

氏 名 (本籍)	こめ だ か じゅう ろう 米 田 嘉 重 郎 (奈良県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 1 1 9 号
学位授与年月日	昭 和 4 8 年 3 月 2 7 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	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 畜産学専攻
学位論文題目	エステラーゼ多様分子型の遺伝的支配 ならびに生理的調節

(主 査)

論文審査委員	助教授 水 間 豊 教授 津 田 恒 之
	教授 木 村 修 一

論文内容要旨

家畜育種学上、酵素の多様分子型（アイソザイム）の遺伝的変異と量的形質との結びつきを検討しようとする研究がみられるが、それらの研究は現象面での関連を追求している段階に止まっている。多様分子型と量的形質の結びつきを計るには、アイソザイムの遺伝的変異と生理的調節機構との関連について検討し、アイソザイムのもつ生理的意義を明らかにすることがまず必要であろう。

本研究は、脂肪代謝に関連するエステラーゼ多様分子型の生理的意義を明らかにするための基礎として、その多様分子型の遺伝的支配ならびに生理的調節機構を、家畜のパイロットアニマルとしてのマウスの血清および臓器について明らかにしようとしたものである。

おもな結果を要約すれば以下のとおりである。

1. マウスの臓器エステラーゼ多様分子型とその分類

本研究のためには、エステラーゼの適確な分離方法を確立し、その活性帯の分布を知ることが必要である。

臓器エステラーゼは、Ashton が考案した不連続緩衝液を若干修正したことにより、澱粉ゲル電気泳動の分離能が向上し、総数25本（5群）の活性帯（以後エステラーゼ活性帯を番号で示す）に分離することができた。

検出された活性帯は、臓器間の差異や同じ臓器においても系統や性の違いにより差がみられるが、それらの活性帯は、肝臓20本、腎臓17本、子宮12本、乳腺13本および脂肪組織12本となった。7本の活性帯については、各臓器に共通であった（図-1）。

おのおのの活性帯は、基質特異性、阻害剤に対する態度から、アリエステラーゼ、アリルエステラーゼおよびコリンエステラーゼの3群に区別されたが、アリエステラーゼ群に属するものが大半であった（図-1）。

2. マウスの臓器エステラーゼ多様分子型の生理的変動

マウスの肝臓・腎臓・子宮および乳腺エステラーゼ多様分子型が、成長・妊娠・泌乳などの生理的条件下で、いかなる変動を示すかを検討した。

肝臓Ⅰ-10の活性は、4週令まで、腎臓Ⅰ-10のそれは6週令まで上昇するがそれ以後安定し、雄の方が常に雌よりも高く、これには性ホルモンの関与が示唆された。しかし、子宮および乳腺エステラーゼ活性の性周期の変化に伴い明らかな変動はみられなかった。

子宮Ⅱ-20の活性は、妊娠初期に急激に上昇し、それ以後は逆に低くなり、妊娠19日目でもっとも低くなったが、分娩後すぐに回復し正常レベルになった。このようなⅡ-20の活性の

変動は、初期胚の発育と関連するものと考察できる。また、乳腺Ⅱ-20の活性は、妊娠ならびに泌乳に伴い顕著な変動を示し、泌乳生理と関連を有していることが示唆された。

3. マウスの臓器アリエステラーゼ活性におよぼす性ホルモンの影響

性差が検出された肝臓および腎臓Ⅰ-10の活性と、妊娠・泌乳に伴い顕著な変動を示した子宮および乳腺のⅡ-20の活性には、性ホルモンの関与が示唆されたので、その点を検討した。雌の肝臓Ⅰ-10の活性は、卵巣摘出により明らかに低下するが、エストロンとプロゲステロンのそれぞれ単独投与により正常レベルに回復した。一方、雌より高い雄のⅠ-10の活性は、精巣摘出により正常雌とほぼ同様のレベルまで低下するが、テストステロンプロビオネート投与により、その活性は正常レベルに回復する。したがって、雌のⅠ-10の活性は、女性ホルモンと黄体ホルモンにより、また雄のそれは、男性ホルモンによって促進されていることが明らかとなった。

腎臓Ⅰ-10の活性は、去勢および性ホルモン投与実験の結果から、女性ホルモンの影響はなく、男性ホルモンによってのみ促進されていると推察できる。

子宮Ⅱ-10とⅡ-20（Ⅱ-10のみをもつ系統と、Ⅱ-20のみをもつ系統が存在する）の活性は、卵巣摘出および性ホルモン投与実験から、女性ホルモンによって促進されていること、また、乳腺Ⅱ-20の活性は、子宮Ⅱ-20のそれと同様に女性ホルモンによって影響されていることが明らかとなった。

4. マウスの血清および臓器アリエステラーゼ活性におよぼす甲状腺ホルモンの影響

成長・妊娠・泌乳に伴い顕著な変動を示した各種臓器アリエステラーゼ活性と血清アリエステラーゼ活性について、甲状腺ホルモンの影響を検討した。

血清エステラーゼは、10本の活性帯からなる（図-2）。血清Dの活性は、甲状腺摘出により顕著に上昇し、L-サイロキシン投与により顕著に低下した（図-3）。Dの活性が遺伝的に陰性である系統では、甲状腺摘出によっても、その活性を発現させることができなかった。これらの変化とは逆に、肝臓Ⅰ-10の活性は、甲状腺摘出により明らかに低下し、L-サイロキシン投与により、顕著に上昇して正常レベル以上になった（図-4）。

以上の結果から、血清Dの活性は、甲状腺ホルモンによって、敏感に抑制され、一方、肝臓Ⅰ-10の活性は、明らかに促進されていると考察した。

腎臓・子宮・乳腺・脂肪組織のエステラーゼ活性におよぼす甲状腺ホルモンの影響は、明らかにできなかった。

5. マウスの臓器アリエステラーゼの遺伝的支配様式

イ. 肝臓アリエステラーゼ, I-10の活性の遺伝的支配様式

性ホルモンと甲状腺ホルモンによる二重の調節が明らかとなった肝臓I-10の活性レベルは雌において系統間差が明らかで、高活性タイプ・ E_S-8B (RR系統), それよりも明らかに低いタイプ・ E_S-8A (SS, C57BL/6, C3H/HeJ, C3H/He, CFW系統)にわけられた。RRとSS系統を用いた種々の交配の結果から, これらの変異は, 常染色体上の一対の共優性の対立遺伝子 (E_S-8A, E_S-8B)によって支配されていると推察した (表-1)。

ロ. 腎臓アリエステラーゼ, I-10の活性の遺伝的支配様式

正常雄の腎臓I-10の活性レベルは精巣摘出によって低下するが, その低下の程度には系統間変異が存在する (精巣摘出の影響が強いタイプ・CFWおよびSS系統, その影響をほとんど受けないタイプ・RR系統)。そこで, この変異の遺伝について種々の交配を行なって検討した結果から, この変異の遺伝は常染色体上の一対の共優性の対立遺伝子 (E_S-9A, E_S-9B)によって支配されていると推察した。

ハ. 子宮および乳腺アリエステラーゼの遺伝的支配様式

女性ホルモンの影響を受ける子宮および乳腺エステラーゼのII-10とII-20の遺伝的支配を検討したところ, 常染色体上の一対の共優性の対立遺伝子 (E_S-7A, E_S-7B)によって支配されていることが明らかとなった。

6. 自然発生肥満マウスにおけるアリエステラーゼ活性の変異

1~5で明らかにしたエステラーゼの遺伝的支配および生理的調節機構を基礎に, 糖尿および性ホルモン分泌異常を伴わない自然発生肥満マウスの血清Dと肝臓I-10および脂肪組織エステラーゼの活性の変異について検討した。

肥満マウスの血清Dの活性は, 正常のそれに比べわずかに高く, 逆に肝臓I-10の活性はわずかに低下していた。このことと4で述べたことから, 肥満マウスの甲状腺ホルモン分泌は低下していると推察した。また, 肥満マウスの脂肪組織の大半の活性帯の活性は, 対照区のそれに比べ明らかに低下していることが注目された。

肥満マウスにL-サイロキシンを投与して治療を行なうと, 体重の減少とともに腹腔内脂肪の減少が著しく, 血清Dの活性はほぼ消失し, 逆に肝臓I-10の活性は顕著に高くなった。さらに脂肪組織の大半の活性帯の活性は明らかに高くなった。これらのことから, 血清Dと肝臓I-10の活性とは, 腹腔内脂肪の動きと密接な関係を有していることが明らかとなった。

7. 実験的肥満マウスにおけるアリエステラーゼ活性の変異

血清Dおよび肝臓I-10の活性と腹腔内脂肪との関連をさらに追求するため、グルタミン酸ナトリウム投与による肥満マウス(糖尿を伴わない)を造って検討した。

肥満マウスの血清Dの活性は、対照区に比べ著しく低下していた(C57BL/6系統)。逆に肥満マウスの肝臓I-10の活性は明らかに上昇していた(C57BL/6, SS, C3H/He系統)。しかし系統(ICR/JCL)によっては、肝臓I-10の活性に変化はなかった。

これらのことと4で述べたことから、本肥満マウスのなかには、甲状腺~~分泌~~^{機能}亢進が暗示される系統のあることが推察された。

本肥満マウスにL-サイロキシンを投与して治療を試みたところ、雌雄ともに顕著な体重減少がみられ、腹腔内脂肪も著しく減少した。その場合血清Dの活性は雌雄ともにほぼ消失し、肝臓I-10の活性は顕著に高くなった。また脂肪組織エステラーゼの活性も明らかに上昇した。これらの結果は、6で述べた自然発生肥満マウスでの結果と一致している。

8. 実験的肥満マウスの甲状腺機能

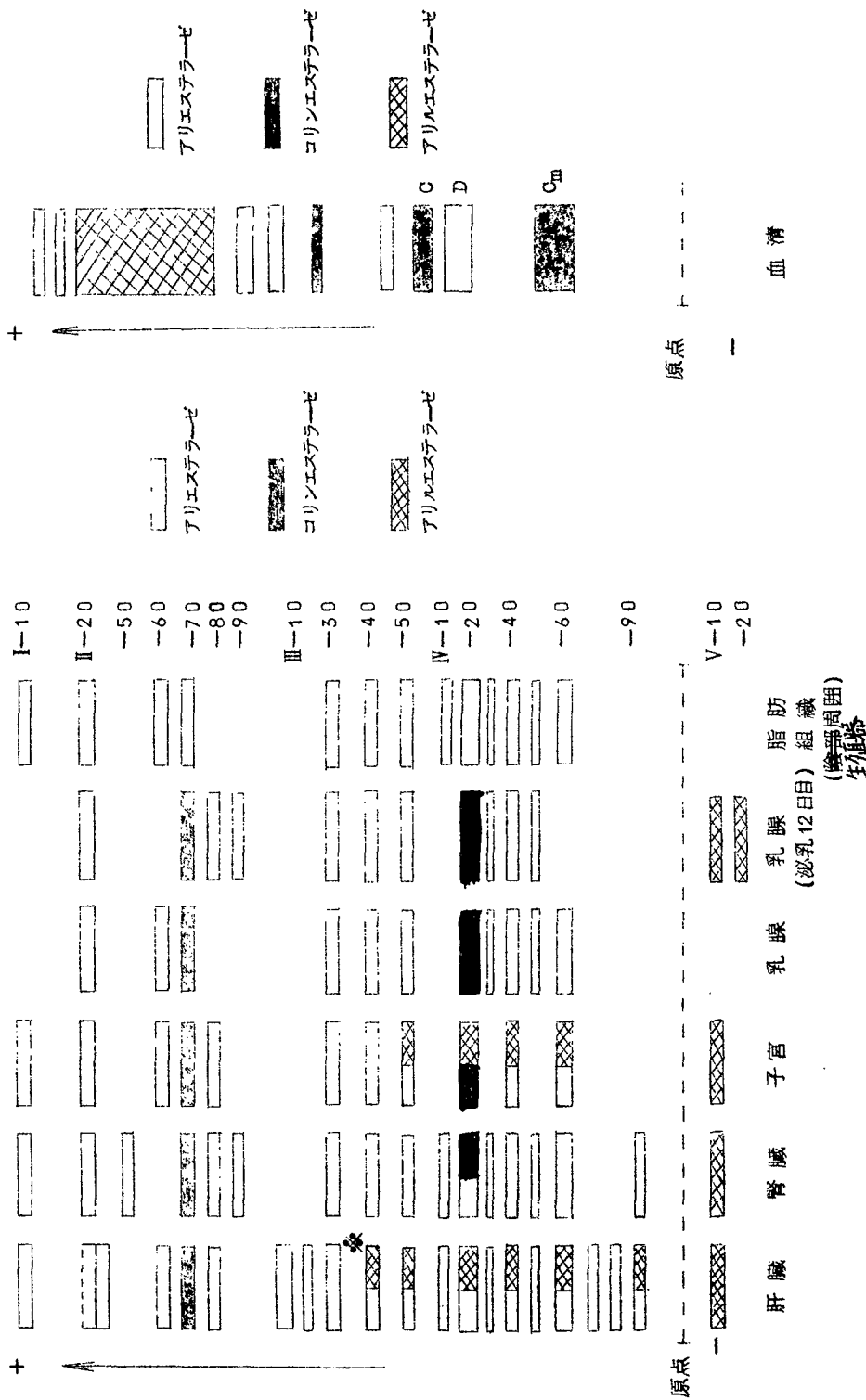
血清Dと肝臓I-10の活性の変異と甲状腺機能との関連を追求するため、肥満程度の異なる3系統の肥満マウスを用いて甲状腺機能を測定した。

グルタミン酸投与後の成長がゆるやかなSS系統(図-5)の肥満マウス(60日令)は、対照区に比べ、有意に高い¹³¹I摂取率を示した(表-2)。このことはSS系統とほぼ同じ成長を示すC3H/He系統においても確められた。しかし、甲状腺重量、血清¹³¹I-FBIおよび¹²⁵I-MIT/¹³¹I-DIT~~比~~には肥満区と対照区の間には差はなかった。これら2系統とは異なり、ほぼ直線的な成長を示したICR/JCL系統(図-6)での¹³¹I摂取率には肥満区と対照区の間には差はなかった。

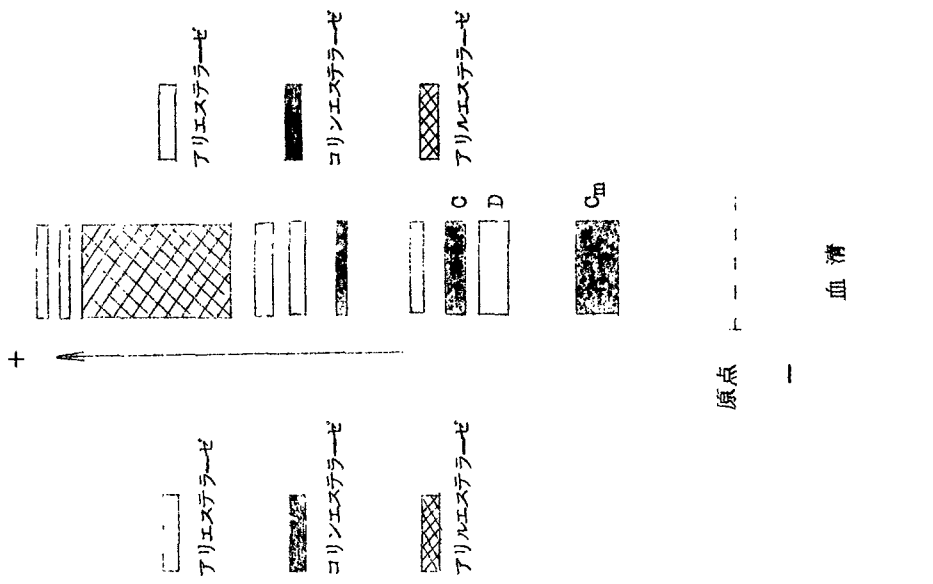
以上の結果と、6および7で述べたことから、SS, C3H/HeおよびC57BL/6系統の本肥満マウスでは、甲状腺~~分泌~~^{機能}亢進がおこり、その影響下にある血清D、肝臓I-10および脂肪組織エステラーゼをはじめ他の脂肪分解酵素系が働くという自己調節機構により脂肪蓄積が抑えられており、一方この機構が働かないと考えられるICR/JCL系統の~~マウス~~^{マウス}が顕著になる。

以上のように、本研究では、マウスのエステラーゼ多様分子型のうち、とくに血清Dと肝臓I-10の活性は遺伝的に支配されているとともに性ホルモンおよび甲状腺ホルモンによって調節されていることが明らかとなった。このことは、自然発生肥満および実験的肥満マウスを用いた分析からもまた甲状腺機能を実際に測定したことから裏付けられた。

本研究の結果、エステラーゼ多様分子型は、遺伝的に支配されているとともに複雑な生理的調節を受けながら、生体での脂肪代謝に密接に関連をもっていることが明らかとなった。



図一1. マウスの臓器エステラーゼザイモグラムの模式図
 象：アリエステラーゼとアルエステラーゼが重なっていることを示す。



図一2. マウスの血清エステラーゼ
 ザイモグラムの模式図

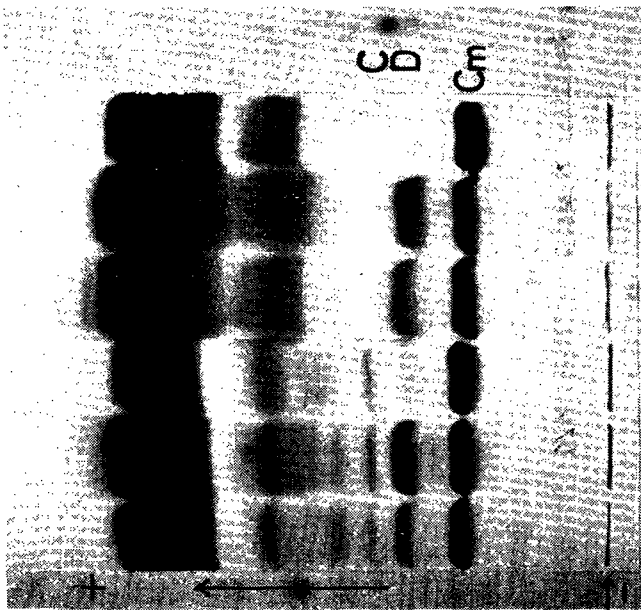


図-3 マウスの血清エストラゼ活性に
あよぼす甲状腺ホルモンの影響

基質…… α -ナフチルアセテート
 1), 4) 正常
 2), 5) 甲状腺摘出
 3), 6) 甲状腺摘出+L-チロキシン

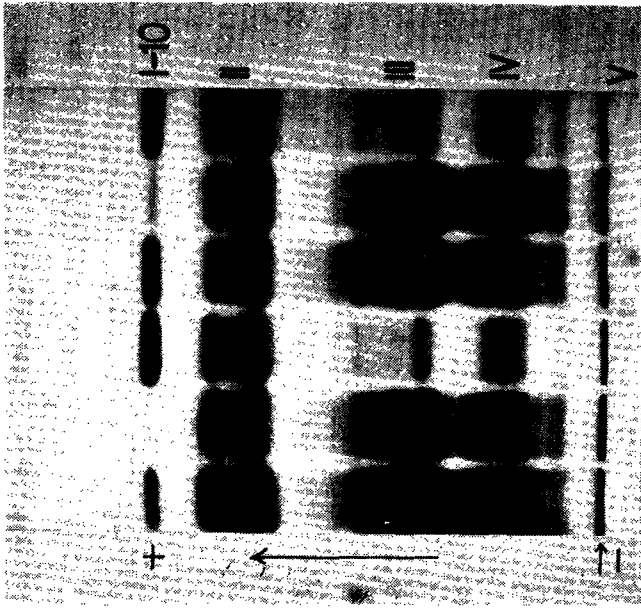
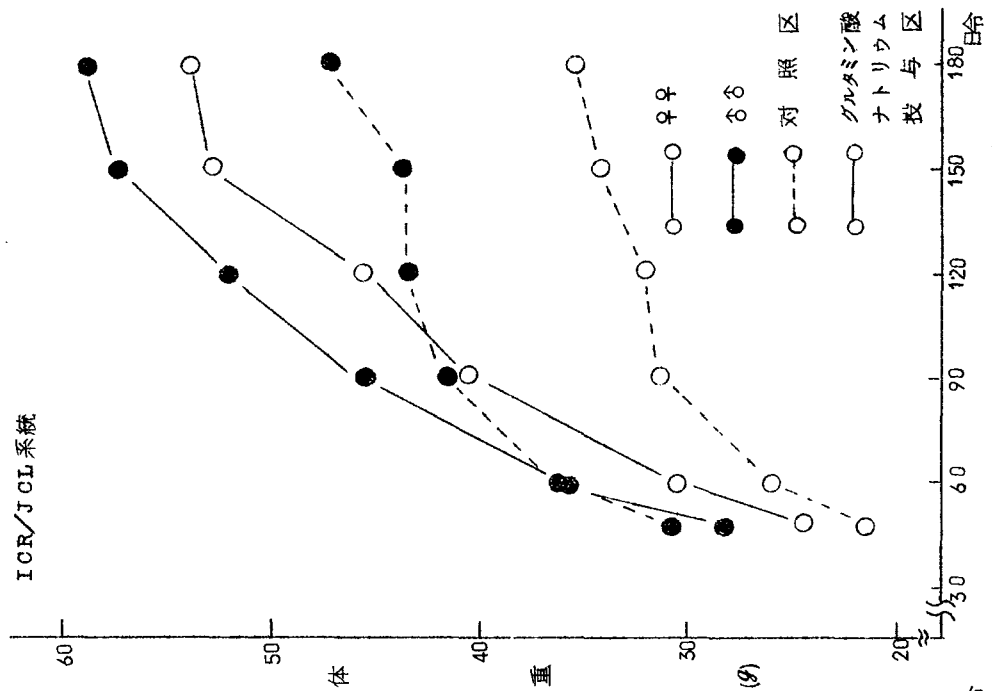
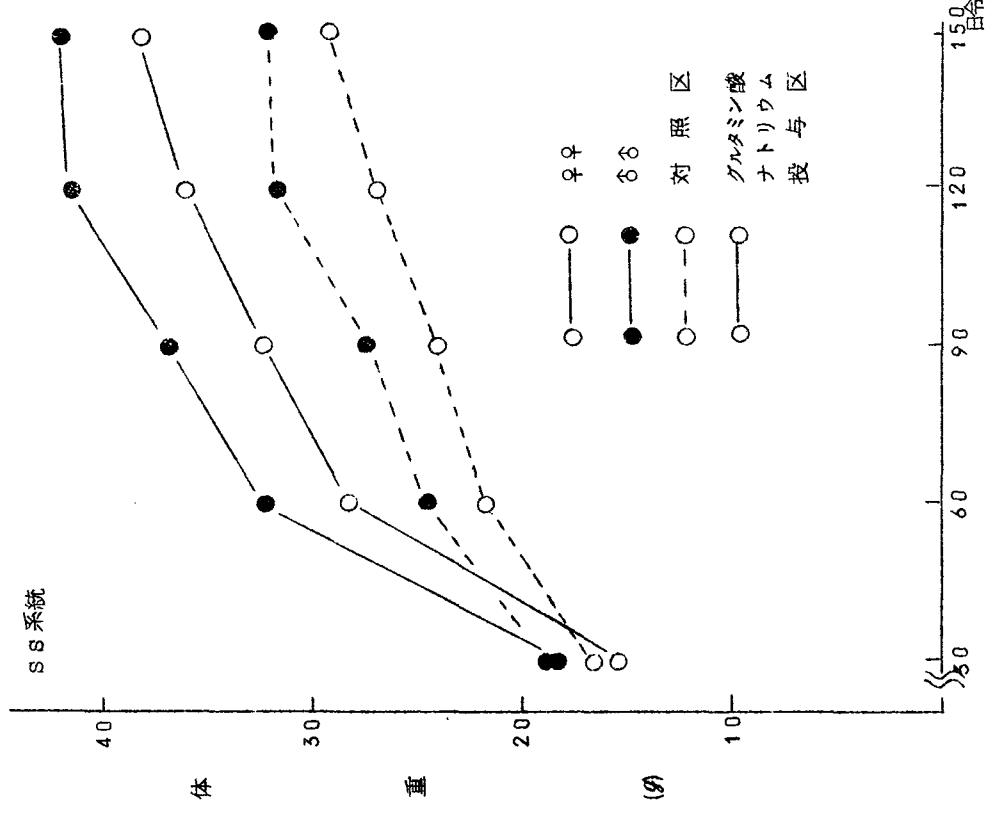


図-4 マウスの肝臓エストラゼ活性に
あよぼす甲状腺ホルモンの影響

基質…… α -ナフチルアセテート
 1), 4) 正常
 2), 5) 甲状腺摘出
 3), 6) 甲状腺摘出+L-チロキシン



図一6. グルタミン酸ナトリウム投与マウスの成長



図一5. グルタミン酸ナトリウム投与マウスの成長

表-1. 肝臓エステラーゼタイプに関する交配結果

交 配 様 式		仔雌マウスのエステラーゼタイプ			χ^2 値
系 統	タ イ プ	E _S -8A	E _S -8AB	E _S -8B	
SS × SS	E _S -8A × E _S -8A	10	0	0	
RR × RR	E _S -8B × E _S -8B	0	0	9	
SS × RR (F ₁)	E _S -8A × E _S -8B	0	16	0	
RR × SS (F ₁)	E _S -8B × E _S -8A	0	15	0	
F ₁ × F ₁	E _S -8AB × E _S -8AB	21	55	18	2.91

表-2. グルタミン酸肥満マウスの甲状腺機能

SS系統(60~63日令)

	雌		雄	
	対 照	肥 満	対 照	肥 満
体 重 g	2 0.3 ± 2.5 (7)	2 7.8 ± 3.3 (8)	2 5.4 ± 1.8 (6)	3 3.4 ± 4.1 (8)
甲状腺重量 mg	3.2 ± 0.3 9	3.4 ± 0.5 3	3.7 ± 0.6 5	4.0 ± 0.6 9
¹²⁵ I 摂取率 %	7.0 ± 2.9	1 1.3 ± 3.9	1 1.7 ± 2.6	1 7.1 ± 3.4
¹²⁵ I-PBI 比	0.7 0 ± 0.1 1	0.7 6 ± 0.1 3	0.7 8 ± 0.0 3	0.8 3 ± 0.0 6
¹²⁵ I-PBI / ¹²⁵ I-TIT 比	0.6 9 ± 0.0 6	0.7 0 ± 0.0 6	0.7 5 ± 0.0 2	0.7 7 ± 0.0 4

※: 平均 ± 標準偏差 (): 例数

審査結果の要旨

近年蛋白質の多型現象と量的形質との関連を追究しようとする研究が行なわれている。本研究はエステラーゼ多様分子型の活性の遺伝的支配ならびに生理的調節について明らかにし、多様分子型のもつ生理的意義を検討しようとしたものである。

エステラーゼ多様分子型の分離方法を改良し、その方法を用いて、マウスの肝臓・腎臓・子宮・乳腺・脂肪組織のエステラーゼ活性帯の分布状況を調査した。活性帯の数は臓器により異なるが12～20本に分れること、大部分はアリエステラーゼで、一部がアリルおよびコリンエステラーゼであることを示した。そしてアリエステラーゼ群に属するいくつかの活性帯の活性が、成長・妊娠・泌乳などの生理的条件の変化に伴って変動することを明らかにした。

次にこれらのエステラーゼのうち、遺伝的支配が明らかにされていなかった子宮および乳腺のⅡ-10とⅡ-20の関係、肝臓Ⅰ-10の活性の高低および腎臓Ⅰ-10の活性レベルの変異について、近交系マウスを用いた種々の交配試験を行なって、遺伝解析を行ない、いずれもこれらの変異が座を異にする常染色体上の共優性遺伝子によって支配されていることを証明した。

そこで遺伝的に支配されており、かつ生理的条件によって変動するこれらのエステラーゼ多様分子型の実態を明らかにするため、ホルモンによる調節の有無を調査した。その結果、肝臓・腎臓・子宮エステラーゼの活性のレベルが性ホルモンによって調節されていること、さらに肝臓アリエステラーゼⅠ-10および血清アリエステラーゼD活性が甲状腺ホルモンによって調節されていることを明らかにした。肝臓Ⅰ-10の活性が遺伝的支配を受け、さらに性ホルモンと甲状腺ホルモンによる二重調節を受けていることを示したことは重要である。

次に血清Dおよび肝臓Ⅰ-10の活性を自然発生の肥満マウスを材料にして検討した結果から、これらのマウスは甲状腺機能が低下していると推定し、甲状腺ホルモンによる治療を試みて、これらの活性を正常に戻すとともに肥満を消失させる結果を得た。このことから次には4系統のマウスを用い、生後1日目のマウスの皮下にグルタミン酸ナトリウムを注射することによってひきおこした実験的肥満マウスについて検討した。肥満の程度に系統間で差がみられ、このことが肝臓Ⅰ-10および血清Dの活性レベルの変化ならびに甲状腺機能の実際の測定値と関係していることを明らかにした。

以上本研究はエステラーゼ多様分子型の活性が遺伝的に支配されていることを明らかにするとともに、遺伝的支配下にある血清および臓器アリエステラーゼ活性と、それらのもつ生理的意義との関係について一つの手がかりを与えた。

よって審査員一同は著者は農学博士の学位を授与される十分な資格があると判定した。