

Title	Studies on the Classification of the Enzymes Hydrolysing Ester-form Drugs in Liver Microsomes
Author(s)	Iwatsubo, Katsuya
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/28718
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	岩 壺 克 哉
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 7 0 5 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 3 月 26 日
学位授与の要件	歯学研究科歯学基礎系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	肝マイクロゾーム中の Ester 型薬物の 加水分解酵素の分類に関する研究
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 山本 巖 教授 竹田 義朗 教授 横溝 一郎

論 文 内 容 の 要 旨

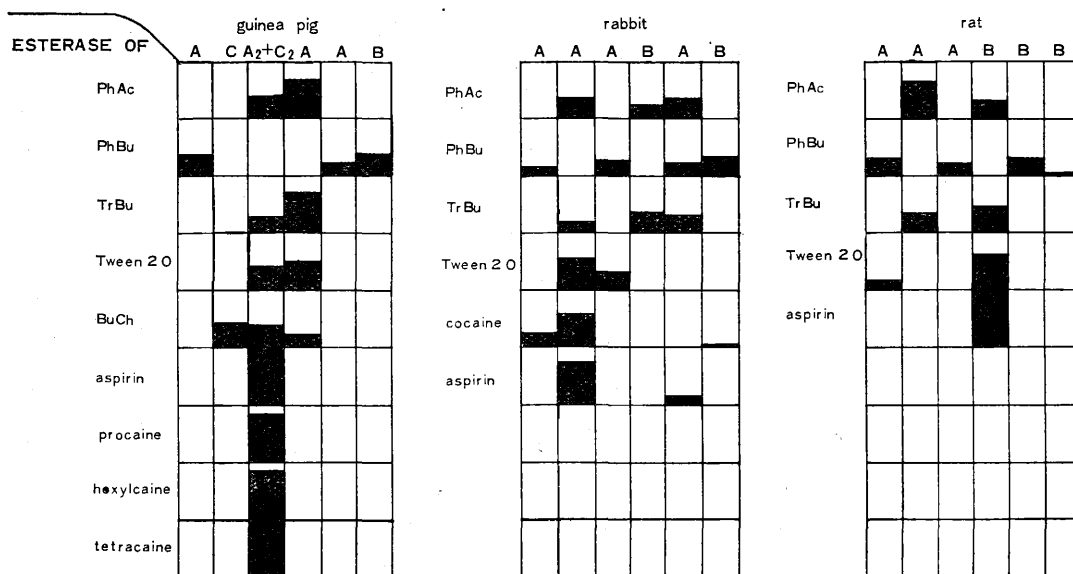
生体に投与された薬物は薬物代謝酵素による諸種の反応、即ち酸化、還元、抱合、加水分解等によって変化をうける。この反応は主に肝細胞 microsome において行なわれるが、この microsome は特に“hydrolytic particle”と言われる程多種の esterase を含有している。既に ester 型薬物である cholineester, aspirin, cocaine, procaine, atropine 等の肝組織における酵素的加水分解について報告されているが、これら肝 esterase の細胞内局在性や種類、性質については神経活動と関連する cholinesterase (ChE) 程詳しく知られていない。これら薬物の酵素的分解を追求することは薬理作用及び解毒機構の解明にとって意義あることと思われる。

本研究は sodium desoxycholate で“solubilize”した二、三のけっ歯類の肝細胞 microsome について、chromatography や preparative electrophoresis によってこのものを分画し、得られた esterase 画分を更に阻害剤に対する感受性の相違、並びに enzyme kinetics の点から microsome 中の esterase、なかんず薬物加水分解酵素の異同に関して検討を加えたものである。

基質として用いた化合物は phenyl acetate, phenyl butyrate, acetylcholine, butyrylcholine, tributyrin, Tween 20, aspirin, cocaine, procaine, hexylcaine, tetracaine である。solubilized microsome は次の如き方法で調製した。即ちモルモット、ラット、ウサギの肝細胞からの microsomal pellet を 0.5% sodium desoxycholate で処置して 6.6×10^6 g-min で遠心分離し、上清を試料とした。chromatography は 12×300 mm の DEAE-cellulose column を用い、試料 2 ml を注入し、0.005 M tris phosphate buffer (pH 8.0) と 0.5 M NaCl により gradient elution を行ない、約 70 画分を得た。electrophoresis は veronal buffer (pH 8.4I=0.1) を medium とした 20×400 mm の starch column に試料 2 ml を注入し、300 V, 25 mA, 30 時間通電した後、上記 buffer で置換して約 50 画分を得た。各 esterase は organophosphate (op) と eserine に対する感受性の相違により

基本的に三群, 即ち A-type esterase (op にも eserine にも阻害されない), B-type esterase (op には阻害されるが eserine には阻害されない), cholinesterase (op にも eserine にも阻害される) に分けられているが, 本研究における各 esterase 画分の呼称もこの方法によった。

モルモットの試料を DEAE-cellulose で chromatograph した後, 各 esterase 活性を測定したところ数個の esterase peak が得られた。しかしこの方法では A-type と B-type, あるいは A-type と ChE の分離は良好ではなかった。



各試料を electrophoresis で展開したところ, A-type, B-type 及び ChE はよく分離された。

モルモット, ラサギ, ラットにおける結果を模式図で示す。図中の黒地の部分は各基質に対する esterase 活性の割合である。ここで一般に次のことが認められた。即ち (1) これら三動物の肝 microsomal esterase は数個の主な esterase 画分に分離された。(2) electrophoresis 展開された microsome の蛋白の中央部分における esterase は最も多種の ester を分解した。(3) 一種の ester は多くの場合一種以上の esterase により分解された。(4) A-type esterase の electromobility は B-type のそれより大であった。

ここでモルモットの(A₂+C₂)画分において, aspirin, procaine, hexylcaine, tetracaine を基質とする esterase 活性が同一 peak として存在し, またこの画分の “procainesterase” と “aspirinesterase” は共に pH 7.0~8.5 で最大活性があった。そこでこれら esterase 蛋白が同一または類似しているように考えられるので “procainesterase” あるいは “aspirinesterase” に対するこれら ester の阻害様式を Lineweaver & Burk の方法で検討したところ, この画分の一つの esterase に関して aspirin, hexylcaine, tetracaine は procaine と競合することが示された。

以上, organophosphate 及び eserine に対する感受性の相違によって分類される肝細胞 microsome の esterase 群は electrophoresis によりさらに細分され得た。特にモルモットの肝 microsomal

esterase のうち aspirin, procaine, hexylcaine, tetracaine の esterase は同一または類似した酵素であることが示された。

論文の審査結果の要旨

ester 型薬物に対する肝 microsome 中の esterase については、その種類、性質、基質特異性等に関して未だ詳しく知られていない。

本論文は、第一に microsomal esterase は有機燐や eserine に対する阻害感受性により血清中のものと同様、三つの type 即ち有機燐によっては阻害されるが eserine に抵抗するもの、並びに有機燐, eserine の何れによっても阻害されるものに分類することが出来る。肝 microsomal esterase は column electrophoresis によって数種の esterase または esterase 群に定量的に分別され、しかもこれら三つの type を相互に分離することが出来た。また肝 microsome の esterase には isozyme が存在していること、並びに或る種の酵素は非常に低い基質特異性を有していることを示した。

第二にモルモットの肝臓は人同様、aspirin, procaine 等の解熱鎮痛薬及び局所麻酔薬に対して強い esterase 活性を有しており、拮抗阻害実験から aspirin, procaine, hexylcaine, tetracaine は同一の酵素によって分解されることを明らかにした。また cocaine並びに cholinester はこの酵素によってほとんど分解されない。

以上、本論文は、薬物の解毒に関して最も重要な microsome における esterase の分類に関して薬理的にも酵素学的にも新たな知見を加えたもので、学位論文として充分価値あるものと認める。