The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	3'-MeDAB投与によるラット肝臓Glutathione増加の機構について
Author(s)	疋田, 邦彦
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32827
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

【54】

氏名・(本籍)	疋田邦彦
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5237 号
学位授与の日付	昭和56年3月25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	**3'-MeDAB投与によるラット肝臓Glutathione増加の機構について**
論文審査委員	(主査) 教授 坂本 幸哉 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 田中 武彦

論文内容の要旨

〔目 的〕

ラットに発癌性アミンを投与した時に共通して見られる現象として肝臓Glutathioneの増加が知られている。3′-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene（3′-MeDAB）をラット腹腔内に注射した時の，肝Glutathione増加を生化学的に解析し，肝蛋白代謝との関係を明らかにする。

〔方法ならびに成績〕

1、肝Glutathione (GSH) 量に対する3′-MeDAB1回投与の効果

呑龍系雄ラット（体重150～200 g）に体重100 g当り18mgの3′-MeDABを腹腔内に注射すると，9時間後には肝GSH量が対照群のそれを上回り，対照群の150％に達し，この傾向は少なくとも48時間持続する。これは遊離型GSHが多いことによるものであり，GSSGの還元，蛋白結合型GSHの遊離の結果でない。肝のGSH合成酵素系，ならびに分解酵素γ-Glutamyltans-ferase（γ-GT）の量は，この間3′-MeDAB投与により影響を受けなかった。しかし，肝内でGSH合成の基質のうちGlycine量は両群間に差を認めなかったもののL-Glutamate, L-Cysteineの濃度は，注射後9時間目以降，3′-MeDAB群で常に高く保たれていた。Glycine, L-Glutamateの濃度が，合成酵素のKm値をそれぞれ上回っていたのに対して，L-Cysteine濃度は一桁低い10^{-4} Mオーダーであり，Km＝2.5×10^{-3} Mよりも低く，従ってGSH合成量はL-Cysteineの濃度変化に応じて大きく変動する。L-Cysteineの多い3′-MeDAB群ではGSH合成量が対照群を上回り，その結果GSHの水準が高く保たれたと説明される。

2、In vivoでのL-^{35}S-Cysteineの肝GSH, 肝蛋白，血漿蛋白へのとりこみに対する3′-MeDAB

投与の効果

事実, tracer dose のL-^{35}-S-Cysteineを静注して肝GSHへのとりこみを30分間にわたって追跡すると，予め3′-MeDABの投与を受けていたラットでは，とりこみが速やかで，GSHの放射活性が高い水準に保たれていた。

何故，3′-MeDAB投与によって肝内のL-Cysteineが増加し，GSH合成が亢進するに至ったかを知るため，24時間絶食したラットにL-^{35}S-Cysteineを含む食餌を投与し，肝GSHの水準が上昇してプラトー域にある時点で3′-MeDABを注射し，その後の^{35}Sの分布，放射活性の推移を追った。発癌剤の懸濁に用いた溶媒のみを注射した対照群では，注射後9時間から24時間にかけて，肝蛋白質，血漿蛋白質への^{35}Sのとりこみが著しく増加したが，3′-MeDAB群ではとりこみが抑制され，ほとんど横ばい状態であった。分子的機構は不明であるが，3′-MeDABによってL-Cysteineの蛋白へのとりこみが阻害されたことになる。我々の研究室でのこれまでの実験結果から，肝GSHが増加するのは，L-Cysteineの他の利用系（蛋白合成系など）の活性が抑制されたり，L-Cysteineが一時的に多量に供給されたために，L-Cysteineに余剰が生じた時であることが判っている。3′-MeDABの効果もまた，L-Cysteineの蛋白へのとりこみが阻害された結果，余剰のL-CysteineがGSHへ合成された結果現われたものと思われる。

3、Cycloheximide投与による肝ＧＳＨ増加。

この解釈が正しいならば，ラットに典型的蛋白合成阻害剤であるCycloheximideを投与することによって，肝ＧＳＨの増加が期待される。ラットに100g体重当り200μgのCycloheximideを投与すると肝ＧＳＨは投与2時間では対照の110%，6時間で188%と最高に達した。L-Cysteine量もまたＧＳＨとほ　平行して増加し，6時間では対照の145%であった。CycloheximideのＧＳＨ上昇効果ば32時間後には消失していたが，3′-MeDABに比し，より速く，より顕著に効果が現われるといえよう。

Cycloheximideを投与して3時間後にtracer doseのL-^{35}S-Cysteineを投与し，30分間にわたって放射能の分布をみた。肝蛋白質，血漿蛋白質へのとりこみが著しく抑えられていたのとは対照的に，肝GSHへのとりこみが亢進し，肝L-Cysteineにも，対照群に比べて高い放射活性が保持されていた。

3′-MeDABとCycloheximideは，共通した作用機構により，肝GSH量を増加せしめたと考えられる。

〔総　括〕

ラット肝臓に～8mMという特に高い濃度のGlutathioneが大部分GSHとして含まれているのは，Bromobenzene, Acetoaminophen, Diethylmaleateなどを投与した際のGSH減少,Conjusgateの形成，Mercapturic acidの生成にみられるように，解毒代謝のためと考えられてきた。しかし，一方では発癌性Aminoazo dyeのように，代謝にGSHが関与しているにもかかわらず，逆にGSHを増加させるもののあることが知られている。我々はすでに，肝ＧＳＨが，異物代謝とは別に，その1/2～2/3に及ぶ部分がL-Cysteineの貯蔵型ないし，輸送型という役割を担っていることを指摘してき

た。本研究では，3′-MeDABを投与した時のラット肝ＧＳＨ増加の機構を蛋白代謝と関連づけて解析するため，Cyclohexïmide投与によるGSH増加と比較した。その結果，3′-MeDABがL-Cysteineの肝蛋白質，血漿蛋白質へのとりこみを阻害し，余剰となったL-Cysteineが肝ＧＳＨへ合成されて，ＧＳＨの水準が上昇したと考えられる知見を得た。ＧＳＨ上昇作用がDiethylnitrosamine, 2-Acetylaminofluoreneなど，他の発癌性アミンにも共通してみられることから，ここに見い出した様な蛋白合成阻害，Glutathione増加が，これら発癌剤による発癌に必要な条件の一つを構成していることが示唆される。

論文の審査結果の要旨

一般に，肝GSHは，薬物代謝に関与し，種々の薬物投与により減少するが，3′-MeDAB等の発癌性アミン投与によっては，逆に，増加することが知られている。

著者は，発癌剤3′-MeDAB投与によるラット肝GSH増加の機構を解析し，肝GSHの増加が，肝蛋白代謝と密接に関係していることを明らかにした。

即ち，3′-MeDABは，L-Cysteineの蛋白質へのとりこみを阻害し，そこで余剰となったL-Cystineが肝GSHに合成され，その結果として肝GSHレベルの上昇が観察されると考えられる。

以上，本論文は，GSHと発癌剤投与の関係を明らかにしたもので，学位論文として価値あるものと認める。