

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的検討
Author(s)	竹歳, 真人
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36071">https://hdl.handle.net/11094/36071</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

## 【9】

氏名・(本籍)	たけ 竹	とし 歳	まさ 真	と 人
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8 5 7 9	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 DDC mRNA 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もかかわらず、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、 $\lambda$ gt 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 cDNA をプローブとしてモルモット腎臓 cDNA 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。