

Title	胆汁酸生成系におけるミクロソーム電子伝達系の関与
Author(s)	平田, 一也
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29690">http://hdl.handle.net/11094/29690</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	平 田 一 也 ひら た かず や
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 6 4 7 号
学位授与の日付	昭 和 4 4 年 3 月 2 8 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	胆汁酸生成系におけるミクロソーム電子伝達系の関与
論文審査委員	(主査) 教 授 坂 本 幸 哉 (副査) 教 授 山 野 俊 雄 教 授 北 川 正 保

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

肝ミクロソームには二種類の電子伝達系が存在することが明らかにされている。NADH-cyt.  $b_5$  系については手がかりも少なく、その生理的意味は不明であるが、NADPH-cyt. P-450 系に関しては、P-450の酸素との親和性、一酸化炭素(CO)結合性などの手がかりから、Ernster らは異物代謝との関係を示した。著者はこの電子伝達系が肝臓に特異的に多く存在することから、肝臓に特異的な生理機能との関係を考え、胆汁酸生成をとりあげてみた。コレステロールの $7\alpha$ -水酸化反応は胆汁酸生成の最初のステップであり、しかもそれが胆汁酸生成を律速していると言われている。この反応はミクロソームが関与し、NADPH と分子状酸素とを必要とするので、NADPH-cyt. P-450 系との関係を検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

動物はSprague-Dawley 系白ネズミを用いた。ホモジェネートを  $10,000\times g$ , 20分遠心して、ミクロソームと可溶性画分を含む上清を酵素材料とし、 $^{14}C$ -コレステロールと  $37^\circ C$ , 60分反応させた。反応後基質および反応生成物を抽出し、シルカゲルの薄層クロマトで分析して、 $7\alpha$ -水酸化物への変化率を測定した。

P-450は還元されると CO と結合することが知られているので、その影響をしらべてみた。コレステロールの $7\alpha$ -水酸化反応は CO の存在下で阻害され、気相の酸素濃度を一定にして、CO の濃度をあげるとより強く阻害された。これは CO が酸素と拮抗的であることを示している。Partition Constant は  $1.0\sim 2.0$  であった。この結果は P-450 が $7\alpha$ -水酸化反応と密接な関係にあることを示している。

P-450はフラビン酵素 (NADPH-cyt. c 還元酵素) を介して NADPH により還元されることが知

られているので、精製したこのフラビン酵素に対する抗体の影響をしらべてみた。反応系に抗体を添加すると、フラビン酵素活性が阻害されると同程度に $7\alpha$ -水酸化活性が阻害された。これはP-450を含む電子伝達系がコレステロールの $7\alpha$ -水酸化反応に関与し、しかもそれが反応を律速していることを示す有力な証拠である。

動物をフェノバルビタール処置するとP-450を含む電子伝達系が増加するが、この場合、 $7\alpha$ -水酸化活性も増加していた。ミクロソームと可溶性画分の組み合わせ実験の結果、その影響はミクロソームにのみ認められた。メチルコラントレン処置もこの電子伝達系を増加させることが知られているが、この場合は $7\alpha$ -水酸化活性は減少していた。絶食はP-450系を増加させるが $7\alpha$ -水酸化活性を減少させる。甲状腺ホルモン投与はP-450を減少させるが、 $7\alpha$ -水酸化活性は増加させる。胆汁酸の投与は胆汁酸生成を減少させるが、P-450含量、 $7\alpha$ -水酸化活性共に減少する。

胆汁瘻を持った動物では胆汁酸生成は著しく増加していることが報告されている。この場合、 $7\alpha$ -水酸化活性は対照に比し4~5倍に増加するが、ミクロソームのP-450含量は1/3に減少していた。また胆汁瘻を持った動物の肝臓を用いて、 $7\alpha$ -水酸化活性に対するCOの影響をしらべたが、正常動物と同程度に阻害され、Partition Constantも同値であった。これはP-450の $7\alpha$ -水酸化反応における律速性に変化がないことを示している。

以上動物レベルでの実験の結果P-450と $7\alpha$ -水酸化反応は必ずしも平行して変化せず、かえって逆方向の変化をする場合もある。これは $7\alpha$ -水酸化に特異なP-450が存在すること、および色々な機能を持ったP-450の総和がCO差スペクトルとして測定されていることを示唆している。

異物代謝はP-450系が関与することが知られているが、アミノピリン、アニリン等を反応系に加えても、殆んど影響がなかった。しかし反応系にコーチゾールを加えると $7\alpha$ -水酸化反応は著しく阻害される。これは異物代謝は $7\alpha$ -水酸化とあまり関係はないが、ステロイドホルモン代謝とは密接な関係があることを示している。

#### 〔総括〕

- 1) コレステロールの $7\alpha$ -水酸化反応はCOの存在によって阻害され、またNADPH-cyt. c還元酵素に対する抗体によっても阻害されるので、胆汁酸生成系においてP-450を含む電子伝達系が関与することが示された。
- 2) 動物レベルの実験から、P-450と $7\alpha$ -水酸化活性は必ずしも平行して変化をしないばかりか、逆方向に変化することもある。これはP-450には色々な機能を持ったものがあり、 $7\alpha$ -水酸化に特異なP-450が存在することを示唆している。
- 3)  $7\alpha$ -水酸化活性は異物代謝酵素活性とは関係がなく、ステロイドホルモン代謝と密接な関係がある。

### 論文の審査結果の要旨

この論文は肝ミクロソーム電子伝達系と生理的物質代謝との関係を初めて明らかにしたものである。チトクロームP-450を含む電子伝達系が、胆汁酸生成に関与することを生化学的、免疫学的方法

で確かめ、さらに胆汁酸生成とステロイドホルモン代謝との関係について検討を加えた独創的かつ発展性に富んだ研究である。