

氏 名	竹 縄 忠 臣 たけ なわ ただ おみ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 150 号
学位授与の日付	昭 和 50 年 9 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	Myoinositol の各種酵素活性に及ぼす影響と臓器への取り込み機構に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 岡田壽太郎	教 授 富田謙吉	教 授 高木博司
--------	--------------------	----------	----------

論 文 内 容 の 要 旨

Myoinositol は動物組織に遊離形及び結合形として、広範に分布している。結合形としての phosphoinositide は生体膜の必須成分であるが、遊離 Myoinositol はその前駆体としての意義以外、生物学的意義は余り明らかでない。しかし動物組織に於て、遊離 Myoinositol の濃度は臓器により極端に異り、腎臓、脳、睪丸、甲状腺、水晶体は血中濃度の100倍以上の Myoinositol を蓄積するが、肝臓、小腸、心臓等の臓器は10倍程度の Myoinositol を含むにすぎない。

著者は遊離 Myoinositol を大量に含有する臓器でのその生物学的作用を明らかにし、大量の Myoinositol を保持する機構を解明したいと考え、本研究を行い、以下に述べる様な新知見を得た。

1. Myoinositol の α -Galactosidase 活性阻害作用

Myoinositol はラット、牛、モルモットの、p-Nitrophenyl α -Galactoside を基質とする α -Galactosidase 活性を阻害した。その阻害は拮抗的阻害であった。また Scyllitol 及び (+)-Inositol は α -Galactosidase 活性に対し全く影響を与えなかった。

2. Myoinositol の Sphingolipid を基質とした Galactosidase 活性に対する作用

Ceramide galactoside を基質とした β -galactosidase 活性に対し、Myoinositol は著明な影響を与えなかった。しかし pH 5.3 を至適 pH とする Ceramide lactoside β -galactosidase 及び Ceramide trihexoside α -galactosidase 活性は Myoinositol で阻害された。その阻害は両者とも拮抗的阻害で Ki 値は各々、 $2.1 \times 10^{-2}M$, $1.7 \times 10^{-1}M$ であった。

3. Myoinositol 及び他の Polyol の β -Galactosidase 活性に対する作用

p-Nitrophenyl β -galactoside を基質とするラット腎臓、肝臓、脳、モルモット腎臓、小腸、牛脳、腎臓及び Ecoli の β -Galactosidase 活性は Myoinositol によりすべて活性化された。活性は control の120～210%に達した。Myoinositol の活性化効果は β -Glucosidase, β -Galactosaminidase, β -Glucosaminidase では認められなかった。Scyllitol, Dulcitol, (+)-Inositol も同様 β -Galactosidase を活性化した。一方、

Glycerol, Xylitol, Ribitol 及び Mannitol は β -Galactosidase 活性を抑制した。Trehalose, Xylose, Sucrose 及び Glucose は一級アルコールと共に、低濃度ではわずかな活性化を示し、高濃度では阻害を生じた。Myoinositol の活性化は Polyol の持つ一般的な性質によると推定された。

4. Myoinositol 及び Scyllitol のラット腎臓及び肝臓スライスでの輸送

ラット腎臓スライスに於て、Myoinositol 及び scyllitol は能動的に輸送されたが、(+)-Inositol はされなかった。Myoinositol 及び Scyllitol の輸送は温度及び濃度依存性を有し、 Na^+ イオン感受性を有していた。 $[^3\text{H}]$ Myoinositol 及び $[^3\text{H}]$ Scyllitol の輸送は両者共 Scyllitol 及び Myoinositol で阻害された。その阻害は拮抗的であった。Myoinositol 及び Scyllitol の輸送は Inosose-2, Dinitrophenol, Ouabain で阻害された。Phlorizin による阻害作用は Glucose の輸送を阻害するよりかなり弱かった。又 Myoinositol 及び Scyllitol の輸送は Glucose, Galactose, Mannitol 及び (+)-Inositol により影響を受けなかった。取り込まれた Myoinositol はマンガンイオンを含まない buffer を使用してインキューベートした場合は、遊離形として無変化のまま組織中に存在した。マンガンイオンを含有する buffer でインキューベートした場合、取り込まれた Myoinositol は脂質画分に急速に移行した。他の金属イオンではこのような効果は認められなかった。マンガン非存在下での Myoinositol の組織中への蓄積速度は、腎臓スライスの方が肝臓スライスより3倍速かったが、マンガン存在下での脂質への取り込みは逆に肝臓の方が活発であった。これらの結果により、Myoinositol の輸送は Scyllitol と同じ系で行なわれ、Glucose とは異なる系で行なわれていることを示した。又取り込まれた Myoinositol はマンガンイオンにより、急速に Phosphoinositide へ取り込まれることがわかった。

5. Myoinositol 及び Scyllitol の腎臓細胞膜への特異的な取り込み

Myoinositol 及び Scyllitol の腎臓細胞膜 Vesicle 内への特異的な取り込みを証明した。Myoinositol の取り込みは温度依存性であった。又至適 pH は7.4であった。Myoinositol の特異的な取り込みはスライス実験の場合と同様、Scyllitol により拮抗的に阻害された。Myoinositol の取り込みは Inosose-2, Phlorizin で阻害されたが、Glucose, Galactose, Mannitol 及び (+)-Inositol では阻害されなかった。細胞膜を大量の cold Myoinositol, Scyllitol, 及び Mannitol で前処置し Vesicle 内の濃度を高めた後、これらの細胞膜を使用し、 $[^3\text{H}]$ Myoinositol の取り込みを測定した。すると、Mannitol 処理細胞膜に比し Myoinositol, Scyllitol 処理細胞膜で $[^3\text{H}]$ Myoinositol 取り込みの促進が認められ、“Counter Transport” の現象が見られた。ラット腎臓の顆粒画分の分画の内、Myoinositol 取り込み能は細胞膜画分で最も高かった。又臓器別の特異的な取り込み活性は腎臓で高く、脳の2倍肝臓の5倍であった。

以上著者は Myoinositol の Galactosidase に与える作用を研究し、阻害は Myoinositol と Galactose の構造類似性により生ずること、又活性化は Polyol の持つ一般的な性質によると推定した。Myoinositol の輸送は Scyllitol と同じ系で行なわれ、Glucose の輸送系とは異なった系が存在することを示した。又、取り込まれた Myoinositol はマンガンイオンにより急激に脂質画分に取り込まれることを見つけた。更にこれらの現象を細胞膜への特異的な取り込みで捕えた。Myoinositol の特異的な取り込み能は脳、腎臓細胞膜で高く、肝臓細胞膜で低かった。興味深いことにこれらは Myoinositol の臓器濃度の傾向と一致した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、Myoinositol が α -Galactosidase 活性に対し阻害作用を示すこと、また Sphingolipid galactosidase ならびに β -Galactosidase の活性に及ぼす影響を明らかにするとともに、Myoinositol と Scyllitol との腎臓・肝臓スライスでの能動輸送、腎臓細胞膜への特異的な取り込みを見出した研究である。

著者はまず、ラット各種臓器における遊離 Myoinositol の含量分布をガスクロマトグラフィーで調査し、腎臓に最も多く、ついで脳・小腸に多く含まれることを明らかにした。つぎにラット腎臓・牛腎臓・モルモット小腸の α -Galactosidase に対する Myoinositol の拮抗的阻害定数 (約 $3.0 \times 10^{-1} \text{M}$) を求めた。

また Ceramide galactoside を基質とした β -Galactosidase に対する Myoinositol の作用を調べ、阻害様式が拮抗的であることを示すとともに、阻害定数 ($2.1 \times 10^{-2} \text{M}$) を求めた。一方 Myoinositol が β -Galactosidase (p-ニトロフェニル β ガラクトシダーゼを基質とした場合) の活性を1.3~2.1倍に増強することを明らかにした。

さらに Myoinositol の輸送系がラットでは腎臓細胞膜における特異的な取り込みによることを証明した。

以上の成果は、薬学の生化学的領域において貢献するところがある。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。