

Title	牛副腎ミトコンドリアにおける18-ヒドロキシコルチコステロン生成の調節
Author(s)	金, 重暎
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35055
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・（本籍）	まひ 金	じゅん 重	いよん 映
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	6 9 6 6	号
学位授与の日付	昭和 60 年 8 月 2 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	牛副腎ミトコンドリアにおける18-ヒドロキシコルチコステロン 生成の調節		
調文審査委員	(主査)		
	教授	田川	邦夫
	(副査)		
	教授	和田	博 教授 松本 圭史

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

副腎皮質ミトコンドリアではシトクロームP-450_{11β}系によりデオキシコルチコステロン(DOC)からコルチコステロンが生成することはよく知られた事実である。しかしDOCから18-ヒドロキシデオキシコルチコステロン(18-OH-DOC)が同じP-450_{11β}系によって生じることが最近ようやく明らかになってきた。コルチコステロンは18位水酸化を受けて、また18-OH-DOCは11β水酸化を受けて18-OH-コルチコステロンになる。すなわちDOCから2通りの経路を経て、18-OH-コルチコステロンが生じることが知られるようになった。この反応を触媒するのは、いずれもP-450_{11β}系である。著者の研究目的はP-450_{11β}系が関与するこの複雑な反応系を解析し、反応調節機構の基礎研究を行なおうとするものである。

(方法ならびに成績)

- 1) 牛副腎の屠殺場から入手後、髓質部分を取り除き、皮質は0.25 Mショ糖でホモジナイズし、細胞分画を行ってミトコンドリアを遠心分離した。試料は-80℃に貯えた。実験には50mMトリス塩酸塩緩衝液にブランソンソニケーターを用いて浮遊液とした。
- 2) 反応液にはNADPH再生系を加え、P-450系を補強するために5 μMアドレノドキシン、0.1 μMアドレノドキシン還元酵素を用いて液量を1 mlとした。
- 3) 反応は50mMトリス塩酸塩pH 7.4 溶液中で行い、DOCのアセトン溶液16 μlを加えてスタートし、反応温度を37℃とした。
- 4) 反応は等量の冷メタノールを加えて停止し、4 nmolのデキサメサゾンを用いて内部標準として加えた後、

2 ml の 2 塩化メチレンを加えて生成物を抽出した。生成物の同定には高速液体クロマトグラフィーを使用した。

5) ①DOCからコルチコステロン, ②DOCから18-OH-DOC, ③コルチコステロンから18-OH-コルチコステロン, ④コルチコステロンから18-OH-コルチコステロンの各経路における V_{max} と K_m を求めた。その結果は V_{max} (nmol/min/nmol P-450)の値は①50; ②73; ③0.4 ; ④5.0であった。また K_m の値として①1 μ M ; ②1 μ M ; ③6 μ M ; ④120 μ Mの値が得られた。

6) DOCを基質とした場合DOCの初期濃度が高いところでは基質阻害が見られた。またコルチコステロンは18-OH-DOCから18-OH-コルチコステロンへの経路を阻害した。

7) つぎに18-OH-DOCを基質に用いたP-450_{11 β} 系にDOC (55-327 μ M) を共存させるコルチコステロンを共存させた場合と同様に18-OH-コルチコステロンの生成は阻害された。ただしコルチコステロンの生成はDOCのこの濃度範囲では、阻害は見られず基質飽和曲線に近づいた。

8) 0.02%のトリトンX-100添加はP-450_{11 β} 系によるDOC (436 μ M)からのコルチコステロン生成量を半減した。同様にDOCからの18-OH-DOC生成量もまたトリトンX-100の添加によって45%にまで低下した。

9) 8)の系における18-OH-コルチコステロンの生成量は、予期に半して2倍以上に増加した。

10) 18-OH-DOCから18-OH-コルチコステロンを生成する反応においては、トリトンX-100はP-450_{11 β} 系の反応を阻害するが、DOCが存在するとかえって賦活した。

(総括)

1. 牛副腎ミトコンドリアのP-450_{11 β} 系のDOCから18-OH-コルチコステロンへの2つの経路について動力学的パラメーターの数値決定を行った。

2. この系においてDOC基質の場合、基質濃度が大過剰になると反応速度の抑制が見られた。

3. 上記2経路の相互作用として、コルチコステロンは18-OH-DOCを基質とする系を阻害した。

4. トリトンX-100はDOCからコルチコステロンおよび18-OH-DOCを生成する反応を抑制するのに対し、18-OH-コルチコステロンの生成は増進した。このトリトンX-100のP-450_{11 β} 系に対する影響は最近見出されたホスホリビドの影響と関連して18-OH-コルチコステロンおよびアルドステロン合成の解析に有用な知見を与えるものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

著者は副腎皮質ミトコンドリアを用いて、デオキシコルチコステロンから18-ヒドロキシデオキシコルチコステロンに至る代謝経路の反応動力学定数を決定した。また、これらの代謝過程が基質前駆物質により功妙に調節されることを見出した。ミネラルコルチコイド生合成過程の調節機作を解明する端緒となるべき研究で、ステロイド研究の進歩に寄与するところが大きいと考えられる。