

Title	ミトコンドリア呼吸に対する脂質過酸化物の作用
Author(s)	今川, 敏明
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/34758
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	いま 今	がわ 川	とし 敏	あき 明
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	6553	号	
学位授与の日付	昭和59年6月11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	ミトコンドリア呼吸に対する脂質過酸化物の作用			
論文審査委員	(主査)			
	教授 堀尾 武一			
	(副査)			
	教授 佐藤 了 教授 松原 央			

論 文 内 容 の 要 旨

ミトコンドリアの呼吸活性に対する脂質過酸化物の作用について、リノール酸メチル由来の精製過酸化物を用いて検討した。

(I) リノール酸メチルの自動酸化物中よりミトコンドリアの呼吸活性を阻害する新しい過酸化物(ML-X)を単離精製した。ML-Xの構造は、 ^{13}C -NMR・質量分析・元素分析の結果より methyl 9-hydroperoxy-12, 13-epoxy-10-octadecenoate であると決定した。ML-Xは、glutamate-malateを呼吸基質とした時にはミトコンドリアのstate3呼吸を阻害し、succinateが基質の時にはstate4呼吸を促進した。ML-Xは、SMPのNADH oxidase及びNADH dehydrogenase活性を阻害するが、succinate oxidase 活性は阻害しなかった。また、ML-Xはミトコンドリアの酸化的リン酸化を阻害し、呼吸によって形成された膜電位を消失させた。以上のことよりML-Xは電子伝達阻害剤としての作用と、脱共役剤としての作用を併せ持っている新しい型の阻害剤であると考えられる。

(II) ラット肝臓ミトコンドリア及びSMPにおいては、ML-Xによる呼吸の阻害は一過性で、呼吸活性の回復が起こった。ML-Xを肝臓ミトコンドリアまたはSMPとincubateすると、ML-Xはより親水性の高い物質(L-X)へ変化していた。L-Xの構造を ^{13}C -NMRで検討した結果、L-XはML-Xのメチルエステルが加水分解された9-hydroperoxy-12, 13-epoxy-10-octadecenoateであった。L-Xのミトコンドリアの呼吸活性に対する作用について調べると、ML-Xとはほぼ同様の作用を示すが、その作用濃度はML-Xに比べて2~3倍高濃度であった。またML-Xは、添加したうちの36%がミトコンドリアに吸着しているのに対して、L-Xは約10%しか吸着していなかった。以上のことより、肝臓ミトコンドリアにおけるML-Xの阻害作用が一過性である原因は、ML-Xがより親水性の高いL-Xに加水分

解されることによってミトコンドリアに吸着できなくなることにあると考えられる。

(Ⅲ) ミトコンドリアの脂肪酸化に対する過酸化脂質の作用について検討した。基質としてpalmitate, palmitoyl CoA, palmitoylcarnitineを用いた所いずれの場合にも、10 nmol/mg以下の低濃度の過酸化脂質によって阻害された。Hexokinase, glucoseによって系のATPを除くと、過酸化脂質による阻害は弱められた。過酸化脂質は、 β -酸化を阻害し、 β -酸化系の中間体である3-hydroxypalmitoyl CoA及び2,3-dehydropalmitoyl CoAの形成を阻害した。また、ミトコンドリアのCarnitine acyltransferaseは過酸化脂質によって阻害され、その阻害作用はhexokinase, glucose添加によって弱められた。さらにミトコンドリアと過酸化脂質とをincubateすると、過酸化脂質のカルニチンエステルの形成が示唆された。以上のことから過酸化脂質がカルニチンエステルになってミトコンドリア内部に取り込まれ、ミトコンドリアのcarnitine acyltransferase活性を抑制し、脂肪酸の酸化を阻害するものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

生体内などにおいて不飽和脂肪酸を含む脂質と分子状酸素の反応によって生成される過酸化脂質は生体の活動、特に、呼吸やエネルギー代謝の過程に重大な損傷を与え、また、生体膜系の変性老化をひきおこすことは以前から知られていた。しかし過酸化脂質のどのような化学構造が代謝過程の何れの段階にどのような作用をおよぼすかについての詳細は殆ど未知である。本論文で述べられている研究はこのような問題点の解明に重要な進歩をもたらしたもので、その内容は次の三つに要約できる。

1) リノール酸メチルの自動酸化によってできる過酸化脂質混合物の中からミトコンドリアの呼吸に著明な影響をもつ新物質を見出して単離精製し、核磁気共鳴、質量分析、元素分析などの方法によって、その化学構造をヒドロペルオキシ・エポキシ・オクタデセン酸メチルと決定し、この物質がミトコンドリア呼吸鎖のNADH脱水素酵素を特異的に阻害すること、また、呼吸の脱共役剤として働くことを見出した。また、類似化合物との比較により、この作用発現のためにはヒドロペルオキシ基とエポキシ基の両方が存在することが必要であることが示された。

2) このような作用は心臓ミトコンドリアに対しては効果が持続するが、肝臓ミトコンドリアに対しては一過性である。この回復作用は後者がもっている強力な加水分解酵素作用によるものであることが判明した。

3) 生体内における呼吸の主要なエネルギー源としての脂肪酸（パルミチン酸）を基質とした場合、時に、低濃度でこの過酸化脂質による阻害がおこることが判明し、また、この過酸化脂質はまずカルニチンエステルに変換されカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼの段階を強力に阻害することが明らかとなった。

上記のように、本研究は今迄構造不確定の混合物についてのみその有害作用が調べられてきた過酸化脂質の中から、新しい有効成分を単離精製することに成功し、構造と作用点の決定および作用発現のため必須の作用基を明らかにしたものであり、過酸化脂質の生体反応障害作用の機構を解明するための基

礎を確立したものと考えられる。

本研究は確実な生化学的基盤の上に立った独創的研究であり、したがって、理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認められる。