

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

[23]

氏名・(本籍)	いちかわみきお 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-メチルコランズレン (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 の高スピン型 (P-448) の増加を認めた。しかもこの高スピン型 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ン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 の顕著な増量とは逆に、高スピン型のシトクロム P-450 量は10日間中に何ら増量をもとめず、むしろ減少した。これに比べて低スピン型のシトクロム 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 の高スピン型の増加は見られなかった。
- (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った。
- (3) 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った。
さらにこの水酸化活性は、一酸化炭素、または、フェニルイソシアニド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った。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ムターゼならびにカタラーゼの添加により影響されなかった。
- (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った。

[総括]

以上の結果より次のことがわかった。

- (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ン型シトクロム 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ニドで阻害されるが、シアン化カリウムでは阻害されなかった。
- (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った。この場合、NADPH では水酸化反応はみられなかった。
- (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。