The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	リソゾームに局在する酸性コレステロールエステラーゼの酸素特性に関する研究
Author(s)	田中, 満男
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37721
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

【 7 】

氏　　名	田　中　満　男（たなかみつお）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　9894　号
学位授与年月日	平成3年9月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	**リソゾームに局在する酸性コレステロールエステラーゼの酵素特性に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教授　近藤　雅臣 （副査） 教授　真弓　忠範　教授　馬場　明道　教授　三村　務

論文内容の要旨

Acid cholesteryl ester hydrolase（Acid CEH）は広く各組織のリソゾームに局在し酸性領域に至適ＰＨを持つ cholesteryl ester 加水分解酵素で脂質代謝と深いかかわりを持つことが知られている。特に，Gold - stein とBrown らによるＬＤＬpathwayにおける Acid ＣＥＨの役割あるいは Small によるAcid ＣＥＨの低下に伴うcholesteryl ester の蓄積等の発見は Acid ＣＥＨの生体内での重要性を高めるものである。

近年，本酵素の精製や理化学的性質，ホルモンによる活性の変動，さらに，本酵素の欠損症（Wolman）などの報告もなされている。

しかしながら，本酵素の生理的状態での諸性質に関しては不明な点が多く，本酵素の生体内における調節機構を明らかにすることは cholesterterol を含めた脂質の異常蓄積の解明にとって重要であると考える。

そこで，本研究は本酵素の生理的条件下による諸性質ならびに調節機序をより詳細に検討し，以下の結果を得た。

本酵素は各臓器のリソゾームに局在し，ＰＨ4.5 - 5.0の酸性領域に至適ＰＨを持ち，C_6 - C_{12} の中鎖脂肪酸エステル（エステラーゼ活性）ならびにC_{14} - C_{20} の長鎖脂肪酸エステル（リパーゼ活性）を加水分解する酵素であった。また，本酵素は trypsin 処理によりリパーゼ活性は顕著に低下したのに対してエステラーゼ活性には全く影響は認められなかった。したがって，本酵素には水溶性および脂溶性の両基質を加水分解する共通の触媒部位と脂溶性基質に対する脂質界面認識部位の存在が示唆され，Shirai ら[88]）の報告による肝トリグリセリドリパーゼと類似した性質を認めた。

一方，本酵素は食事の摂取が同調因子となる明らかな日内変動と成長に伴う変動が観察された。し

かも，成長に伴う変動に性差が認められることから，この変動には性ホルモンの関与が充分に考えられるとともに，老年現れてくる高 cholesterol 血症ひいては動脈硬化症は本酵素活性の加齢に伴う低下が影響してくることも示唆された。

次に，本酵素の生体内での調節機序を明確にする目的で，本酵素活性に対する脂肪酸の影響について検討したところ，in vitro 系において，本酵素活性は種々の脂肪酸によって著しく阻害されたことから，生体内における本酵素活性の変動には遊離脂肪酸の濃度が関与していることが示唆された。

また，生体内必須金属のひとつである銅イオンは Acid ＣＥＨ活性を特異的に阻害し，この阻害効果はＡｓＡやNH_2OHなどの還元物質で増強されたまた，この阻害効果には一価または二価の銅イオン濃度と強い相関性が認められたことから，生体内に取り込まれた銅イオンは銅蛋白と結合した状態または生体内還元物質によって一価に還元されて本酵素活性を阻害している可能性が考えられた。

一方，近年，各脂質代謝関連酵素活性に対して，内在性蛋白の活性調節因子が可溶性画分や血清に存在することが報告され，これらの生理的意義も明らかにされつつある。本研究においても，本酵素に特異的な内在性の阻害因子を可溶性画分と血清に見い出したので，その諸性質について検討した結果，本酵素は肝細胞の可溶性画分により著しく阻害され，その阻害作用には可溶性画分の蛋白濃度に依存性を認めた。また，この可溶性画分の阻害因子は加熱や trypsin 処理によって完全に失活したことから，この阻害因子は蛋白性の因子であることが考えられた。

次に，本酵素に対する血清中の阻害因子をＨＤＬ画分から分離精製したところ，この阻害因子のひとつがアポＡ－Ｉであることが明らかとなった。しかも，他のアポ蛋白にも本酵素活性を阻害することを認めたことから，リポ蛋白中のアポ蛋白は細胞内へのリポ蛋白の取り込みの調節や本酵素を介した細胞内の cholesteryl ester の代謝に関与しているものと考えられた。

一方，動脈硬化病巣の初期を組織学的に検索すると，マクロファージ系細胞の泡沫化がその中心像として報告されているとともに，Acid ＣＥＨとの関連性についても論じられている。そこで，ラット腹腔マクロファージ内の Acid ＣＥＨ活性に対する酸化ＬＤＬ，酸化ステロールや銅イオンの影響について検討したところ，Acid ＣＥＨ活性はこれらの物質で著しく阻害されるとともに，マクロファージ内の cholesteryl ester 濃度の増加を認めた。すなわち，マクロファージ内の Acid ＣＥＨ活性の低下はマクロファージの cholesteryl ester の異常蓄積を導き，マクロファージの泡沫化を促進する要因のひとつになることが充分に考えられた。また，ＬＤＬの酸化過程で生成される種々の酸化ステロールはマクロファージ内への酸化ステロールを含むリポソームの取り込み量を増加させたことから，酸化ステロールはスカベンジャーレセプターを介するマクロファージ内への酸化ＬＤＬの取り込みに関与していることも示唆された。さらに，本酵素と細胞内 cholesteryl 代謝との関連性をより明確にする目的で，種々の人為的脂質代謝異常モデルラットを作成し，生体内における本酵素と脂質代謝の関連性について比較検討した。その結果，本酵素活性は cholesterol 代謝障害を引き起こすことが報告されている種々の薬物の投与により著しい低下を示したことから，cholesterol 代謝と本酵素活性には相互に密接な関連性があることが充分に考えられ，本酵素活性の増加に対する研究や薬物の開発は脂質代謝異常疾患に対する治療の改善の端緒になるものと思われた。

論文審査の結果の要旨

ラット肝リソゾームに局在するAcid cholesteryl ester hydrolase（Acid ＣＥＨ）の酵素特性を明らかにし，本酵素の生体内における調節機序において影響する因子の特性を明確にした。また，人為的脂質代謝障害ラットにおけるAcid ＣＥＨ活性の変動について検討し，本酵素活性と生体内コレステロール代謝との間に密接な関連があることを明らかにした。これらの研究成果は博士（薬学）授与に値するものと判定した。