

A-5. γ -GTP の生体内運命、血清、胆汁への逸脱機構

松田佳子 辻明彦 久野建夫
勝沼信彦

徳島大学医学部 酵素化学

Fate of γ -Glutamyltranspeptidase; Mechanisms of Enzyme Release into Serum and Bile

Yoshiko MATSUDA, Akihiko TSUJI, Tateo KUNO and Nobuhiko KATUNUMA

Department of Enzyme Chemistry, School of Medicine,
The University of Tokushima, Tokushima

Summary

γ -Glutamyltranspeptidase (γ GTP) is a glycoprotein composed of two nonidentical subunits and localized on brush border membrane of proximal tubules of the kidney and the small intestine and on bile canalicular membrane of the liver. γ -GTP is composed of multiple forms that have different isoelectric points and the heterogenous electrophoretic mobilities due to the heterogenous sugar chains bound to the enzymes.

γ -GTP is solubilized by the treatment either with Triton X100 (T- γ GTP) or with papain (P- γ GTP) and γ GTP in serum is mostly P- γ GTP, whereas bile γ GTP is T- γ GTP. Amino-terminal portion of the heavy subunit is a membrane binding segment of γ GTP. γ GTP is synthesized as a precursor form with a single polypeptide chain and then processed into the mature form with hetero dimer by means of protease.

緒言

γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP) は腎臓、小腸の刷子縁膜、肝臓の毛細胆管膜、脳の脈絡叢など細胞膜上に外側に向けて結合している糖蛋白質である。アルコールや薬剤による肝障害時、胆汁のうっ滞のあるときに、患者の血中の本酵素が著明に増加すること、又肝臓癌の患者の血清中の γ -GTP は正常人の血中酵素と電気泳動上の移動度が異なることが知られている。我々は γ -GTP の生合成と細胞内移行、膜への組み込みと膜からの遊離の機構について解析を行い、胆汁、血清中の γ -GTP の由来についての知見を報告する。

実験材料と方法

ウィスター系オスラット (体重 150~200g) を用い、放射性アミノ酸、又は糖を尾静脈より注射後、腎および肝を 1% トリトン X 100 で抽出し、特異抗 γ -GTP を加えて免疫沈降物を SD

S を含むポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけ、ゲルを 1mm 毎の切片とし、とかして放射能を測定した。臓器からトリトン X 100 で抽出した γ -GTP を T- γ -GTP、パパインで可溶化した γ -GTP を P- γ -GTP とし、血清や胆汁をアセトン (70%) 下で沈殿とし、トリトンを含まない緩衝液で抽出されるのを P- γ -GTP 1% トリトン X 100 を含む緩衝液で抽出されるものを T- γ -GTP とした。 γ -GTP の酵素活性は γ -グルタミル *p*-ニトロアニリドを基質としてグリシルグリシン存在下に *p*-ニトロアニリンの遊離を測定した。蛋白量は牛血清アルブミンを標準として測定した。

実験成績と考察

1) γ -GTP の多様性と結合糖鎖構造

ラット腎 γ -GTP は等電点の異なる 13 のバンドに分けられるが、それらは蛋白部分は同じであるが結合している糖鎖の数が異なることを明ら

かにした^{1,2)}. 等電点がより酸性の酵素程シアル酸含量の多い糖鎖が結合している.

2) γ -GTPの可溶化

γ -GTPは細胞膜に強固に結合している酵素であるが, 1%トリトンX100のような界面活性剤で可溶化すると膜結合部位を保持した疎水性酵素(T- γ -GTP)となる. 一方バインのようなプロテアーゼで可溶化すると, 膜結合部位を失って親水性の酵素(P- γ -GTP)となる. γ -GTPの重サブユニットのアミノ末端部に膜結合部位が存在し, 軽サブユニットは膜と結合していない^{3,4)}. 血清中 γ -GTPは80%以上がP- γ -GTPであるが, 胆汁うっ滞のある場合はT- γ -GTPの含量が増加する. 一方胆汁中の γ -GTPは大部分T- γ -GTPである⁵⁾.

3) γ -GTPの生合成

ラットに³⁵S-メチオニン, 又は³H-フコースを注射, 60分後に腎を摘出, トリトンX100抽出液に抗 γ -GTP血清を加え生じる免疫沈降物をSDS-電気泳動にかけると分子量50Kと23K(重サブユニットと軽サブユニット)以外に78Kの前駆体が存在する⁶⁾. 前駆体は半減期53分で大小二つのサブユニットに転換する. 又前駆体からサブユニットの生成は大部分刷子縁膜で起る⁷⁾.

4) γ -GTPの代謝回転

肝のミクロソーム分画を胆汁で処理すると膜結合 γ -GTPは定量的に可溶化され, 胆汁による

膜結合 γ -GTPの可溶化は*in vivo*でもおこると考えられる. 又, 腎刷子縁に結合している γ -GTPとアミノペプチダーゼMは夫々異なった半減期を示し, 刷子縁結合酵素が一樣の代謝回転をしていないことを示している⁶⁾.

5) γ -GTPの膜結合様式

Fig.1に γ -GTPの構造と膜との結合様式を模式的に示した.

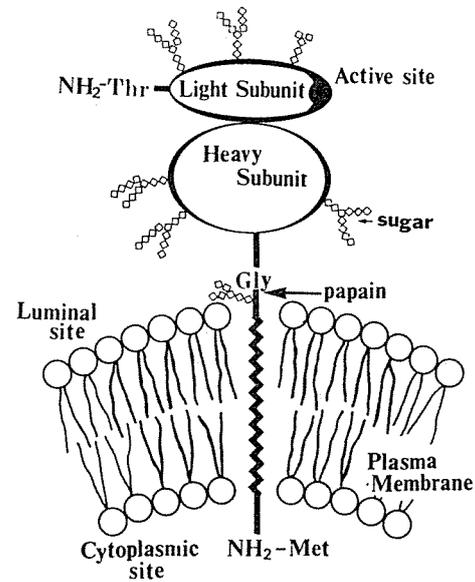


Fig. 1

文献

- 1) Matsuda, Y., Tsuji, A. and Katunuma, N.: *J. Biochem.* **87**, 1243 (1980)
- 2) Yamashita, K., Hitoi, A., Matsuda, Y., Tsuji, A., Katunuma, N. and Kobata, A.: *J. Biol. Chem.* **258**, 1098 (1983)
- 3) Tsuji, A., Matsuda, Y. and Katunuma, N.: *J. Biochem.* **87**, 1567 (1980)
- 4) Matsuda, Y., Tsuji, A. and Katunuma, N.: *J. Biochem.* **93**, 1427 (1982)
- 5) Tsuji, A., Matsuda, Y. and Katunuma, N.: *Clin. Chim. Acta*, **104**, 361 (1980)
- 6) Matsuda, Y., Tsuji, A. Kuno, T. and Katunuma, N.: *J. Biochem.* **94**, 755 (1983)
- 7) Kuno, T., Matsuda, Y. and Katunuma, N.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **114**, 889 (1983)