

氏名	北 島 薫 きた じま かおる
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第474号
学位授与の日付	昭和50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	医学研究科生理系専攻
学位論文題目	Acetyl Coenzyme A Carboxylase in Cultured Hepatocytes —Effects of Exogenous Fatty Acids on the Content, Synthesis and Degradation of the Enzyme— (培養肝細胞におけるアセチルコエンザイム A カルボキシラーゼ— 酵素量, 酵素生成成及び分解に対する培地中添加脂肪酸の効果—)
論文調査委員	(主査) 教授 早石 修 教授 村地 孝 教授 沼 正作

論 文 内 容 の 要 旨

動物における脂肪酸合成の初段階酵素である acetyl-CoA carboxylase は脂肪酸代謝の調節に極めて重要な役割を果している。すなわち、ラット肝臓抽出液中の本酵素活性レベルは、飢餓状態、糖尿病の如く脂肪酸合成が低下する状態において低下し、逆に飢餓動物に無脂肪高炭水化物を再投与した場合や、遺伝性肥満過血糖のマウス (C57BL/6-ob) の場合には脂肪酸合成は亢進するとともに、本酵素活性も著しく上昇する。又ここで観察される本酵素活性レベルの変動は酵素量の変動に起因することが知られている。然るに、従来の *in vivo* の実験からは如何なる因子が直接的に本酵素量を調節しているかは不明であった。ただ、いくつかの実験は食餌中の多不飽和脂肪酸量が本酵素量を調節する可能性を示唆しているが今尚議論の多いところである。そこで著者は組織培養法を導入して、①培地中に添加された脂肪酸の細胞内本酵素量に与える効果、②その効果の脂肪酸種による特異性、③脂肪酸添加効果の発生機序について検討を加えた。培養細胞の使用は *in vivo* でみられる内分泌系、神経系の複雑な影響を除外できる利点を有している。本実験に用いられた JTC-25 P3 細胞は、ラット肝実質細胞に由来し、脂質や蛋白質を含まない完全合成培地中で継代・維持されているため、血清の有する種々の生物活性をも除外できる利点を有している。

増殖が定常状態に達した本細胞培地中に linoleic, arachidonic acid (多不飽和脂肪酸), oleic acid (不飽和脂肪酸), palmitic, stearic acid (飽和脂肪酸) を添加した。その結果これらの脂肪酸は細胞の viability に変化を与えることなく、細胞内本酵素活性レベルを低下させた。但し、その程度は linoleic, oleic acid に著明であった。この事実は本酵素の調節因子としての役割を多不飽和脂肪酸に限定し得ないことを示唆している。脂肪酸を標識して培地中に添加することによって、脂肪酸の細胞への取りこみと、細胞内での代謝経過を thin layer, radio-gasliquid chromatography を用いて解析した。その結果培地中脂肪酸は殆んど他種の脂肪酸に変化することなくすみやかに細胞内に取りこまれ、主に磷脂質画分に回収された。

著者は細胞内にとりこまれた脂肪酸、或いはその代謝中間体が本酵素活性を低下させる機構を知るために次の実験を行った。まず脂肪酸の培地中添加によってもたらされる本酵素活性レベルの低下が酵素1分子あたりの触媒活性の低下に因るのか或いは酵素分子の数すなわち酵素量の減少に起因するかを、本酵素に特異的な抗体を用いて、免疫化学的に検討した。その結果は本酵素量が減少していることを示した。酵素量を減少させる2つの要因、①酵素蛋白の生合成速度の低下、②酵素分解速度の亢進を区別するために免疫化学的方法と放射能による酵素蛋白の標識法を併用して検討した結果、培地中脂肪酸の添加は本酵素蛋白の分解速度には変化を与えず、酵素合成速度を低下させることを示した。

以上、著者の得た結果は、細胞内脂肪酸或いはその代謝中間体が細胞内 acetyl-CoA carboxylase 活性レベルを低下させること、この活性低下は本酵素生合成速度低下に起因する酵素量の減少に由来していることを示した。

論文審査の結果の要旨

長鎖脂肪酸生合成の鍵酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ量の調節機構を知ることは脂肪酸代謝調節の研究に極めて重要な意味を有している。本論文は複雑な生体内環境を避け、培養肝細胞 (JTC-25 P3 細胞) を用いてトウモロコシ油と種々の脂肪酸の培地中添加が本酵素量に与える効果とその効果の発現機構を明らかにすることを目的としたものである。培地中に添加されたトウモロコシ油及びその主要構成脂肪酸であるリノール酸、オレイン酸は本酵素活性レベルを著しく低下させた。一方パルミチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸にも弱いながら同様の効果があり、脂肪酸の種類による特異性は見出されなかった。本酵素に特異的な抗体を用いた免疫化学的実験は脂肪酸添加による本酵素活性レベルの低下が酵素蛋白量の減少によることを示した。又この酵素量の減少は本酵素合成速度の低下に起因することがアイソトープによる標識法と免疫化学的方法を用いて示された。

以上の研究は脂肪酸あるいはその代謝中間体が本酵素合成速度の調節因子となっていることを示唆し、脂肪酸生合成の調節機構の解明に貢献する所が大である。

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。