



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	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35055">https://hdl.handle.net/11094/35055</a>
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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名・(本籍)	金	重	喰
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	6966	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		
調査審査委員	(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<sub>11β</sub>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<sub>11β</sub>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<sub>11β</sub>系である。著者の研究目的はP-450<sub>11β</sub>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0.25M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°C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5μMアドレノドキシン、0.1μMアドレノドキシン還元酵素を用いて液量を1ml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16μlを加えてスタートし、反応温度を37°Cとした。
- 4) 反応は等量の冷メタノールを加えて停止し、4nmolのデキサメザンを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VmaxとKmを求めた。その結果はVmax (nmol/min/nmol P-450)の値は①50; ②73; ③0.4; ④5.0であった。またKmの値として①1 μM; ②1 μM; ③6 μM; ④120 μM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<sub>11β</sub>系にDOC (55-327 μM)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<sub>11β</sub>系によるDOC (436 μM)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<sub>11β</sub>系の反応を阻害するが、DOCが存在すると活性化した。

#### (総括)

1. 牛副腎ミトコンドリアのP-450<sub>11β</sub>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反し、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<sub>11β</sub>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巧妙に調節されることを見出した。ミネラロ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。