



Title	肝ミクロゾームによるステロイド水酸化の反応機構に関する研究
Author(s)	林, 隆彦
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31022
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

[29]

氏名・(本籍)	はやし 林	たか 隆	ひこ 彦
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	2982	号
学位授与の日付	昭和48年12月26日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	肝ミクロゾームによるステロイド水酸化の反応機構に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授	陣内傳之助	
	(副査) 教授	坂本 幸哉	教授 山野 俊雄

論文内容の要旨

〔目的〕

肝ミクロゾームによるステロイドホルモンの水酸化にチトクロームP-450(cyt. P-450)が関与することが報告されているが、その反応機構については、特にcyt. P-450の精製が困難であるために明らかではない。著者はテストステロン、プロゲステロンを基質として、この反応機構について研究した。テストステロン、プロゲステロンは、それぞれ主要な三種の水酸化物をシリカゲルの薄層クロマトグラフィー(TLC)で分離することができる。従って同じ基質を用いて同時に三種の酵素活性を測定することが可能なので、基質の差異による電子伝達系に対する影響を除外することができる。

〔方法ならびに成績〕

動物は雄のSprague-Dawley系ラット(体重180~230g)を用いた。ミクロゾームは1.15% KCl 溶液を用いて常法により調整した。テストステロン(T)、プロゲステロン(P)の水酸化反応は、基質として4-¹⁴Cラベルのものを肝ミクロゾームと反応させ、基質および産物をdichloromethaneで抽出し、シリカゲルのTLCで分離した。放射活性はシリカゲルを0.5cmづつかきとってバイアル中に入れて測定した。産物をTの場合はT-1、T-2、T-3、Pの場合はP-1、P-2、P-3と呼ぶことにする。

それぞれの水酸化活性の異同をしらべるために、ラットをフェノバルビタール、メチルコラントレン、甲状腺ホルモン、絶食などの処理をして活性を測定した。Tの場合も、Pの場合も、それぞれ三種の酵素活性変化のパターンはお互に異なっていた。また活性の変化はcyt. P-450量の変化と並行しない。

ステロイド水酸化の反応機構を、NADPH-cyt. c還元酵素とcyt. P-450の相互作用における各水酸化酵素の特異性という面から検討するために、一酸化炭素による阻害、NADPH-cyt. c還元酵素抗体による阻害、酸素あるいはNADPHを反応律速因子とした場合の活性変化を比較した。一酸化炭

素はT-1、T-2、T-3の順に活性を阻害し、酸素制限の影響は、これと類似のパターンを示す。しかし、NADPH制限の影響はこれらと異なり、T-2で最も活性が小さく、次いでT-3、T-1の順になっている。NADPH-cyt. c還元酵素抗体の影響はT-1、T-2、T-3の順で、むしろ一酸化炭素阻害のパターンに似ている。

プロゲステロンの場合も同様な結果が得られた。

TとPの水酸化反応の相互関係を知るために、両者を共存させて活性を測定した。相互に酵素活性を阻害するが、その率は各酵素で異なっている。PはTよりもその阻害作用が著しい。

薬物、異物の代謝にはステロイドホルモンの場合と同様にcyt. P-450が関与することが知られており、薬物代謝酵素の生理的基質はステロイドであることが示唆されている。T、Pの各水酸化反応はアニリン、アミノピリンによって阻害される。その率は各酵素で異なり、阻害率のパターンはアニリンとアミノピリンとで差異が認められる。

〔総括〕

1. 肝ミクロゾームによるテストステロン (16α , 7α , 6β)、プロゲステロン (16α , 6β , 2α)の各水酸化活性は各種の動物処理によって独立して変化することから、酵素が異なるものと考えられる。
2. 各ステロイド水酸化活性は、一酸化炭素、NADPH-cyt. c還元酵素抗体によって阻害される。その率は酵素によって異なっている。酸素の制限とNADPHの制限とでは、三種の活性パターンの変化に差異が認められる。これらの結果は、ステロイド水酸化反応に肝ミクロゾームのNADPH-cyt. P-450系が関与することを示すとともに、反応律速の主体がcyt. P-450であり、NADPH-cyt. c還元酵素はその還元レベルを規定して反応律速性に関与すると考えられる。
3. テストステロンとプロゲステロンとは、その代謝において相互に阻害を示す。これは両者が密接な関係にあることを示唆している。
4. ステロイドの水酸化は、肝ミクロゾームによって代謝される薬物によって阻害される。これは薬物代謝の生理的基質がステロイドであるとする考え方を支持するものである。

論文の審査結果の要旨

肝臓のミクロゾームにはチトクロームP-450を含む電子伝達系を含んでおり、薬物代謝と関係があることが知られている。この論文はテストステロン、プロゲステロンの水酸化反応にチトクロームP-450系が関与することを証明し、その反応機構について解析を加え、あわせてステロイドホルモン代謝と薬物代謝との関係について検討したものである。

方法として、チトクロームP-450と結合することが知られているCO、およびNADPH-チトクロームP-450還元酵素抗体による水酸化反応の阻害から、この電子伝達系とステロイドホルモン水酸化との関係を明らかにした。さらに低酸素、低NADPH濃度の影響から、チトクロームP-450と酸素との結合には酵素による特異性がなく、基質への酸素の導入そのものに特異性があること、またNADPH-チトクロームP-450還元酵素の部位でも水酸化酵素による特異性があることを示した。

さらに薬物による各水酸化反応の阻害が異なることから、各水酸化酵素が異なった親和性で薬物と結合すること、および薬物代謝酵素の生理的基質がステロイド水酸化である可能性を示した。以上の諸点でこの論文は独創的であり、発展性に富んでいる。