



Title	肝ミクロソームNADH依存性シトクロムP-450水酸化酵素系構成成分とその性質
Author(s)	市川, 幹郎
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32491
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

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	市川幹郎
学位の種類	医学博士
学位記番号	第4815号
学位授与の日付	昭和55年2月22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	肝ミクロソームNADH依存性シトクロムP-450水酸化酵素系構成成分とその性質
論文審査委員	(主査) 教授 田口 鐵男 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 和田 博

論文内容の要旨

[目的]

肝ミクロソームの電子伝達系には、NADPHを電子供与体とするシトクロムP-450水酸化酵素系とNADHを電子供与体とするシトクロムb₅不飽和酵素系があり、前者はコレステロールやXenobioticsの水酸化ならびに脱アルキル化反応を行い、後者は脂肪酸の不飽和化を行っていることが知られている。さらに市川、LoehrはNADHを電子供与体とするシトクロムP-450水酸化酵素系の存在を報告している。3-メチルコラ NSレン(3-MC)の水酸化反応を調べた結果、電子供与体としてNADPHよりNADHが有効であり、しかも一酸化炭素により阻害されることを見出した。そこで、3-MCの水酸化反応とこのNADH依存性シトクロムP-450水酸化酵素系の関係について、ウサギ肝ミクロソームを用いて検討した。

[方法ならびに成績]

肝ミクロソームは雄の成熟ニュージーランドウサギ、体重約2.5kgよりMitomaらの方法により調整したものを用いた。分光光度計はCary model 14、EPR装置はVarian X-band model E-12を使用した。3-MCの水酸化物はBürkiらの方法で測定した。

得られた結果は次の通りである。

- (1) ウサギ腹腔内に3-MCを投与すると、その肝ミクロソームのシトクロムP-450の高スピニ型(P-448)の増加を認めた。しかもこの高スピニ型P-450はこれまで知られているヘムタンパクの鉄の高スピニ型と比較してヘム鉄の配位子場のひずみが最も大きいことがわかった。
- (2) ウサギ腹腔内に3-MCとActinomycin Dを同時に投与すると、3-MC単独投与した場合の高スピ

ン型シトクロム P-450 の顕著な增量とは逆に、高スピニ型のシトクロム P-450 量は10日間中に何ら增量をみとめず、むしろ減少した。これにくらべて低スピニ型のシトクロム P-450 量の減少は少なかった。

- (3) ウサギ肝ミクロソームと3-MCをin vitroでincubateしても、またNADHやNADPH存在下に3-MCとincubateしても、シトクロム P-450 の高スピニ型の増加は見られなかつた。
- (4) ウサギ腹腔内に連日3-MCを投与すると、その肝ミクロソームのシトクロム P-450 量は次第に増加し、これと平行して3-MCの水酸化活性およびNADH-フェリシアニッド還元酵素活性も増加した。しかしシトクロム b_5 量およびNADPH-シトクロム P-450還元酵素活性の増加はみられなかつた。
- (5) 3-MCを連日10日間投与されたウサギより得た肝ミクロソームの滑面小胞体での3-MCの水酸化活性はNADHが電子供与体の時の方がNADPHの場合より高いことがわかつた。
さらにこの水酸化活性は、一酸化炭素、または、フェニルイソシアナイトの添加で阻害された。しかし、シアン化カリウムによる活性の阻害はみられなかつた。また一酸化炭素による阻害は光照射で部分的に回復した。なお3-MCの水酸化活性はスプロキサイドディスマターゼならびにカタラーゼの添加により影響されなかつた。
- (6) 3-MCのNADHを電子供与体とする水酸化酵素活性は、シトクロム b_5 の抗体では阻害されないが、NADH-フェリシアニッド還元酵素の抗体で阻害された。
- (7) NADPH-シトクロム P-450還元酵素を除くために、ウサギ肝ミクロソームをTPCK処理のトリプシンで処理すると、電子供与体がNADHの場合3-MCの水酸化反応はみられるが、NADPHの場合の水酸化反応はみられなかつた。

[総括]

以上の結果より次のことがわかつた。

- (1) ウサギに3-MCを投与するとその肝ミクロソームの高スピニ型シトクロム P-450 量が増加する。この増加は、Actinomycin Dの投与で阻止された。
- (2) 3-MCを投与されたウサギ肝ミクロソームでの3-MCの水酸化活性およびNADH-フェリシアニッド還元酵素活性は増加する。
- (3) 3-MCを投与されたウサギの肝ミクロソームの滑面小胞体での3-MCの水酸化活性は電子供与体がNADPHよりもNADHの方が有効であった。また、水酸化活性は一酸化炭素またはフェニルイソシアナイトで阻害されるが、シアン化カリウムでは阻害されなかつた。
- (4) トリプシン処理された肝ミクロソームの3-MCの水酸化活性は、NADHが電子供与体の時に出現するので、3-MCの水酸化反応はNADH系で行なわれることがわかつた。この場合、NADPHでは水酸化反応はみられなかつた。
- (5) 3-MCの水酸化反応は、シトクロム b_5 の抗体では影響されないが、NADH-シトクロム b_5 還元酵素の抗体では阻害された。

論文の審査結果の要旨

本論文は3メチルコラントレン（3MC）による肝ミクロソームのミトクロムP-450水酸化酵素系の誘導生成の過程、リソレシチンによって調整されたシトクロムP-450顆粒の3MCに対する代謝活性をしらべ、さらにNADH-フラビン酵素-シトクロムP-450系が3MC水酸化活性をもつことを見出したものである。

従来定説になっているNADPH-フラビン酵素-シトクロムP-450系が水酸化酵素系の主経路に対して、上記の事実は、ミクロソーム電子伝達系と水酸化反応との関係の探求に、新しい分野を開拓するいとぐちを与えるもので高く評価される。