

氏名	中西重忠
	なかにししげただ
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第461号
学位授与の日付	昭和49年11月25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	Purification of rat liver acetyl coenzyme A carboxylase and immunochemical studies on its synthesis and degradation (ラット肝臓アセチルコエンザイムAカルボキシラーゼの精製なら びにその合成と分解に関する免疫化学的研究)
論文調査委員	(主査) 教授 早石 修 教授 植竹久雄 教授 沼 正作

論 文 内 容 の 要 旨

動物における長鎖脂肪酸生合成経路は acetyl CoA から malonyl CoA を作る acetyl CoA carboxylase と、生成した malonyl CoA から脂肪酸を合成する fatty acid synthetase の両酵素からなる。前者の酵素 acetyl CoA carboxylase は脂肪酸生合成経路が他の代謝経路から分岐する点にあり、脂肪酸生合成の調節に極めて重要な役割を演じている。即ちその一つには本酵素は allosteric 酵素であり、種々の代謝物質によって活性の変化をうけることが知られている。他方肝臓抽出液中の本酵素の活性レベルは、飢餓や糖尿病のごとく脂肪酸合成が減少する状態においては低下し、逆に飢餓後動物に無脂肪高炭水化物食を再投与した場合のごとく脂肪酸合成が増加する状態においては正常以上となることが知られている。しかしながら後者の詳細な機構については全く不明で、これまでの研究が活性の測定のみに基づいていたため、上記の変動が酵素1分子あたりの触媒能の変化によるものか、あるいは単位重量の組織中の酵素分子の数(酵素量)の変化によるものか明きらかでなかった。さらにもし酵素量の変動によるものならば、それが酵素の合成速度の変化のためかあるいは分解速度の変化のためかを決定する事は、酵素量の調節に対するそれぞれの役割を理解する上で、極めて興味をもたれる所である。

本論文において、著者は始めてラット肝臓より acetyl CoA carboxylase を均一にまで精製し、その抗体を用いて上記の問題を最っとも信頼のできる免疫化学的方法によって検索した。その結果、種々の条件に見られる本酵素の活性レベルの変動は酵素量の変動による事を証明し、さらにそれぞれの条件における本酵素の合成と分解の速度を決定した。

まず著者はラット肝臓 acetyl CoA carboxylase に対する特異的抗体を得るために、本酵素を約1700倍精製し、超遠心法その他の基準で単一の酵素標品を得た。本標品で免疫した家兎抗体は、Ouchterlony 法で本酵素と単一の沈降線を示し、本抗体は acetyl CoA carboxylase に特異的である事を示した。

そこで本抗体を用い種々の条件下の酵素標品と Ouchterlony 法を行い、さらに各条件の肝臓抽出液中の acetyl CoA carboxylase を定量した。その結果、肝臓 1g あたりの本酵素の活性レベルは、飢餓、ア

ロキサン糖尿病の場合、正常食投与に比し、それぞれ22%、37%に減少し、無脂肪食投与で2.0倍に増加しているにもかかわらず、各酵素標品は Ouchterlony 法で同一の沈降線を示し、又定量法で上記の活性レベルの変動が本酵素の量の変動の結果である事を示した。

次に上記各条件下のラットに ^3H -ロイシンを注射し、抗体で acetyl CoA carboxylase を特異的に回収し本酵素にとりこまれた放射能を測定することにより酵素の合成および分解の速度を調べた。その結果合成速度はラット一匹あたり、飢餓および糖尿病でそれぞれ54%、59%と減少し、無脂肪食再投与で4.0倍に増加した。又本酵素の半減期は正常食投与、無脂肪食投与、糖尿病でそれぞれ59、55、59時間、飢餓で39時間という値を示した。即ち、正常食投与ラットに比し、無脂肪食投与および糖尿病ラットに見られる酵素量の変動は分解速度の変化によらず合成速度の違いのみによって支配され、一方飢餓ラットにおける酵素量の減少は合成速度の低下のみならず分解速度の上昇にもよる事が明らかとなった。

以上の結果から acetyl CoA carboxylase の量の変動における酵素の合成と分解の役割について興味ある推論が導き出される。即ち無脂肪食投与、糖尿病ラットは定常状態にあり、一方飢餓ラットは定常状態からはずれている事を考え併せると、分解速度の変化による酵素量の調節は動物が定常状態からはずれた時に主要な役割を果し、定常状態では合成速度の変化が酵素量の変動に主要な役割を果すと考えられる。この推論は Schimke の肝 arginase および Rechcigl の肝 catalase の知見とも一致し、酵素量の調節における合成と分解の役割についてかなり一般化出来るものと思われる。

論文審査の結果の要旨

Acetyl CoA carboxylase の反応は長鎖脂肪酸生合成の律速に重要な役割を演じている。肝臓抽出液における本酵素の活性レベルは飢餓や糖尿病のごとく脂肪酸生合成が減少する状態においては低下し、逆に飢餓動物に無脂肪食を再投与した場合のごとく脂肪酸生合成が増加する状態においては正常以上となる。著者はこの変動の機構を検索し、下記の実験結果を得た。

1. ラット肝臓より acetyl CoA carboxylase を精製し、超遠心的ならびに免疫化学的に均一な標品を得た。
2. この酵素標品を家兎に注射して得た抗体を用いた免疫化学的滴定により、食餌条件の変化やアロキサン糖尿病に際してみられる肝臓抽出液中の acetyl CoA carboxylase の活性レベルの変動が酵素量の変動であることを明らかにした。
3. 正常食投与、無脂肪食再投与およびアロキサン糖尿病ラットにみられる酵素量の変動は酵素の合成速度の変化によって規定され、一方飢餓ラットにおける酵素量の減少は合成速度の低下のみならず分解速度の増加にも起因することを明らかにした。

以上の結果は栄養やホルモンの状態の変化に伴う脂肪酸生合成調節の機構を解明する上で重要な貢献をしており、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。