

Title	3-メチルコラントレンを投与したラット肝ミクロゾームのUDP-グルクロニルトランスフェラーゼの精製と性質
Author(s)	横田, 博
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/1584
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【40】

氏名・(本籍)	よこ 横	た 田	ひろし 博
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	7592	号
学位授与の日付	昭和62年3月18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	3-メチルコラントレンを投与したラット肝ミクロゾームのUDP- グルクロニルトランスフェラーゼの精製と性質		
論文審査委員	(主査) 教授	佐藤	了
	(副査) 教授	堀尾 武一	教授 松原 央

論文内容の要旨

肝におけるグルクロン酸抱合反応は薬物やビリルビンなどの解毒排泄にとって重要な反応である。しかし、この反応を触媒する酵素UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ(GTと略)については、その精製が容易でないために詳細な知見は今だに得られていない。そこで私は、特にこのGTの特微的性質である1分子種が多く、多くの薬物を抱合できる広い基質特異性や薬物投与による誘導性について、その実態を明らかにする目的で、まずGTの簡便な精製法を確立しその性質について検討した。

I. 精製法と基本的性質について

精製は肝ミクロゾームを0.6%コール酸で可溶化した後、DEAE-TOYOPEARL室温クロマトグラフィーとUDP-hexanolamineを用いたアフィニティークロマトグラフィーの2段階で完了した。得られた標品はSDS-PAGEで54Kに単一のバンドを示し、4-nitrophenolや1-naphtholなどのフェノール基を有する外因性薬物を抱合することから従来報告のあるGTに相当すると思われる。上記活性にphosphatidylcholineが必要であり、新たに内因性基質5-hydroxytryptamineも抱合できることを見出した。またこのGTは“High Mannose”型の糖鎖を含んでいた。

II. 誘導性について

特異抗体を調製し検討したところ、3-メチルコラントレンなどの誘導剤投与により、また2-アセチルアミノフルオレン投与により生じる肝増成結節細胞において、このGTが量的に増加することがわかった。さらに、このGTは腎・腸・肺のミクロゾームにも存在し、誘導剤投与により量的に増加することを見出した。肝でのこうしたGT分子の量的増加はこのGTをコードするmRNAの増加であった。

Ⅲ.小胞体膜内での存在状態について

このGTの糖鎖は、GTがミクロゾーム小胞内にあるときはCon A-Sepharoseと結合せず、可溶化されてはじめて結合できた。つまり、この糖鎖は小胞体膜のルーメン側に位置していた。GT抗体がミクロゾーム小胞の表面に結合し、その小胞をトリプシンで処理したときには、GT分子の8Kの大きさのポリペプチドが切断された。つまり、このGTは小胞体表面に少なくとも8Kの分子を有するtransmembrane glycoproteinであった。

今後は、これらの各領域を分離精製し、活性発現における役割や小胞体膜との相互作用を検討し、GTの特徴の1つである広い基質特異性についての知見を得たい。

論文の審査結果の要旨

肝細胞ミクロゾームに局在するUDP-グルクロニルトランスフェラーゼ(GT)は薬物や内在性基質のグルクロン酸抱合を触媒し、それらの解毒・排出に重要な役割を果たしている。しかし、GTの精製はきわめて困難であるため、その性質については不明な点が多い。

横田君は3-メチルチラントレンを投与したラットの肝ミクロゾームから4-ニトロフェノールなどの薬物に対して高い抱合活性を示すGTの一種を簡単な方法で高収量で精製することに成功し、その基本的性質を明らかにした。すなわち、このGTが4-ニトロフェノールなどの薬物のほかに内因性基質であるセロトニンを抱合すること、その活性発現にはリン脂質、特にホスファチジルコリンが必須であること、またこのGTは高マンノース型の糖鎖を持つことなどを明らかにした。

次にこのGTに対する特異的抗体を用いることによって、ラットに3-メチルチラントレンなどの誘導体を投与することによって、また2-アセチルアミノフルオレン投与によって生ずる肝増成結節細胞において、このGTが増量していること、さらにこの増量はGTのmRNAの増加によることを示した。

さらに、このGTの糖鎖はミクロゾーム小胞の膜を可溶化したときにはじめてCon A-Sepharoseと結合することから、この糖鎖はミクロゾーム小胞の内腔に露出していると結論した。またこのGTに対するポリクローナル抗体がミクロゾーム小胞の外側表面に結合すること、小胞をトリプシンで処理するとGT分子から分子量約8,000のポリペプチドが切断され、分子量約46,000のGT断片が膜に留ることを見出した。これからこのGTは、ミクロゾーム小胞の外側に少なくとも分子量約8,000のポリペプチドを露出した膜を貫通した糖蛋白質であると結論した。

これらの結果は、従来不明の点が多かったGTについて多く新しい知見を加えたものであり、理学博士の学位に十分値するものと認められる。