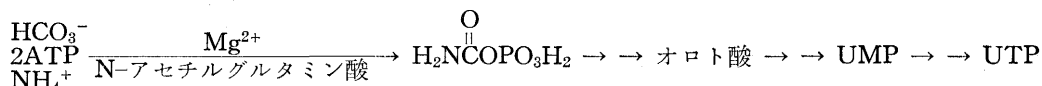


氏名	伊藤和彦
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第420号
学位授与の日付	昭和48年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	CONTROL OF PYRIMIDINE BIOSYNTHESIS IN MAMMALIAN TISSUES II. GLUTAMINE-UTILIZING CARBAMOYL PHOSPHATE SYNTHETASE OF VARIOUS EXPERIMENTAL TUMORS: DISTRIBUTION, PURIFICATION AND CHARACTERIZATION
	(哺乳動物組織におけるピリミジン生合成の調節 II. 各種実験癌のグルタミン利用性カルバミルソン酸合成酵素の組織分布, 精製および性質)
	(主査)
論文調査委員	教授 脇坂行一 教授 早石 修 教授 沼正 作

論文内容の要旨

核酸の構成成分であるピリミジン塩基の生合成機構として動物肝臓ではオロト酸経路が働くことが確立されていた。



しかし非肝組織および癌組織ではこの経路の最初の間合体であるカルバミルリン酸を合成する酵素が検出されていなかった事からこれらの組織のオロト酸経路の存在にすら疑問が持たれていた。伊藤と橋はまず正常組織のモデルとしてマウス造血脾を取り上げ、これに独自のピリミジン合成能が存在すること (Biochem. Biophys. Res. Commun. 23, 672 (1966)) および動物ではそれまで記載のなかった特異的な型のカルバミルリン酸合成酵素が存在することを示した (Biochem. Biophys. Res. Commun. 26, 221 (1967))。この酵素はアミノ基源としてグルタミンとアンモニアの両者を利用し、肝酵素にとって必須の賦活剤であるアセチルグルタミン酸を必要とせず、且つピリミジン生合成の調節に中心的な役割を演ずるものである事が明らかにされた。その後この酵素は非肝組織に広く分布し (J. Biol. Chem. 244, 5403 (1969)) 且つ肝臓にも従来のいわゆる肝酵素と共に存在することが認められた (Biochem. Biophys. Res. Commun. 33, 774 (1968))。この論文はここに開発された方法をさらに発展させ、癌組織での酵素の検出および精製に応用し、その性質を正常組織の酵素と比較検討したものである。材料として吉田腹水肝癌 AH13, AH130, AH7974, AH601 および Walker carcinosarcoma, Ehrlich 腹水癌を用い、これ等のいずれにもアセチルグルタミン酸を必要としないカルバミルリン酸合成酵素活性を認めた。これらの酵素は不安定であったが、脾酵素の安定化に有効であったグリセリン、ジメチルスルホキシドおよび基質であるグルタミン、 Mg^{2+} -ATP により一層安定化されたため精製が可能となった。AH13, AH130 および Ehrlich 腹水癌から細胞の音波破碎液の 100,000 g 上清より出発して硫酸分画、ヒドロキシルアペタイトを用いたカラムクロマトグラフィーにより部分精製した。AH130 酵素は更に蔗糖密度勾配遠心分画によ

り約 750 倍に精製した。これらの部分精製酵素はアセチルグルタミン酸を必要とせず、グルタミンおよびアンモニアの両者をアミノ基源として利用した。両活性は全精製段階を通じて一致した挙動を取り、AH130 酵素の蔗糖密度勾配遠心分画によっても両活性は分離されず、また Anhenius plots も一致した。これより両活性が同一酵素に由来することが支持された。また本酵素はアンモニアおよびアセチルグルタミン酸依存性の肝酵素と免疫学的に区別された。本酵素のグルタミンに対する $K_m=1.4 \times 10^{-5} M$ であるが、アンモニアに対する $K_m=2 \times 10^{-3} M$ と高いため、生体内ではグルタミンが基質として利用されると考えられる。更にこれら癌酵素は脾酵素と同じく UTP により特異的に阻害を受けることが認められた。肝癌を含む上記癌組織は肝臓と異り、尿素合成能がなく合成されたカルバミルリン酸は全てピリミジン塩基合成のために利用されると考えられるので UTP による阻害は終産物による初段反応のフィードバック阻害を意味し、代謝調節上重要な役割を果していると考えられる。また一つここで注目すべきことは肝実質細胞由来とされる AH13 および AH130 がグルタミンを利用する酵素のみ持つことである。肝臓には二つの型の酵素の存在が知られているので癌化の過程でアンモニア依存性の肝酵素のみ脱落して、グルタミン利用性酵素のみ残ったと考えられる。以上の如く本論文は癌組織に新しい型のカルバミルリン酸合成酵素の存在を証明し、またこれより癌組織に独自のオロト酸経路が存在する可能性を示し且つ癌組織におけるピリミジン生合成の調節機構に関する研究の基礎を与えたものである。

論文審査の結果の要旨

著者はさきに橘らと肝臓以外の組織において特異的な型のカルバミルリン酸合成酵素（以下「カ」酵素と略）の存在を証明したが、本論文では癌組織の「カ」酵素の検出および精製を行ない、その性質を正常組織の酵素と比較検討した。材料として4種の吉田腹水肝癌、Walker carcinosarcoma, Ehrlich 腹水癌を用い、これらに従来の肝酵素と異なり、アセチルグルタミン酸を必要としないグルタミン利用性の「カ」酵素の存在を認め、この酵素の安定化、精製を行ない、グルタミンならびにアンモニアに対する態度を明らかにし、さらに免疫学的にこの酵素は肝臓に存在するアンモニアおよびアセチルグルタミン酸依存性酵素とは異なることを証明した。また、これら癌酵素は脾酵素と同じく、終産物である UTP により特異的に阻害を受けることを認め、ピリミジン生合成調節上重要な役割を演ずるものと考えた。なお、肝実質細胞由来とされる AH13 および AH130 がグルタミン利用性の「カ」酵素のみを持つことを認め、癌化の過程でアンモニア依存性の肝酵素の脱落を示唆する所見を得た。以上、本論文は癌組織に新しい型の「カ」酵素の存在を証明し、かつ癌組織におけるピリミジン生合成の調節機構に関する研究の基礎を与えたものである。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。