

氏名	川 峯 敏 祐 かわ さき とし すけ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬 博 第 82 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	ラット肝細胞膜系の糖タンパクの代謝に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 科 郁 男 教 授 高 木 博 司 教 授 冨 田 謙 吉

### 論 文 内 容 の 要 旨

糖タンパクはあらゆる動物細胞に少量ながら固有の成分として広く分布している。なかでも動物細胞膜系に存在する糖は、最近、その生物学的意義が注目をあびてきている。

膜系の糖タンパク糖鎖の化学的性質は著者の研究も含めかなり明らかにされている。すなわち、ラット肝細胞ミクロゾーム膜はグルコサミン、ガラクトサミン、ガラクトース、マンノーン、フコース、シアル酸より成る酸性糖鎖とマンノース、グルコサミンのみから成る中性糖鎖の2種を含むのに対し、原形質膜は酸性糖鎖のみを、また核膜は中性糖鎖のみを含む。

しかし、これらの細胞膜系の糖タンパクの代謝に関する研究はほとんどなされていない。著者はラット肝細胞を用い、その膜系のうち、ミクロゾーム、原形質膜および核膜の糖タンパクの代謝に関する研究を行った。

実験方法はグルコサミン-1-<sup>14</sup>C をラット腹腔内に注射し、一定時間後に肝臓を摘出したのち、目的とする膜を単離し、ヘキソサミンおよびシアル酸に取り込まれた放射活性を測定する方法を用いた。

グルコサミン-1-<sup>14</sup>C のヘキソサミンへの取り込みの極大点はミクロゾームの C-画分 (0.26%デオキシコール酸抽出画分)、M-画分 (0.5%デオキシコール酸抽出画分) および核膜では注射後 0.5~1.5時間であり、これらの画分に存在する糖タンパクはその場で生合成されることを示していた。一方、原形質膜への取り込みは遅く注射後3時間に極大点を示し、原形質膜糖タンパクは他の細胞内部位、おそらくミクロゾームで完成された糖タンパクとして生合成されたのち原形質膜に組み込まれることを示していた。ミクロゾーム C-画分では M-画分に比べ、ヘキソサミンの極大比放射活性は著しく高く、また極大点に達したのちの崩壊は速い。したがって、ミクロゾームのうちでも C-画分に分泌糖タンパクおよび原形質膜などの他の膜系の糖タンパクの生合成中間体が含まれると考えられる。一方、ミクロゾームのうち、主として膜成分から成る M-画分、核膜および原形質膜では極大点のヘキソサミンの比放射活性は C-画分より低く、その値もさまざまであり、また極大点に達したのちの崩壊も緩かで、その崩壊速度もさまざまであっ

た。これらの事実は膜系の糖タンパクは膜に固有の成分として固有の代謝的性質をもつことを示している。

次に、グルコサミン- $^{14}\text{C}$  を注射後 1—8 日にわたり取り込まれた放射活性を測定した。この条件では細胞から分泌される糖タンパクの影響は無視できる程度になり、膜に固有の糖タンパクの代謝回転を調べることができる。マイクロゾームの崩壊曲線は注射後 1—3 日に屈折点をもつ 2 相性を示し、3 日以後の崩壊曲線より求めた半減期は M-画分 92 時間、C-画分 68 時間となり、マイクロゾーム膜糖タンパクは代謝的に不均一であることが示された。崩壊の初期の相ではヘキソサミンはシアル酸に比べ著しく速い代謝回転を示し、マイクロゾームの中性糖鎖と酸性糖鎖の代謝的相違を示唆していた。原形質膜の崩壊曲線は 1 相の 1 次反応式に従い、半減期は 37 時間であった。この値はマイクロゾームの半減期の約  $\frac{1}{2}$  であり、むしろ血漿  $\alpha_1$ -酸性糖タンパクの半減期 26 時間に近い。原形質膜のシアル酸、ヘキソサミンは同様の代謝的性質を示し、原形質膜糖タンパクの代謝的均一性を示していた。

マイクロゾーム、原形質膜の糖タンパクの半減期は、アミノ酸を標識物質として求めたタンパク部分の半減期とほぼ等しく、糖タンパクとして膜に組み込まれた糖はタンパク部分とほぼ同様の速度で代謝されることを示している。しかし、マイクロゾームの場合に注射後 1—3 日にみられた屈折点はタンパク部分の代謝においてはみられず、マイクロゾームの糖に特徴的であり、マイクロゾームの糖の一部がタンパク部分と独立に代謝している可能性が示唆された。

以上、肝細胞膜系の糖の代謝を明らかにしたことは、膜の生合成および膜の生物学的機能を考察するうえで意義あることと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

細胞膜の構成成分としての糖タンパクの生物学的重要性は最近頻繁に指摘されながらもその構造および代謝に関する研究は乏しい。

膜の糖タンパクの研究はそれ自体として意義があると同時に、糖タンパクが指標となって膜全体の構造および代謝の機作の解明がなされるという点でも有意義である。

本論文は糖タンパクの糖部分を標識グルコサミンを用いて標識することによって主として膜の糖タンパクの代謝の機作を明らかにせんとしたものである。

材料としてラット肝臓を用い、十分に条件を検討したのち原形質膜、小胞体膜、核膜を得ている。ラットに投与した  $^{14}\text{C}$ -グルコサミンのこれら膜画分へのとり込みを解析した結果が本論文の骨子である。

まず、マイクロゾーム画分では分泌される糖タンパクと小胞体膜を形成する糖タンパクが同時に合成されながらも膜の糖タンパクは他の膜タンパク同様長い半減期をもつ崩壊を示すことが見いだされた。糖部分は部分的に代謝的不均一性を示すが、全体としてはタンパク部分と同調して崩壊し、糖を標識して膜タンパクの代謝を研究することが有力な手段であることが明らかにされている。

これを基にして原形質膜についてその生成崩壊の過程を追跡し、原形質膜のタンパクおよび糖タンパクはマイクロゾームでつくられたのち原形質膜に組み込まれるという結論を得ている。核膜の合成と崩壊は小胞体膜に似た過程をたどり、核膜の合成は核またはその近辺で他の膜系から独立した過程によって行なわ

れることが明らかにされている。

以上の知見は糖タンパクが細胞膜の基本的成分となっていることを裏づけるとともに、その糖部分を標識して膜の生成崩壊の過程を追跡することがきわめて有用であることを実証している。さらに、小胞体膜、原形質膜、核膜の生成崩壊に関してそれぞれの特徴を明らかにしている。これらの知見は肝細胞に限らず、広く生体膜全般の理解にとっても有用である。薬物の作用点、薬物代謝の酵素系がいずれも膜構造と密接に関連していることから本研究は薬学領域において意義あるものである。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。