



Title	Induction of Alkoxyresorufin O-Dealkylases and UDP-Glu-curonosyl Transferase by Phenobarbital and 3-Methylcho-lanthrene in Primary Cultures of Porcine Ciliary Epithelial Cells
Author(s)	坂本, 信一
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37588">https://hdl.handle.net/11094/37588</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="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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照</a> ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

## 【64】

氏名・(本籍)	きか	もと	しん	いち
	坂	本	信	一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9563	号	
学位授与の日付	平成3年3月5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	Induction of Alkoxyresorufin O-Dealkylases and UDP-Glucuronosyl Transferase by Phenobarbital and 3-Methylcholanthrene in Primary Cultures of Porcine Ciliary Epithelial Cells (豚毛様体上皮細胞の初代培養におけるフェノバルビタールと3-メチルコランスレンによる Alkoxyresorufin O-Dealkylase と UDP-Glucuronosyl Transferase の誘導について)			
論文審査委員	(主査)			
	教授	真鍋	禮三	
	(副査)			
	教授	岡田	光弘	教授 藤田 尚男

## 論文内容の要旨

## (目的)

肝臓と同様に、眼も薬物代謝能力をもつことが最近報告されてきた。特に毛様体にその活性が強いとされている。毛様体上皮細胞の最も重要な役目は房水産生である。水晶体、角膜に対する栄養補給である房水産生は、それらの組織に対する有毒物質を含まないことが必要である。しかし、その重要性にもかかわらず、毛様体上皮細胞の薬物代謝系酵素の性質は、ほとんど知られていなかった。

今回我々は、豚毛様体から分離し、初代培養した無色素上皮細胞 (NPE) と色素上皮細胞 (PE) を用いて、薬物代謝系酵素 (7-pentoxyresorufin O-dealkylase; POD, 7-ethoxyresorufin O-dealkylase; EOD) と解毒系酵素 (UDP-glucuronosyl transferase; UDP-GT) の局在とフェノバルビタール (PB), 3-メチルコランスレン (MC) による誘導について調べたので報告する。

## (方法)

豚眼からの毛様体上皮細胞の分離

眼球を赤道部で半割し、前半部から水晶体、硝子体、神経網膜を除去後、0.02% EDTA液中に5-7分間インキューベートした。顕微鏡下で鑷子にてNPEの断端をつかみ、はがして採取した。PEはピペットにて吸引した。各々の細胞は17% fetal bovine serum を含む培養液中で培養した。培養したNPE, PEから各々マイクロソーム分画をとり、トリス緩衝液中に懸濁したものを試料として用いた。

酵素アッセイ

基質として7-pentoxyresorufinまたは7-ethoxyresorufinと試料とを含むトリス緩衝液にNADPHを加え、586nmでの蛍光の増加を測定した(励起光522nm)。また、POD, EODに対する抗チ

トクロームP-450, PB抗体と, 抗チトクロームP-450MC抗体の影響を調べるために, これらの抗体を上記反応液に加え, 30分間インキュベートしてから, POD, EODを測定した。

UDP-GT活性は, UDP-glucuronateを基質として405nmにおける吸光度の減少を測定した。

#### (結 果)

無処理時, NEPのPOD, EOD活性はそれぞれPEに比べ20倍高値であった。誘導をかけた場合でも, PEの活性はあまり上昇しなかった。NPEはPB誘導後48時間ではPODは3.9倍無処置時より高くなったが, EOPは1.3倍だけであった。MC誘導後48時間ではEODは6倍上昇したが, PODはあまり変化しなかった。これらの活性上昇は, cyclohexamideまたはactinomycin Dによりほとんど抑制された。また, 抗チトクロームP-450 PB抗体はPOD活性を抑制したが, EOD活性は抑制せず, 反対に抗チトクロームP-450 MC抗体はEOD活性を抑制したが, POD活性はあまり抑制しなかった。

UDP-GT活性は, 無処置時の場合はPEがNPEより2倍高値であった。PB誘導48時間後, PEは4.7倍無処置時より活性が上昇し, NPEは3.8倍上昇した。誘導された活性においても, PEがNPEの2倍の高値であった。MCによる誘導も, PB誘導時とほぼ同じ結果になった。この誘導は, cyclohexamideとactinomycin Dにより抑制された。

#### (総 括)

EODはMCで誘導されるチトクロームP-450の isozyme と関係し, PODはPBで誘導される isozyme に関係することが報告されている。このことは, 今回の抗チトクロームP-450抗体を使った実験でも支持された。

phase I' 酵素即ちPOD, EOD活性は主にNPEにあり, PEにはほとんど存在しなかった。

phase II 酵素即ちUDP-GT活性はNPEとPE両方に存在し, PBまたはMCによって誘導された。これらの酵素の偏在性について我々は次のように考えた。いうまでもなく, 毛様体上皮の主な役目は房水産生である。この中に有毒物質が混じれば, 水晶体, 角膜に重大な損傷を及ぼすから有毒物質の混入を最小限にすることが重要である。一般的に polycyclic な化合物は, メラニンに親和性を示すことからPEのメラニンは血漿を解毒する機構の第1の防御と考えられる。phenol 化合物はPEのUDP-GTで解毒代謝されるであろう。もし血漿中の化学物質の濃度がメラニンの吸着能力以上であるなら, 化学物質はPEを通過しNPEに及ぶであろう。その時はNPEの薬物代謝系酵素が第2の防御機構として働くと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

眼毛様体の最も重要な役割は房水産生であるが, 房水には有毒物質を含まないことが必須である。本研究はその毛様体上皮細胞の薬物代謝系酵素の性質を研究したものである。豚眼毛様体から無色素上皮細胞, 色素上皮細胞を機械的に分離し, Phase I 酵素 (Pentoxiresorufin O-Dealkylase, Ethoxyresoru-

fin O-Dealkylase) と, Phase II 酵素 (UDP-Glucuronosyl, Transferase) の局在とフェノバルビタール, 3-メチルコランズレンによる誘導を調べている。Phase I 酵素は主に無色素上皮細胞に存在し, 誘導物質によって5, 6倍活性が上昇したが, 色素上皮細胞には殆ど存在していないことを認め, Phase II 酵素は無色素上皮細胞と色素上皮細胞の両方に存在し, 同様に誘導物質によって活性が誘導されることを証明している。これらの酵素の偏在性の意味については, 色素上皮細胞のメラニン, Phase II 酵素が第一の房水解毒代謝機構として, 無色素上皮細胞の Phase I 酵素, Phase II 酵素が第二の房水解毒代謝機構として働くためとしている。以上の研究は毛様体上皮細胞の薬物代謝系酵素の性質を初めて明らかにしたものであり, 今後の毛様体の生理, 眼の薬物代謝研究に重要な知見を与えるもので, 学位授与に値する。