The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	肝ミクロゾームP-450と水酸化および脱アルキル反応基質との相互作用に関する研究
Author(s)	植村, 富彦
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30061
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【3】

氏名・(本籍)	植村富彦（うえむら とみひこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1934 号
学位授与の日付	昭和45年3月30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	**肝ミクロゾーム P-450 と水酸化および脱アルキル反応基質との相互作用に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 山野 俊雄 (副査) 教授 坂本 幸哉 教授 萩原 文二

論文内容の要旨

〔目　　的〕

ミクロゾームに局在する脂質や薬物の水酸化反応の活性中心に含まれている b-type チトクローム P-450 は，NADPH からフラビンたんぱくを介し電子を受けとり還元され酸素を活性化し，すでに近傍に結合した基質に組込ませる。しかし P-450 から基質への酸素の組み入れ機構，P-450 と基質結合部位の構造上の相関についての詳細は現在もなお不明である。本研究は P-450 の構造変化に対する基質の影響を検討することにより，P-450 の構造保持に対する基質結合部位の寄与を追求することを目的とする。

〔方法ならびに成績〕

ミクロゾームは，12時間絶食させた家兎の肝臓より Mason らの方法で調整した。レシチンは鶏卵より Pangborn の方法で精製し，得られたレシチンより Hanahan の方法でリゾレシチンを精製した。CO ガスは市販のものを使用した。P-450, P-420 は大村，佐藤の方法で定量し，両者混在の場合の P-420 の定量は，三宅の方法で 420mμ における P-450 の寄与を補正して求めた。分光測定は Cary 14 型自記分光光度計，電子スピン共鳴吸収測定は Varian 社製4500型装置に 100KC 磁場変調装置を付加して使用した。

熱処理蛇毒およびリゾレシチンによる P-450 の P-420 への変換におよぼす各種基質の影響：

蛇毒処理により，P-450 が容易に不活性型 P-420 に変換する。この変換は蛇毒による膜構成脂質の分解産物であるリゾレシチンによるという報告がある。膜構成脂質を修飾することにより P-450 が著しく影響を受けることは，P-450 の構造保持に脂質が何らかの関与をしていることを示唆する。事実，蛇毒およびリゾレシチンによる P-420 への変換は基質により保護されることが判明した。蛇毒処理により約90%の P-450 が P-420 に変換する条件で，76μM の 3-Methyl-

cholanthrene (M. C). または 3, 4-Benzpyrene (B. P) を共存させると，その変換は50%にとどまった。このことは部分的ではあるが蛇毒の作用部位がこれらの薬物により保護されるということであり，膜構成脂質の活性中心への関与が示唆される。この結果に関連して他の薬物の効果を調べたところ，M. C，B. P が保護効果を示すのに対し，アミノピリン，アニリン，フェノバルビタールは全く保護効果を示さず，コデイン，ヘキソバルビタール，アセトアニリドはやや保護効果を示した。基質により異なる影響があることは，基質添加により P-450 が少なくとも二種のスペクトルを与えることと対比すると，スペクトル的に単一な P-450 が各種薬物の水酸化反応に部分的に動員されている可能性を示唆する。

コール酸による P-450 の P-420 への変換におよぼす基質の保護作用：

リゾレシチンは ampholytic detergent であるが，anionic detergent であるコール酸でも P-450 が P-420 に変換することが知られているので，コール酸による変換に対する基質の影響を検討したところ，0.6%のコール酸で約70%の変換がおこる条件で，その系に 76μM の M. C あるいは B. P の添加により P-420 への変換が約40%にとどまった。故に，異なる界面活性剤に対しても保護効果が認められることが判明した。

PCMB, $HgCl_2$ による P-450 の P-420 への変換におよぼす基質の保護作用：

PCMB, $HgCl_2$ も P-450 を P-420 に変換せしめるが，この変換に対しても 66 μM の M. C あるいは B. P は保護効果を示した。即ち 0.2mM PCMB により約65%の P-450 が P-420 に変換する条件で，基質を共存させるとその変換が約35%にとどまった。

Glycerol による保護効果との比較：

Glycerol はコール酸による変換に著しい保護効果を示すことが報告されているが，蛇毒，リゾレシチン，PCMB に対しては著しい保護効果は認められなかった。また glycerol と基質の保護効果に相乗作用が認められた。このことは P-450 の P-420 への変換が多様性であると同時に，活性中心もまた多様な性格をもつものと考えられる。

リゾレシチンおよびコール酸による P-450 の P-420 への変換と ESR スペクトル：

P-450 は電子スピン共鳴法では，低スピン型ヘム鉄のスペクトルを示す。このシグナルはリゾレシチンにより消失していくが，コール酸によっては容易に消失しない。リゾレシチンの場合は，シグナルの消失と P-420 への変換がよく対応するのに比して，コール酸では，0.5%のコール酸添加で数分後に約 80% P-420 になるのに ESR シグナルは40分後も著しい変化が認められなかった。

〔総　　括〕

種々な試薬により P-450 が P-420 に変換することは，水酸化反応活性中心の構造が膜構造と複雑に関連していることを示唆する。種々の試薬による変換に対して B. P，M. C が一貫して保護効果を示したことは P-450 のヘムと基質結合部位の間には構造上の相互関係がありそれが活性中心の構造維持に必要であって，作用機作の異なる各種変換試薬も結局はその相互関係を破壊して P-450 を P-420 に変換させるという一点に集約されることが今回の結果から得られた。

論文の審査結果の要旨

肝ミクロゾームのチトクローム P-450 は種々の試薬によって容易に P-420 に変換する。本論文では，界面活性剤やＳＨ試薬による P-450 の P-420 への変換機作が，分光学的にあるいは磁気的にしらべた結果，かなり異なっていることを明らかにしている。さらに著者は，ベンツピレン，メチルコラントレンなどの水酸化反応の基質が，P-450 の P-420 への変換機作が異なった場合でも，一貫して，しかもポリオール類よりもはるかに低濃度で変換抑制作用を示すことを見出した。肝の P-450 の可溶化が困難とされている現在，基質結合部位の不明なことを考えあわせると，基質と P-450 との結合，すなわち，基質とヘム周辺との関係をしらべたことは，P-450 の分子レベルでの反応機構を知る上で貢献が大きいと考えられる。