

Title	脂肪酸の ω 酸化におけるミクロソーム電子伝達系の関与
Author(s)	柴田, 弘俊
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29693
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	柴 田 弘 俊 しば た ひろ とし
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 6 3 6 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	脂肪酸の ω 酸化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, NADH-cytochrome b_5 系および NADPH-cytochrome P-450系が存在している。前者に関しては手がかりが少なく, その生理的意味は不明であるが, 後者に関しては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報告した。我々の教室ではその含量が多いことから, 生理的な物質代謝との関係を研究している。著者は, 脂肪酸の ω 酸化が, ミクロソーム, NADPH, 分子状酸素を必要とするので, P-450系の生理的役割の一つとして ω 酸化における酸素の活性化を検討した。

〔方法ならびに成績〕

動物は Sprague-Dawley 系白ネズミを用いた。肝から postmitochondrial fraction あるいはミクロソームを調製し酵素材料とした。基質として ^{14}C -ステアリン酸またはラウリン酸を用い, NADPH 再生系を加えて反応させた。基質および反応生成物をエーテル抽出してシリカゲルクロマトグラフィで分析し, 極性脂肪酸への変化率を測定した。

1. 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 ω 酸化に対する影響をしらべてみた。ステアリン酸の ω 酸化は肝臓にのみ認められ, ラウリン酸のそれは肝臓, 腎臓両者に認められるが, これらの反応はすべてCO存在下で同程度に阻害された。気相の酸素濃度を一定にして, CO濃度をあげると阻害率は大きくなり, COによる阻害が酸素と拮抗的であることがわかった。partition constantは0.1~0.2であった。この値は従来報告されている他の反応におけるそれよりも著しく小さい。これらの結果は, ω 酸化反応にP-450が関与し, しかも ω 酸化に特異なP-450が存在することを示唆している。
2. P-450はフラビン酵素(NADPH-cytochrome c還元酵素)を介してNADPHによって還元さ

れることが知られているので、精製したこの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、NADPH-cytochrome c 還元酵素活性が阻害されると同程度に ω 酸化活性が阻害された。これはP-450を含む電子伝達系が脂肪酸の ω 酸化に関与し、しかもそれが反応を律速していることを示している。

3. 0.1%フェノバルビタールを含む食餌を一週間白ネズミに投与すると、肝ミクロソームのP-450含量は約2倍に増加したが、 ω 酸化活性は低下していた。これはフェノバルビタール投与によって増加したP-450が ω 酸化反応とは関係がないことを示している。この結果もP-450は多様であるという考え方を支持している。メチルコラントレン投与もP-450を増加させるが、 ω 酸化活性は低下していた。絶食時もP-450は増加するが、 ω 酸化活性の増加率はより小さかった。Thyroxine 投与時はP-450は減少するが、 ω 酸化活性も同程度に減少していた。
4. 異物代謝はP-450が関与することが知られているので、アミノピリン、アニリン添加の影響をしらべてみた。ステアリン酸およびラウリン酸の ω 酸化はいずれも阻害されるがその程度に差があり、ステアリン酸で著しかった。エチルイソシアナイドはP-450と結合することが知られており、ステアリン酸の ω 酸化を強く阻害するが、ラウリン酸のそれには殆んど影響がなかった。これらの結果はステアリン酸とラウリン酸とでは ω 酸化酵素系に差異があることを示している。COの影響が同程度であることからその差異は酸素の活性化の段階にあるのではなく、活性化された酸素によっておこる水酸化反応の段階にあるように思われる。

〔総括〕

- 1) 脂肪酸の ω 酸化活性はCOの存在によって阻害され、またNADPH-cytochrome c還元酵素の抗体によって阻害されるので、 ω 酸化反応において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、ミクロソームのP-450含量と ω 酸化活性とは平行して変化せず、逆方向に変化することがある。電子伝達系の反応律速性から考えてP-450は多様であり、 ω 酸化反応に特異なP-450の存在が示唆された。
- 3) ミクロソームで代謝をうける種々の薬物によって ω 酸化活性は阻害されるので、 ω 酸化は薬物代謝と密接な関係がある。

論文の審査結果の要旨

この論文はミクロソーム電子伝達系と脂肪酸の酸化との関係を生化学的、免疫学的方法を用いて明らかにしたものである。さらに高級脂肪酸と中級脂肪酸とでその反応機構に差異があること、また従来単一のものと考えられていたチトクロームP-450が多様であることを示唆する独創的かつ発展性に富んだ研究である。