

氏 名	川 村 修 かわ むら おさむ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 537 号
学位授与の日付	昭 和 48 年 5 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	Acid Mucopolysaccharase Activity in Lysosome of Rat Kidney (ラット腎ライソゾームの酸性ムコ多糖体分解酵素活性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 高 松 英 雄 教 授 沼 正 作 教 授 高 安 正 夫

論 文 内 容 の 要 旨

近年、動脈硬化や膠原病の研究過程に於て、結合織の基質としての酸性ムコ多糖体の代謝に関心が向けられるようになったが、酸性ムコ多糖体の代謝、特にその分解酵素に関する知見は少なく、まだ充分解明されていない。1955年 de Duve らにより、ミトコンドリアより Lysosome 分画が分離せられ、彼らは白鼠肝 Lysosome 中に Hyaluronidase 活性を認め、1966年 Hutterer も同様の報告をしている。

私は、血管壁病態の解明上、酸性ムコ多糖体の代謝、特にその分解酵素と推定される Lysosome 酵素に注目し、肝同様に腎の Lysosome 中の酸性ムコ多糖体分解酵素の存在とその性状について検索した。

(材料及び方法) 酸性ムコ多糖体としてヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸Aを使用。ウイスター系白鼠の腎臓を用い、Shibko & Tappel の方法によって、Lysosme, Mitochondria, Microsome 及び “Supernatant fraction” を分離使用した。

上記各細胞分画の各々 0.5 ml と、酸性ムコ多糖体の一定量を溶かした 0.1 M 醋酸緩衝液 (又はリン酸緩衝液) 0.5 ml を混合し、37 °C にて種々の時間加温した後、0.04 M 食塩水にて酸性ムコ多糖体を Cetyl-pyridinium chloride との複合体とし Celite に吸着させ沈でんせしめた。沈でんして得た酸性ムコ多糖体を 4 N 塩酸で 100 °C 5 時間加水分解し、Boas の方法に準じて、Dowex 50 のカラムにより精製して Hexosamine 量を測定した。

(結果) Acid Mucopolysaccharas 活性は、pH 4.0 の 0.1 M 醋酸緩衝液中に於て、ヒアルロン酸を基質とした場合 (既に Hyaluronidase 活性) は、Lysosome 43.3 (Hexosamine $\mu\text{g}/\text{mg}$ Protein), Microsome 11.2, Mitochondria 3.6, Supernatant 12.9 であった。コンドロイチン硫酸Aを基質とした場合は、Lysosome 30.7, Microsome 7.8, Mitochondria 2.2, Supernatant 16.0 であり、いずれも Lysosome 分画に於て最も高い活性を認めた。

Lysosome 分画を Triton X-100 で処理すると、Acid Mucopolysaccharase 活性は、非処理の場合よりも高い活性が得られた。

Lysosome 分画の Acid Mucopolysaccharase 活性の至適 pH は、醋酸緩衝液中では、ヒアルロン酸に対しては pH 5.0, コンドロイチン硫酸Aに対しては pH 4.1 であり、リン酸緩衝液中では、ヒアルロン酸に対しては pH 6.1, コンドロイチン硫酸Aに対しては pH 6.8 であった。

(考按及び結論) de Duve が細胞分画中、種々の酸性加水分解酵素を包有する Lysosome を分離して以来、de Duve, Hutterer, Aronson らにより肝 Lysosome 中の Hyaluronidase が証明された。

今回、本研究により、ヒアルロン酸及びコンドロイチン硫酸Aを基質として用い、白鼠腎 Lysosome 中に Acid Mucopolysaccharase 活性を証明した。醋酸緩衝液又はリン酸緩衝液で、酵素活性の至適 pH が異なる点、肝 Lysosome の場合と同様であるが、醋酸緩衝液中では N-Acetyl-hexsaminidase 活性が抑制されるので、Acid Mucopolysaccharase 活性の測定には醋酸緩衝液の方が都合がよい。

临床上、Hurler 症候群など一連の“ムコ多糖体異常症”の原因として Lysosome 酵素の一部欠損が推定されており、又、リウマチ様関節炎の関節腔液のヒアルロン酸の増量と Lysosome 酵素の増量、動脈硬化における血管壁や、肝線維化に於ける酸性ムコ多糖体と、Lysosome 酵素との関係等、多くの問題が残されて居るが、最近、腎に於ても、レニン、Acid adenosine triphosphatase, Acid angiotensinase などが、腎の Lysosome 酵素として認められて居り、腎 Lysosome の Acid Mucopolysaccharase も、これらとの関連に於て、腎の病態生理上、重要な働きをしているものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年動脈硬化や他の血管病変の研究過程に於て、結合組織の基質としての酸性ムコ多糖体 (AMPS) の代謝に関心が向けられたが、AMPS の代謝特にその分解酵素に関する知見はまだ少く、1955年 De Duve らの分離した肝 Lysosome 中に Hyaluronidase 活性が認められ、漸く Lysosome 中の酸性ムコ多糖体分解酵素 (AMPS-ase) が注目された。

本論文ではラット腎 Lysosome を用い、AMPS-ase の存在とその性状を証明検討し、腎 Lysosome 中に、ヒアルロン酸 (HA), コンドロイチン硫酸A (Ch-s-A) に対する分解酵素の存在を認め、その酵素活性は醋酸緩衝液中で H-A に対し pH 5.0, Ch-S-A に対し pH 4.1 と酸性側に至適 pH を有し、睾丸 Hyaluronidase とは至適 pH の点では多少異なることを証明、2 Lysosome 分画を界面活性剤で処理すると、酵素活性の上昇する事を証明し、Lysosome particle bounding enzyme と推定した。以上各種薬剤による腎障害が腎 Lysosome 酵素と深い関係を有する事から、腎 Lysosome 中の AMPS-ase の存在は Renin, Acid ATP-ase, Acid angiotensinase などの腎 Lysosome 酵素との関連に於て、高血圧性、腎性血管障害の進展に重要な意義を有し学術上有益である。

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。