The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	哺乳動物のドーパ脱炭酸酵素とヒスチジン脱炭酸酵素の発生学的検討
Author(s)	竹歳, 真人
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36071
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

【9】

氏名・(本籍)	竹(たけ) 歳(とし) 真(まさ) 人(と)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8579 号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**哺乳動物のドーパ脱炭酸酵素とヒスチジン脱炭酸酵素の発生学的検討**
論文審査委員	(主査) 教授 田川 邦夫 (副査) 教授 和田 博 教授 岡本 光弘

論文内容の要旨

〔目的〕

ドーパ脱炭酸酵素（DOPA decarboxylase：EC 4. 1. 1. 28以下DDCと略す）は芳香族L－アミノ酸のDOPA（3，4－dihydroxyphenylalanine），5－hydroxytryptophanなどを基質として脱炭酸反応によりそれぞれドーパミン，セロトニンなどの生体アミンを生成する。一方ヒスチジン脱炭酸酵素（histidine decarboxylase：EC 4. 1. 1. 22 以下HDCと略す）はヒスチジンからヒスタミンを合成する酵素である。この両酵素は抗ラットHDC抗体がラットDDCとは反応しないが，変性したモルモットDDCを認識する事からラットHDCとモルモットDDCは一部共通構造を持っていると考えられる。そこで，DDCとHDCを比較検討するため両酵素のOntogenyについて調べると共に，ラット肝臓での両酵素の免疫組織化学的および分子生物学的な検討を試みた。

〔方法ならびに成績〕

1）出生前後におけるDDC，HDCの活性変化

妊娠15～20日のWistar系ラット胎児および出生後1日目，3日目，5日目，10日目，30日目ラットの肝臓におけるDDCおよびHDC両酵素の活性を測定し，活性の経日的変化を調べた。HDC活性はサンプルにヒスチジンを，DDC活性はサンプルにL－DOPAを加え反応後生成されたヒスタミンおよびドーパミンを測定する事によりもとめた。その結果，両酵素は胎生18日目をピークとする急激な活性上昇を示した後，DDCでは出生後，一度活性の低下ののち再び上昇し，成熟肝での活性に達するのに対し，HDCでは活性低下が見られた。

2）出生前後における両酵素の同一性

上記酵素活性の差異が認められたので胎生期と出生後の両酵素について各々同一の免疫化学的，酵素学的性質を有するか否かを検討した。各々の抗体を用いて調べた結果，胎生期と出生後では両酵素は同一の抗原性を有し，酵素学的にも差異はなかった。

3）肝臓と胎児血球中におけるDDC，HDCの活性変化の相同性

肝臓は胎生期には造血を行なっている。そこで肝臓でDDCとHDCを発現している細胞が骨髄系の細胞と関係する可能性が考えられたので肝臓でのDDC，HDCと胎児血球中の両酵素の出生前後における活性変動を比較検討した。その結果，血球中のHDC活性は胎生18日をピークとして肝臓のHDCと全く同じパターンを示し，肝臓でHDCを発現している細胞が骨髄系細胞である事が考えられた。一方，血球中DDC活性は胎生期には肝臓DDCと同様な変動を示すが，出生後に肝臓DDC活性が再び上昇するのに対し，血球中DDCは活性が著明に低下した。胎生期の肝臓でDDCを発現している細胞は骨髄系の細胞であるが，出生後は異なる細胞によることが示唆された。

4）胎児肝臓と成熟肝臓におけるDDC，HDCの免疫組織化学

胎生18日目のラット肝臓と成熟ラット肝臓を抗ラットDDC抗体と抗ラットHDC抗体を用い免疫組織化学的検討を行った。胎児肝を抗ラットDDC抗体および抗ラットHDC抗体で各々反応させると同様に島状に染まるのに対し，成熟ラット肝では抗ラットDDC抗体と反応させた場合，肝細胞が染色された。しかし，成熟肝では抗ラットHDC抗体と反応する細胞は認められなかった。この結果，成熟肝におけるDDCは新しく肝細胞で誘導されるものと考えられる。

5）出生前後でのラットDDCmRNAの同一性

出生前後におけるDDCの同一性をmRNA上で調べるため，ラット胎児肝と成熟肝からRNAを精製し，すでに当研究室でクローニングしたラット肝DDC c DNAをプローブにしてノーザンブロッティングを行った。胎児肝でも成熟肝の場合と同じ大きさのバンドを検出し，細胞の異なる可能性があるにかかわらず，同一の遺伝子が発現されているものと考えられる。

6）モルモットDDCのc DNAクローニング

DDCの一次構造を比較検討するため，ラットDDC c DNAをプローブとして，λgt 11をベクターとしたモルモット腎臓c DNAライブラリー約50万個をスクリーニングした結果2個のクローンについて塩基配列を解析した。その結果，ラットDDCの塩基配列と著しい相同性が認められた。

〔総括〕

1）ラット胎児肝において，DDCとHDCが同様のパターンで活性の増加を示したが，出生後はHDC活性は殆どなくなりDDC活性は再び上昇した。

2）胎生DDCと成熟HDCは蛋白化学的に同一酵素である事が示された。

3）胎生期には骨髄系と思われる細胞にDDCとHDC両酵素が発現しているが，出生に伴ないそれらの細胞が消滅してゆきそれまでのDDC活性とHDC活性は低下する。しかし，出生後からの肝臓DDCは肝細胞に発現していることが示された。

4）モルモットDDCの一次構造を調べ，ラットDDCの一次構造と比較検討した。

論文の審査結果の要旨

ドーパ脱炭酸酵素（DDC）は芳香族L－アミノ酸を基質としてそれに対応する生体アミンを生成する。一方，ヒスチジン脱炭酸酵素（HDC）はヒスチジンからヒスタミンを合成する酵素である。抗ラットHDC抗体が変性状態にあるモルモットDDCを認識することから両酵素は一部共通構造を有している可能性が示唆されていた。本研究では，DDCとHDCを比較検討するため，種々の方法により両酵素を発生学的に調べたところ，ラット胎児肝臓では同一肝細胞で発現していた。また，両酵素の出生前後の活性変化を調べると，胎児肝臓DDCおよびHDCは類似の活性パターンを示し，出生に近づくにつれ活性が著明に低下するが，DDCのみ出生後再び活性が上昇して成熟肝臓DDC活性の水準にまで達することが明らかになった。さらにラット肝臓DDC c DNAをプローブとしてモルモット腎臓c DNAライブラリーをスクリーニングしモルモットDDCの一次構造を決定した。以上の成果は今後のアミノ酸脱炭酸酵素の発生学的研究に有効な資料を提供するものと考えられ学位に値するものと認められる。