The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	肝ミクロソームチトクロムP-450基質複合体の形成におよぼすpHの影響
Author(s)	八野, 芳巳
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32702
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

【20】

氏名・(本籍)	八野芳巳（はちの よしみ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5216 号
学位授与の日付	昭和56年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**肝ミクロソームチトクロムP-450基質複合体の形成におよぼすpHの影響**
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 文二 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 田川 邦夫

論文内容の要旨

〔目 的〕

哺乳動物の肝ミクロソーム画分に存在するチトクロムP-450（P-450と略）はステロイドホルモンや脂肪酸などの生体内物質や薬物・発癌性物質その他各種の生体外物質の代謝に関与していることが知られている。このような代謝の過程で，P-450と基質の複合体形成は反応過程の第一段階として非常に重要なものであるがその機構については不明な点が多い。ところでヘモグロビンやパーオキシダーゼなどのヘム蛋白質の場合と同様に，P-450とシアン化合物とのリガンド結合反応がpHにより影響をうけることが見出されている。そこでこのようなpHの影響がP-450の複合体形成時に一般的に起るものであるかどうかを調べる目的で，P-450と基質との複合体形成におよぼすpHの影響について検討した。

〔方法および成績〕

方法：実験はラット肝ミクロソームを用いて行い，各種基質とミクロソーム膜内のP-450との複合体形成は分光学的に差スペクトル法で測定した。

成績：Type Ⅰ化合物であるヘキソバルビタールやアンドロステンジオンとP-450との複合体形成はType Ⅰ差スペクトル変化（$\lambda max = 386nm$, $\lambda min = 420nm$）として観察されたが，このスペクトル変化の強度（差スペクトル法での山と谷との間の吸光度差）は反応系中のミクロソーム蛋白濃度即ちP-450濃度に比例していた。ところで反応系のpHをアルカリ側に変化させるとスペクトル変化の強度が増大し，P-450とType Ⅰ化合物の複合体形成反応が酸性領域よりアルカリ領域で進行しやすいことを示していた。さらに分光学的に求めたP-450・基質（Type Ⅰ化合物）複合体の解離定数も酸性領域で増大し，複合体が酸性領域で解離しやすいことを示唆していた。このような複合体形成に

対するpHの影響が用いた化合物の分子内解離基の解離平衡の変動によるものではなくP-450分子およびその周辺の膜構造の問題であることは，分子内に解離基を持たないType Ⅰ化合物のシクロヘキサンを用いて確かめることができた。

これに対し，Type Ⅱ化合物であるアニリンやreverse type Ⅰ化合物のエタノールにより惹き起されるType Ⅱ（λmax＝430nm，λmin＝390nm）およびreverse type Ⅰ（λmax＝420nm，λmin＝390nm）差スペクトル変化の強度は酸性領域で増大し，またそれらの解離定数も酸性領域で減少した。この結果はP-450とType Ⅱまたはreverse type Ⅰ化合物との複合体形成は酸性領域で進行しやすいことを示唆するものであった。

ミクロソーム膜内のP-450は外部基質を加えない反応条件下でもpHを変えることにより内在基質との相互作用を活性部位周辺の微細構造や環境に影響が与えられ，その結果二次的に外部基質との複合体形成反応にもpH変動の影響が及ぶものと考えられた。そこでその点について確めるために外部基質非存在下で肝ミクロソームのpH差スペクトルを測定した。その結果ミクロソームのみでも反応系のpHを変化させることによりType Ⅰ（λmax＝389nm，λmin＝423nm）およびreverse Type Ⅰ（λmax＝423nm，λmin＝389nm）様のスペクトル変化を示すことが確められた。また，このpH差スペクトルの解析からミクロソーム膜内のP-450は外部基質を添加しない条件下で酸性領域で高スピン状態，アルカリ側でより低スピン状態で存在しているものと考えられた。この結果から反応系のpHをアルカリ側にするとP-450はより低スピン状態となり，外部のType Ⅰ化合物と複合体を形成し易くなるが，逆に酸性領域ではP-450はより高スピン状態となり，そのため外部のType Ⅱおよび，reverse type Ⅰ化合物と容易に複合体を形成するものと考えられた。

〔総　括〕

各種基質とミクロソームP-450との複合体形成は反応系のpHによって影響をうけることが確められた。pHの影響は基質の種類によって異っていたが，これはミクロソーム膜内のP-450の存在状態が反応系のpHにより変換させられたことによる二次的なものと考えられた

論文の審査結果の要旨

著者はミクロソームP-450と各種基質との複合体形成反応について研究し，その複合体形成が反応系のpHによって影響をうけることを確かめた。pHの影響は基質の種類によって異っており，Type Ⅰ化合物（ヘキソバルビタール，アンドロステンジオンなど）ではアルカリ領域で，一方Type Ⅱおよびreverse type Ⅰ化合物（アニリン，エタノールなど）は酸化領域でより複合体を形成する結果を得た。さらにミクロソーム膜内のP-450の存在状態が反応系のpHにより変換され，アルカリ領域ではType Ⅰ化合物と，酸性領域ではType Ⅱおよびreverse Type Ⅰ化合物と複合体を形成しやすいい状態で存在する結果を得た。

このような成果から本論文はP-450の機能解明に貢献するものと考えられ，学位論文としての価値あることを認める。