



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Mg, Ca 及び Zn のヒトアルカリ性ホスファターゼ活性に対する作用 [論文内容及び審査の要旨]                                                                        |
| Author(s)           | 半谷, 純一                                                                                                                    |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                     |
| Degree Name         | 博士(歯学)                                                                                                                    |
| Dissertation Number | 甲第12156号                                                                                                                  |
| Issue Date          | 2016-03-24                                                                                                                |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/62173">https://hdl.handle.net/2115/62173</a>                                         |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                           |
| File Information    | Junichi_Hanya_review.pdf, 審査の要旨                                                                                           |



# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（歯学）      氏 名    半谷   純一

|           |          |       |
|-----------|----------|-------|
|           | 主査 教 授   | 鈴木 邦明 |
| 審 査 担 当 者 | 副査 特任准教授 | 本多 丘人 |
|           | 副査 教 授   | 田村 正人 |

## 学 位 論 文 題 名

Mg, Ca 及び Zn のヒトアルカリ性ホスファターゼ活性に対する作用

審査は、審査担当者全員の出席の下、申請者より提出論文の概要の説明を行いながら、審査担当者が随時提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

ヒトアルカリ性ホスファターゼ（ALP）は、遺伝子レベルで臓器特異的な小腸型、胎盤型、胚細胞型と臓器非特異型である骨型、肝臓型などに分類される。ヒト胎盤型 ALP の結晶構造の解析により 1 個のサブユニットあたり 1 個の Mg と Ca 及び 2 個の Zn の結合部位の存在が示されたが、ALP 活性における各イオンの機能については不明な点が多い。そこで、骨型の ALP を中心に ALP 活性における Mg, Ca 及び Zn の役割を明らかにすること、ALP 活性の至適 pH 及び基質への親和性が Mg, Ca 及び Zn によって異なるのか否かを明らかにすることを目的に本研究を行った。

ALP 活性の測定において、Mg 存在下で測定される ALP 活性を Mg-ALP, Ca 存在下の活性を Ca-ALP, Zn 存在下の活性を Zn-ALP とした。ヒト由来の骨型、肝臓型、胎盤型及び小腸型 ALP を購入して使用し、基質としてパラニトロフェニルリン酸（*p*-NPP）、ナトリウムピロリン酸（Na-PPi）を、ALP 活性阻害剤として levamisole と tetramisole を使用し、以下に述べる結果を得た。

1. 骨型 ALP の Mg, Ca 及び Zn 濃度依存性を *p*-NPP 及び Na-PPi を基質として測定すると、Mg, Ca 及び Zn はそれぞれ異なった濃度依存性で両基質に対する加水分解活性を示した。
2. 骨型 ALP による Mg-ALP, Ca-ALP 及び Zn-ALP 活性の pH 依存性を *p*-NPP 及び Na-PPi を基質として測定したが、統一的な結果を得ることはできなかった。
3. 骨型 ALP 活性における Mg, Ca 及び Zn の共存効果を調べると、Mg と Ca 及び Mg と Zn による活性化は相加的であり、それぞれのイオンが独立して ALP を活性化することを示唆した。
4. *p*-NPP あるいは Na-PPi を基質とした Mg, Ca, Zn-ALP 活性は、いずれも ALP 阻害剤である tetramisole 及び levamisole の濃度に依存して阻害される

ことを確認した。5. 骨型 ALP による Mg-ALP, Ca-ALP 及び Zn-ALP 活性の *p*NPP, Na-PPi 濃度依存性を調べたところ、各活性の基質に対する親和性はイオンの種類及び基質の種類によって異なった。6. Mg, Ca 及び Zn に対する骨型、肝臓型、胎盤型及び小腸型各 ALP アイソザイムの親和性はアイソザイムの種類によって異なった。7. 各アイソザイムの Mg-ALP, Ca-ALP 及び Zn-ALP 活性の pH 依存性は、*p*NPP を基質とすると、Mg-ALP, Ca-ALP 及び Zn-ALP 活性すべてにおいて骨型、肝臓型及び小腸型は類似した pH プロファイルとなるが胎盤型は異なった。しかし、Na-PPi を基質にすると骨型と小腸型は類似した pH プロファイルとなり、肝臓型と胎盤型は大きく異なった。8. Na-PPi は骨型の生理的な基質とされていることから、胎盤型及び小腸型と比較したが、Mg-ALP の Na-PPi に対する親和性は類似していた。

以上の結果は Mg, Ca 及び Zn は独立して ALP 活性を促進することが可能であり、活性の至適 pH 及び基質に対する親和性は存在するイオンによって変化するを示唆した。ALP の生体内での機能が存在する 2 価金属イオンと基質の種類によって変化する可能性がある。

引き続き論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1. なぜ、*p*NPP と Na-PPi を基質に使用したのか。Na-PPi は生体内ではどの部位でどのように形成されるのか。
2. 使用した Mg, Ca, Zn の濃度は生体内で存在する範囲か。
3. *p*NPP 及び Na-PPi で基質阻害がかかる理由は。
4. Mg, Ca, Zn 単独で ALP が活性化されることは生体にとっては有利に作用するのか否か。
5. 各イオンで活性化される ALP 活性の pH 依存性を調べた理由は。
6. Na-PPi を基質にした際に Mg, Ca, Zn で親和性が異なるのは何を意味するのか。
7. 今回使用した基質以外ではどうか、またヒト以外の ALP でも同様の結果となるのか否か。

以上の質問に対して申請者から適切かつ明確な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて、申請者は本研究ならびに関連分野に関して十分理解していること、幅広い知識を有していることを確認し、本研究のさらなる発展も期待された。

以上のことから、審査委員は全員、本研究が学位論文に十分に値し、申請者が歯学博士の学位を授与される資格を有するものと認めた。