

氏 名 日 下 部 均  
くさ か べ ひとし  
 学位の種類 農 学 博 士  
 学位記番号 論 農 博 第 808 号  
 学位授与の日付 昭 和 54 年 7 月 23 日  
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当  
 学位論文題目 Studies on a New Antitumor Enzyme, L-Lysine  
 $\alpha$ -Oxidase  
 (新抗ガン性酵素, L-リジン  $\alpha$ -オキシダーゼに関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 山 本 龍 男 教 授 山 田 秀 明 教 授 駒 野 徹

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は *Trichoderma* 属カビからの新しい抗ガン性酵素, L-リジン  $\alpha$ -オキシダーゼの発見とその経緯に関する各種の新事実, 酵素化学的性質並びに抗ガン活性に関する研究成果をとりまとめたものである。

必須アミノ酸, L-リジンの代謝中, いわゆるピペコリン酸経路については古くから研究がなされているにもかかわらずその初発反応, すなわち L-リジンの  $\alpha$ -アミノ基を酸化的に離脱して  $\alpha$ -ケト- $\epsilon$ -アミノカプロン酸を生成する反応を触媒する酵素, リジンオキシダーゼの存在は現在までいずれの生物にも見いだされていなかった。

著者は微生物の生産する抗ガン性物質を探索する過程において糸状菌 *Trichoderma viride* のフスマ培養からの水抽出液中に抗ガン性を示すタンパク性物質の存在を見だし, これがリジンを分解する一種の酵素であることを認めた。さらにこの酵素を単離, 精製し, その物理化学的, 酵素化学的諸性質を解明すると共に, 本酵素反応による L-リジンからの生成物が,  $\alpha$ -ケト- $\epsilon$ -アミノカプロン酸, アンモニア, 及び過酸化水素であることを明らかにした。その結果, L-リジンの  $\alpha$ -アミノ基の酸化的脱アミノ反応を触媒する新酵素, L-リジン  $\alpha$ -オキシダーゼの存在がはじめて証明された。

本酵素は分子量が約 112,000 であり, 分子量 56,000 の同一サブユニット 2 個から構成されている。

結合補酵素は FAD であり, 酵素 1 モル当り 2 モル結合している。

ついて本酵素の抗ガン活性と作用機序について検討を加えた。

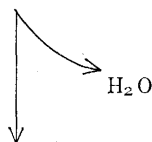
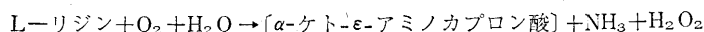
本精製酵素は *in vitro* では 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で L 5178 Y マウス白血病細胞の増殖を完全に抑制し, *in vivo* では 1 mg/kg/日, 5 日間投与で L 1210 担ガンマウスに対して 48% の延命効果を示すなど顕著な抗ガン活性を有する。本酵素の抗ガン活性の作用機序を調べた結果, 本酵素は血中のリジン濃度を減少させるとともに, 酵素反応により生成した低濃度の過酸化水素の細胞死滅効果も関与していることを認め, その機構は恐らくガン細胞の DNA 鎖切断によるものであらうと考察している。

さらに本酵素を用いた新しいリジンの特異的定量法をも確立している。

## 論文審査の結果の要旨

L-リジンは必須アミノ酸であるがその代謝は生物の種類により多岐にわたっている。中でもピペコリン酸経路については古くから研究が行われたにもかかわらず、その最初の段階すなわち L-リジンの  $\alpha$ -アミノ基の酸化的脱離反応を触媒する酵素の存在はこれまで実証されておらず、この経路の酵素化学的側面における最大の問題点であった。

本研究においてはまず糸状菌 *Trichoderma viride* のフスマ培養物より得た水抽出液中にマウス白血病などに著しい抗ガン作用を示す高分子物質の存在を認め、これがリジンの酸化的脱アミノ反応を触媒する酵素であることを明らかにした。本酵素を抽出液より単離し均一状態に精製して、その物理化学的、酵素化学的諸性質を解明した。その結果、本酵素は次のように L-リジンの  $\alpha$ -アミノ基の酸化的脱アミノ反応を触媒する新フラビン酵素であることを証明し、これを L-リジン  $\alpha$ -オキシダーゼと命名した。



$\Delta^1$ -ピペリダイン-2-カルボン酸

現在アスパラギナーゼをはじめ10数種の抗ガン性酵素が知られているが、抗ガン性物質として新酵素が同定、単離された例は他にない。

本酵素は *in vitro* では 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で L 5178 Y マウス白血病細胞の増殖を完全に抑制する。*in vivo* では 1 mg/kg/日、5日間投与で L 1210 マウス白血病に対して 48%延命効果という顕著な抗ガン活性を示す。著者はその抗ガン活性作用機序として、血中リジン濃度を低下させガン細胞の生育を効果的に阻止することによるものと推論している。

さらに rec-assay 法を用い、本酵素反応により発生する低濃度の過酸化水素が DNA 鎖切断に関与し、これに基づく細胞死滅作用もこの酵素の抗ガン性発現にあずかっている可能性を考察している。

また本酵素を用いた新しいリジンの特異的微量定量法を開発した。

このように本研究は抗ガン性を示す新しいフラビン酵素、L-リジン  $\alpha$ -オキシダーゼの発見と精製、その酵素化学的性質、抗ガン性の解明並びにリジンの酵素分析法の確立などの研究成果を含み、微生物化学、酵素化学、分析化学などの分野に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。