

氏 名	中 田 博 なか た ひろし
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬 博 第 183 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 11 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	薬 学 研 究 科 製 薬 化 学 専 攻
学位論文題目	腹水肝癌細胞の原形質膜に存在する複合糖質の化学的性質および存在状態に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 山 科 郁 男 教 授 富 田 謙 吉 教 授 田 端 守

論 文 内 容 の 要 旨

癌化した細胞の示す異常な諸性質の多くが、細胞表面の変化、とりわけ原形質膜を構成する複合糖質の変化に起因することが示唆されている。従って、複合糖質の化学的性質および細胞表面における存在状態について明らかにすることは、癌細胞の変異を調べる上で、必要不可欠であると考えられる。

著者は、まず、種々の腹水肝癌細胞より原形質膜の単離を試み、FMA 法および亜鉛法によって、高純度の原形質膜を高収量で単離することが出来た。

次に、原形質膜より糖ペプチドおよびムコ多糖を単離精製し、化学的性質を調べた。腹水肝癌細胞 AH66 および AH130 の原形質膜には、いずれも糖ペプチドとして、O-および N-グリコシド型糖 ペプチド、ムコ多糖として、ヘパラン硫酸が存在することがわかった。N-グリコシド型糖 ペプチドおよびヘパラン硫酸は、ラット正常肝や再生肝にも見い出されているが、O-グリコシド型糖 ペプチドは、腹水肝癌細胞に特徴的であることがわかった。

また、AH66 では、O-および N-グリコシド型の糖鎖は、ポリペプチド鎖上で、各々偏って分布しているのに対し、AH130 では比較的分散して存在していることがわかった。

AH66 の亜型である AH66F から原形質膜を単離し、ムコ多糖の同定を試み、コンドロイチン硫酸 A が存在することを明らかにした。腹水中における癌細胞の状態の違いとムコ多糖の違いには相関性が見られ、同様の違いは AH130 と AH130FN においても見い出されている。

次に、AH66 および AH130FN 細胞について、無傷の状態、プロテアーゼおよびコンドロイチナーゼ消化を行い、遊離物の同定および消化前後におけるコンカナバリン A、ヒマ凝集素による結合数の変化を調べ、細胞表面における複合糖質の存在状態を推定した。

AH66 細胞をトリプシン消化すると、主にヘパラン硫酸が遊離し、糖ペプチドとしては N-グリコシド型糖ペプチドが微量遊離するのみであった。AH130FN 細胞をトリプシン消化すると、主に N-グリコシド型糖ペプチドが遊離し、コンドロイチン硫酸 A の遊離は皆無であった。この結果は、ポリペプチド鎖の

一次構造の違いを示すのみならず、腹水肝癌細胞により、細胞表面の構築に著しい差異があることを示すものと考えられる。また、トリプシン消化前後で、コンカナバリンA、ヒマ凝集素の結合には、有意の変化は見られなかった。AH66 のヘパラン硫酸は、N-および O-グリコシド型の糖鎖に影響を与えない状態で存在するものと考えられる。AH130FN 細胞をコンドロイチナーゼ消化すると、コンカナバリンAの結合数に変化は見られなかったが、ヒマ凝集素の結合数は著明に増加した。従って、O-グリコシド型の糖鎖は、コンドロイチン硫酸Aに被われた状態で存在するものと推定される。

以上、著者は、腹水肝癌細胞の原形質膜に存在する複合糖質に関する研究を行い、原形質膜を構成する複合糖質の化学的性質を総合的に明らかにするとともに、腹水肝癌細胞に特徴的な O-グリコシド型糖ペプチドを単離した。また、細胞表面における存在状態についても有用な知見を得た。

論文審査の結果の要旨

動物細胞の表面には種々の複合糖質が存在して細胞の振舞いに関与している。癌化に伴って見られる細胞表面の性質の変化から複合糖質の変化が推定されているが、その化学的実体は明らかではない。

本論文は癌細胞の表面、すなわち原形質膜から糖ペプチド、ムコ多糖を単離してその化学組成等を決定することによって癌化に伴う細胞表面複合糖質の変化の実体を明らかにし、さらにムコ多糖については酵素による分解除去の前後におけるレクチン結合性の変化を測定して細胞表面の複合糖質の存在状態を明らかにしようとしたものである。

先ず、亜鉛イオン等を用いて原形質膜を強化した後細胞を磨碎し、適当な分画を行うことによって高純度の原形質膜標品を高収量で単離する方法を確立した。得られた原形質膜から酸素消化、種々のクロマトグラフィーによって糖ペプチド、ムコ多糖を分離した結果、種々の腹水肝癌細胞原形質膜はいずれも N-グリコシド型および O-グリコシド型の糖タンパク質を含むが、糖鎖の組成、ポリペプチド鎖上での分布状態については細胞によってかなり差異のあることが明らかにされた。このうち O-グリコシド型糖タンパク質は正常肝の原形質膜には存在しないものである。

原形質膜ムコ多糖としては、AH66, AH130 ではヘパラン硫酸、自由型細胞といわれる AH66F ではコンドロイチン硫酸が検出された。これらのムコ多糖の細胞表面における存在状態を知る手がかりを得るため、細胞から酵素的にムコ多糖を除去することによるレクチン結合能の変化を調べた。AH66 ではトリプシンによりムコ多糖を除去してもコンカナバリンAやヒマレクチンの結合に変化は見られなかったが、AH130FN ではコンドロイチナーゼによるムコ多糖の除去によりヒマレクチンの結合量が著しく増大した。これらのことは細胞表面においてムコ多糖と他の複合糖質とが細胞ごとに固有の配置をとっていることを示している。

以上、本論文は癌細胞原形質膜の複合糖質を化学的に研究していくつかの重要な知見を得ている。その知見のあるものは新しい癌診断法の確立にもつながるものである。

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。