The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ウシ副腎皮質シトクロムP－45011βによる18（OH）DOGの19-水酸化反応
Author(s)	桃井，京子
Citation	大阪大学，1984，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33955
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

【36】

氏名・(本籍)	桃井京子（ももいきょうこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6416 号
学位授与の日付	昭和59年3月24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	**ウシ副腎皮質シトクロムP－450$_{11\beta}$による18（OH）DOGの19－水酸化反応**
論文審査委員	(主査) 教授 山野 俊雄 (副査) 教授 萩原 文二 教授 松本 圭史

論文内容の要旨

（目　的）

副腎皮質におけるステロイドホルモン合成に関する研究の途上，当研究室に於て，ウシ副腎皮質ミトコンドリアを用いた18—ヒドロキシデオキシコルチコステロン（18(OH)DOC）の水酸化によって11β—水酸化物である18—ヒドロキシコルチコステロン(18(OH)CST）の他に，今迄報告されていない物質が生成される事が見いだされていた。従来より副腎皮質ミトコンドリアは，ミトコンドリア内膜に局在するシトクロムP－450$_{11\beta}$によるステロイドの11β－及び18–水酸化活性が知られているが，著者は，新物質の生成を触媒する酵素，および未知物質の構造をあきらかにすることを目的として本研究を行った。

（方法並びに成績）

1. 新物質を生成する酵素の同定

Suhara らの方法を用いてシトクロムP－450$_{11\beta}$を精製し，11β－水酸化活性と構造未知の物質の生成活性が分離されるか否かを調べた。11β－水酸化活性と構造未知の物質の生成活性は，酵素精製の各段階において等しい挙動を示し，精製した酵素標品を用いた再構成系においても構造未知の物質の生成は観察された。また，反応時間，酵素濃度，基質濃度に関係なく，2つの生成物は常に等比で生成された。これらの結果により，構造未知の物質は，シトクロムP－450$_{11\beta}$の触媒によって生じたものであると考えられた。

2. 未知物質の構造

構造未知の反応生成物を，C_{18}–逆相カラムを用いてさらに精製し，質量スペクトル及び ^{1}H－NMR

スペクトルによってその構造を推定した。

精製した反応生成物のＦＤ－ＭＳスペクトル及び，メチルオキシムートリメチルシリル（MO−TMS）誘導体のＥＩ－ＭＳスペクトルより，構造未知の物質は18(ＯＨ)ＣＴＳと等しい分子量（362），水酸基の数（３個），カルボニル基の数（２個）を持つと考えられた。ただし，各イオンピークの強度が異なるので，構造未知物質と18(ＯＨ)ＣＳＴは構造異性体であることが予想できた。さらに，本物質の ^{1}H－ＮＭＲスペクトルより，19－メチル基が水酸化されていることが示唆され，構造未知の物質は18,19－ジヒドロキシデオキシコルチコステロン（18,19(OH)$_2$ＤＯＣ）であることが推定された。このことは，化学合成された18,19 (OH)$_2$ＤＯＣと未知物質が逆相カラムにおける保持時間，^{1}H−NMRスペクトル，ＭＯ－ＴＭＳ誘導体のＧＣ－ＭＳスペクトル等において一致することからも確認された。

3. 18,19(ＯＨ)$_2$ ＤＯＣの生理活性

さらに，本物質の生理的役割をしらべる目的で、18,19(ＯＨ)$_2$ＤＯＣ，及びその代謝物質として予想される18－ヒドロキシ－19－ノルデオキシコルチコステロン（18(ＯＨ)19norＤＯＣ）の，鉱質コルチコイドレセプターへの親和性を測定した。その結果，18,19(ＯＨ)$_2$ＤＯＣはラット腎臓鉱質コルチコイドレセプターに対して低い親和性しか示さなかったが，18(ＯＨ)19norＤＯＣはアルドステロンの約250分の１の親和性を示した。これは，鉱質コルチコイドである18(ＯＨ)ＤＯＣや抗ミネラルコルチコイド作用を持つスピロノラクトンとほぼ等しい親和性である。

（総　括）

18(ＯＨ)ＤＯＣをウシ副腎皮質ミトコンドリアとインキュベートすることによって生じる２種の生成物について次の事があきらかとなった。

1. これら２つの生成反応は，いずれもシトクロムＰ－$450_{11\beta}$ 水酸化酵素系によって触媒される。
2. 生成物のひとつは11β－水酸化物の18(ＯＨ)ＣＳＴであり，他は19－水酸化物である18,19(ＯＨ)$_2$ＤＯＣであった。
3. 18,19(ＯＨ)$_2$ ＤＯＣは，いままで報告されていなかったステロイドである。このステロイドは，鉱質コルチコイド活性を有する18(ＯＨ)19norＤＯＣの前駆体と考えられる。

論文の審査結果の要旨

シトクロームＰ－$450_{11\beta}$ 水酸化酵素系はステロイド11β，18位水酸化を触媒することが知られている。本論文においては，新しく19位も水酸化することが明らかになった。その水酸化反応の結果，新たなステロイド物質として18，19ジヒドロデオキシコルチコステロンが見出された。構造決定は field desorption 質量分析およびＮＭＲを用いてなされ，化学的合成によっても確められている。最近19位に修飾を受けたデオキシコルチコステロンのミネラロコルチコイド活性が強いことが知られるようになったが，本論文はそれらの19位水酸化スチロイド物質の生成機作の研究に有力な手がかりを与える。したがって充分学位に値するものとして評価できる。