

Title	インドール核の水酸化酵素について
Author(s)	大谷, 透
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28728
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	大 谷 透 おお たに とおる
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 7 5 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 生 理 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	インドール核の水酸化酵素について (主査) (副査)
論文審査委員	教 授 坂 本 幸 哉 教 授 萩 原 文 二 教 授 山 野 俊 雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

水酸化酵素は肝臓の解毒機能において、重要な役割を占めている酵素で、マイクロゾームに分布する。さきに坂本らは肝マイクロゾームがインドール核の6位を水酸化させる反応を触媒することを見出したが、著者はインドール核のベンゼン部の水酸化酵素と、一般的なアニリン水酸化酵素との異同について調べ、それぞれが基質特異性を持った別の酵素であることを明らかにした。

〔実験方法〕

種々の動物(家兎, 白鼠, ハムスター, モルモット, マウス)を打撲, 脱血死させ, 肝臓を摘出し, 3倍量の1.15% KClを加えてホモジェナイズし, 9800×g, 25分の遠心で得た上清を酵素液として用いた。

反応は充分な NADPH₂ 再生系の存在のもとに, アニリンを基質として用いた場合は pH を 8.5, インドール酪酸(IBA)を基質として用いた場合は pH を 7.2 とし, 37.5°C で振盪30分間反応させた。

定量は, 反応終了後, 三塩化酢酸によって除蛋白し, IBA を基質とした場合は, これに Ehrlich 氏の Diazo 試薬を加えて, 反応生成物である 6-OH IBA と酸性 Diazo 反応を行なわせ, 生じた赤色を 530m μ で比色定量した。アニリンを基質とした場合は, 同じく除蛋白した反応液を Na₂CO₃ でアルカリ性にし, 2% フェノールを加えて反応生成物である p-アミノ・フェノールとで生じる青色を 630 m μ で比色定量した。

〔実験結果〕

- ① 至適 pH: アニリン水酸化酵素とインドール水酸化酵素の至適 pH は, それぞれ 7.8 と 6.4 で動物の種類によっては異ならなかった。
- ② 貯蔵に対する安定度: 上記酵素液を凍結乾燥し, 0°C に貯蔵して, 活性の変化を調べると, 60日経

過後、インドール水酸化酵素の活性は 10% にまで落ちたが、アニリン水酸化酵素の活性の減少は 50% までにとどまった。

- ③ 各種動物における両酵素の分布：ハムスターと家兎ではインドール水酸化酵素の活性が強く、マウス、モルモットではアニリン水酸化酵素の活性が比較的強く現われた。白鼠では両酵素の活性とも、定量的に検出できなかった。又メチールコラントレンによる誘導現象の程度の相違が両酵素間でみとめられた。
- ④ 阻害剤の効果：IBA 及びアニリンの水酸化はそれぞれ *o*-phenanthroline によって 87% と 50%、EDTA によって 30% と 80%、KCN によって 12% と 85% の阻害率を示した。(但し、阻害剤の濃度はすべて 10^{-3} M)
- ⑤ 再生肝における両酵素の変化：家兎及びハムスターの肝臓 3 分の 2 を剔除して、1～3 日後に出来る再生肝では、正常と比べ、g. wet tissue 当り著明な活性の低下が認められ、その低下の程度においても、二つの水酸化酵素間に差が見られた。
- ⑥ 年齢による活性の相違：動物が幼弱である程、水酸化酵素の活性も弱く、成熟とともに活性の上昇が認められた。又幼弱動物に性ホルモンを投与しても大した変化は見られなかった。
- ⑦ 担癌過程における水酸化酵素の変動：家兎に Brown Pierce の癌を移植し、その担癌家兎肝の水酸化酵素の活性を調べたが、蛋白量当りの活性に変化はなかった。

〔総括〕

以上の結果により、アニリンの水酸化とインドールの水酸化を触媒する酵素は、それぞれ別のものであることは明らかである。更に決定的な証拠をつかむために、これらの酵素のマイクロゾーム粒子からの可容化を試みたが、成功しなかった。

又増殖の旺盛な再生肝や、成長途上にある幼弱動物の肝臓で水酸化酵素が弱いことからみて、解毒機構の成立は細胞の成熟した状態において完成されるのではないかと考えられる。又 Brown Pierce の癌を移植された家兎の肝臓の水酸化酵素の活性に変化はなかったので、癌患者の呈する cachexia は解毒酵素の活性の低下によるものではないと思われる。

論文の審査結果の要旨

いわゆる水酸化酵素は動物の肝細胞のマイクロゾームに局在し、生体の解毒機構の一つとして重要な機能を有するが、非常に可溶化の困難な酵素で、その酵素学的諸性質に関しては不明な点が多い。先に、坂本らはインドール核の 6 位が水酸化される反応を見出したが、この酵素がインドール核の水酸化に特異的であるか否かは興味のある問題である。

本研究はインドール核の 6 位を水酸化する酵素とアニリン水酸化酵素について、その酵素学的諸性質、各種動物における分布等について検討し一般的な水酸化酵素とインドール核水酸化酵素の異同についてしらべた。その結果、これら両酵素はそれぞれ別個の酵素であり、基質特異性をもった酵素で

あることが明らかにされた。又増殖や発育過程における本酵素蛋白の形成についても検討を加え、ミクロゾームの蛋白合成に関して重要な知見を与えている。

更にこれらの酵素を賦活する因子が肝細胞可溶分画にあることを明らかにし、この性質についても検討を加え、蛋白質であるという結果を得た。

以上本研究はミクロゾームの水酸化酸素のうちで、特にインドール核に特異的な水酸化酵素が存在することを明らかにし、かつその酵素学的諸性質を明らかにし、ミクロゾームの機能に関して新しい知見を加えた興味ある研究である。