらアクチンが血液細胞の崩壊により生じている可能性があることを示唆している。

〔総括〕

血清中におけるアクチンの結合様式を明らかにすると共に、血清中に放出されたアクチンの大部分が最終的にはGcと複合体を形成する現象を利用し、Gc-アクチン複合体としてGc抗体を用いてアクチンを定量する方法を開発した。これを死体血に応用し、有意の上昇を認めた。さらにこれらアクチンが血液細胞の崩壊により生じている可能性があることを示した。

論文の審査結果の要旨

血清中におけるアクチンの結合様式を次のように明らかにした。

1. G-アクチンはGcと優先的に結合する。
2. F-アクチンはGcとゲルソリンとおおむね等しい割合で結合し、さらに非結合状態のGcがゲルソリン-アクチン1:2複合体からアクチン1分子を奪う。

次に、血清中に放出されたアクチンの大部分が最終的にはGcと複合体を形成する現象を利用し、DNase Iを固相化、酵素標識化Gc抗体を用いて血清中アクチンを定量する酵素免疫測定法を開発した。この方法を用いて死体血中アクチンを定量し、有意の上昇を認めた。さらにこれらアクチンが血液細胞の崩壊により生じている可能性があることを推定した。

以上の結果は法医学的に重要な意味のある業績と考える。