

氏 名	森 山 昭 彦 もり やま あき ひこ
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 628 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 3 月 24 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	理 学 研 究 科 動 物 学 専 攻
学位論文題目	サル肺組織カテプシンDの精製と性状ならびに分布特性に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 高 橋 健 治 教 授 日 高 敏 隆 教 授 米 田 満 樹

論 文 内 容 の 要 旨

カテプシンDは、生体組織中に広く存在している細胞内酸性プロテアーゼであり、細胞内における蛋白質の代謝分解に関与して重要な役割を果たしている。従来、いくつかの動物組織から精製され、その性質が調べられているが、肺組織中のカテプシンDについては研究が大変遅れている。肺については、最近そのガス交換以外の機能についても注目されはじめており、この点からも肺カテプシンDの性状と生理的役割の解明は重要と考えられる。本論文中の研究は、このような興味から、その第一歩として主にアカゲザルを用い、肺組織中のカテプシンD類の精製と諸性状の解明を行うとともに、さらに霊長類を中心とする各種哺乳動物組織におけるカテプシンDの分布特性を比較検索したものである。

まず、細胞分画法により肺カテプシンDの細胞内分布を検索し、主にリソゾーム分画に存在することを示すとともに、肺気道洗液中にも活性が存在することを見出し、本酵素が肺胞表面被膜層にも一部分泌されて存在することを推定している。次いで、アカゲザル肺より、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過、ヘモグロビン・セファロースを用いるアフィニティークロマトグラフィー等を併用して分別、精製を行った。この結果、2種のカテプシンDが存在することが判明し、これらをカテプシンD-I、D-IIと命名するとともに、各々を約2000倍精製し、電気泳動的に均一な標品を得た。これらの標品について種々の性質を比較検索したところ、カテプシンD-Iは、分子量、電気泳動における移動度、アミノ酸組成、活性のpH依存性、基質特異性、特異的阻害剤に対する感受性等からみて、従来知られているタイプのカテプシンDに属するプロテアーゼであることが判明した。一方、カテプシンD-IIは、カテプシンD-Iに比較して極めて酸性度の高い蛋白質であり、pH1~3の低pH領域においても著しく安定で高活性を有すること、ペプスタチン、ジアゾアセチル-DL-ノルロイシンメチルエステル、1, 2-エポキシ-3-(*p*-ニトロフェノキシ)プロパンなどの酸性プロテアーゼの特異的阻害剤に対する感受性がカテプシンD-Iより顕著に低いことなどから、従来の一般的カテプシンDとは明確に区別できる新しいタイプのカテプシンDであることが結論された。このカテプシンD-IIの諸性質は胃のペプシノーゲンCおよびペプシンCによ

く似ており、特にアミノ酸組成はペプシノーゲンCと酷似することから、酸性プロテアーゼ類の分子進化上、従来の組織カテプシンDと胃のペプシノーゲンC（およびペプシンC）の中間的な分子種として両者を関連づけるものであることが示唆された。

さらに、これらカテプシンDの、霊長類を主とする各種哺乳動物臓器、組織における分布を、イオン交換クロマトグラフィーを用いる分別法を用いて詳細に比較検索し、カテプシンD-Iタイプの酵素は調べたすべての臓器、組織に普遍的に存在するが、カテプシンD-IIタイプの酵素は、ヒトを含む霊長類の肺のみに特異的に存在することを明らかにした。

参考論文は主論文の先駆となったもので、ニホンザル肺のカテプシンDの精製と性状に関するものである。

論文審査の結果の要旨

カテプシンDは細胞内における蛋白質の代謝分解に関与する重要な酸性プロテアーゼであり、種々の組織病変とも関連し、また酸性プロテアーゼの分子進化を追究する上でも重要な対象と考えられるので、各種組織からの精製と諸性状の比較解明が強く望まれている。しかしながら、この方面の研究はまだ遅れており、純粋な状態に精製され、諸性状が調べられたカテプシンDは極めて僅かである。

本申請者は、従来特に研究が遅れている肺組織に注目し、アカゲザル肺を用いてカテプシンDを検索し、性質が相互に著しく異なる2種のカテプシンDが存在する事実を明らかにし、これらをカテプシンD-IおよびカテプシンD-IIと命名した。次いで、種々の精製条件を精力的に検討し、両酵素を純粋な状態にまで精製することに成功している。また、これら精製酵素について分子的、酵素的諸性質を詳細に比較検索し、カテプシンD-Iは従来他組織で知られているカテプシンDに属する酵素であること、一方カテプシンD-IIは従来存在が知られていなかった新しいタイプのカテプシンDであることを明らかにした。これらの結果は、肺組織のカテプシンDを初めて純粋な標品にまで精製し、諸性質を明らかにした点で高く評価されるのみならず、新しいタイプのカテプシンDを発見した点で学問的に特に重要と考えられる。また、カテプシンD-IIの性状の検索から、その諸性質が胃のペプシノーゲンCおよびペプシンCに類似し、殊にアミノ酸組成がペプシノーゲンCと酷似しているという興味ある事実をつきとめ、カテプシンD-IIが酸性プロテアーゼの分子進化上、従来の組織カテプシンDと胃のペプシノーゲン（およびペプシン）との中間的な分子種であり、両者が共通の祖先蛋白質から進化したものであることを推定している。これは従来不明瞭であった両酸性プロテアーゼ間の関係に新知見を提供するものであり、この方面における今後の研究の発展の糸口となりうるものとして重要である。

さらに申請者は、これら肺カテプシンDの肺組織内および細胞内分布を検索し、それらがリソゾーム中に存在するのみならず、一部は肺胞表面被膜層にも分泌されて存在することを示唆する新しい知見を得ている。また、霊長類をはじめとする種々の哺乳類の臓器、組織についてカテプシンD類の分布を精力的に比較検索し、カテプシンD-Iタイプのプロテアーゼは調べた限りすべての臓器、組織に存在する一方、カテプシンD-IIタイプのプロテアーゼはヒトを含む霊長類の肺組織のみに特異的に存在するという極めて興味深い新知見を得ている。

以上、本論文は学問的に重要な種々の新知見を含んでおり、この分野における今後の研究の発展の基礎となりうるものとして、その貢献度は極めて高いものと考えられる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認められる。