

Title	水晶体Glutathione S-Transferaseアイソザイムに関する酵素化学的研究
Author(s)	西中, 徹
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38184">https://hdl.handle.net/11094/38184</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	にし 西	なか 中	とおる 徹
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)		
学 位 記 番 号	第 10710 号		
学 位 授 与 年 月 日	平成5年3月25日		
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻		
学 位 論 文 名	水晶体 Glutathione S-Transferase アイソザイムに関する酵素化学的 研究		
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 西原 力		
	(副査) 教 授 真弓 忠範 教 授 馬場 明道 教 授 田中 慶一		

#### 論 文 内 容 の 要 旨

グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST) は、親電子性の外来異物とグルタチオン (GSH) との抱合反応を触媒する多機能タンパク質の総称であり、動物種を越えて大きく3種類のクラス、 $\alpha$ 、 $\mu$ 、 $\pi$ に分類される。また、近年第4のクラスとしてクラス $\theta$ も提唱されている。さて、水晶体は独立した器官であり、血管系は存在せず房水が水晶体に対する血液の役割を果たしているが、房水柵というバリアーが存在するため高分子の流入はなく、したがって、水晶体の異物代謝機構は肝臓と同様に組織が独自で持っている代謝機構であると考えられる。水晶体はGSHなどの還元物質に富む器官であり、GSTなどの酵素を含むグルタチオンスカベンジングシステムが存在することが知られている。GSTに関する研究は主に肝臓において行われてきたが、水晶体はその恒常性の崩壊が直ちに混濁、すなわち白内障という現象として現われるため、生体の恒常性維持におけるGSTの意義を検討するための良好な器官であると考えられる。さらに水晶体は自ら増殖した細胞を脱落・剥離せずに、終生すべてを抱え込んで自ら老化体になる孤立性をもっているため、老化のモデルとしての可能性をもっている。そこで、水晶体ならびに生体におけるGSTの意義を明らかにするため、様々な動物の水晶体よりGSTの精製を行い、その分子種の発現の様式について検討し、さらにその生理的役割について考察した。

#### 【種々の動物種水晶体からのGSTの精製】

水晶体におけるGSTの精製はウシにおいてはかなり詳細におこなわれているがその他の動物種ではほとんど行われていない。GSTはクラスによってその諸性質が異なるため、水晶体におけるGSTアイソザイムの発現パターンを把握することは重要なことと考え、ウシをはじめ、ブタ、ウサギ、イヌおよびラットの水晶体よりGSTを精製した。さらに精製酵素それぞれについて免疫学的交叉性、ならびにN末端アミノ酸配列を検討した。その結果、ブタ水晶体には1種類のGSTしか存在せず、それはクラス $\pi$ のアイソザイムであった。また、ウサギにおいてはクラス $\mu$ およびクラス $\pi$ の2種類のアイソザイムが、イヌにおいてはクラス $\alpha$ とクラス $\pi$ の2種類、そしてラットにおいてもクラス $\mu$ とクラス $\pi$ の2種類のアイソザイムが存在していた。またウシ水晶体についても追試したところ過去の報告どおり2種類のクラス $\mu$ のアイソザイムが存在していた。ヒトにおいてはクラス $\alpha$ とクラス $\pi$ のGSTが存在するとの報告があることと以上の結果を考え合わせると、水晶体におけるGSTアイソザイムの発現には顕著な種差があることが明らかとなった。

### 【水晶体 GST の種々の酸化的ストレスに対する感受性】

酸化的ストレスは白内障惹起の主要な原因の一つであり、また癌化や老化においても深い関係があると考えられている。GST は酸化的ストレスに対する防御機構の一員であることより、GST と酸化的ストレスとの関係について検討し、水晶体において酸化的ストレス条件下では生体内のジスルフィド結合が増加することが知られているので、シスチンなどの生体内低分子ジスルフィド化合物の影響を調べた。われわれは以前にヒトのクラス  $\pi$  GST である GST- $\pi$  がこれらの化合物によって混合ジスルフィドを形成し失活することを報告しているが、水晶体においてもクラス  $\pi$  に属するブタ GST は顕著に失活した。一方、クラス  $\mu$  の酵素であるウシ水晶体 GST は全く影響を受けなかった。さらにこれらのアイソザイムについて活性酸素種に対する感受性について検討したところ、ブタの GST はキサンチン-キサンチンオキシダーゼ系によって発生するスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) ならびに過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) により失活したが、ウシ水晶体 GST は全く失活しなかった。このように水晶体においても GST はそのクラスによって酸化的ストレスに対する感受性が異なることが明らかとなった。また、このことは動物種により発現している GST のクラスが異なることから、動物種によって水晶体での酸化的ストレスに対する感受性が異なることを示すものである。

### 【GST と白内障との関係】

有名な白内障モデルの一つにナフトレン白内障がある。ナフトレンは生体内に入ると P-450 系によって酸化を受けたのち、1,2-ナフトキノンへと変換され、水晶体のタンパク質を酸化し、白内障を引き起こすと考えられている。そこで水晶体 GST 活性に対する1,2-ナフトキノンの影響を検討したところ、ブタ水晶体 GST は顕著に失活したのに対し、ウシ GST はほとんど影響を受けなかった。このように、1,2-ナフトキノンに対する感受性においてもクラス間の相違があった。また、2種類あるウサギ水晶体 GST のうち、クラス  $\pi$  の GST は1,2-ナフトキノンにより失活したが、クラス  $\mu$  の GST は失活しなかった。以前にウサギへのナフトレン投与により水晶体の GST 活性が低下することが報告されているが、ウサギ水晶体においてはクラス  $\pi$  の GST が主要なアイソザイムであることを考慮すると、今回の結果は先の報告の現象を物質レベルで証明するものであると考えられる。

### 【まとめ】

水晶体における GST アイソザイムの発現には種差があり、さらに動物種によって様々な酸化的ストレスに対する感受性に違いがあることが明らかとなった。一般に白内障を惹起するような種々の化学物質に対する感受性が動物種によって異なることが知られており、このことと GST アイソザイムの発現の種差との間に何らかの関係があることが推察された。

## 論文審査の結果の要旨

西中君は、ブタ、ウシ、ウサギ、イヌおよびラットの眼球水晶体から Glutathione S-Transferase (GST) アイソザイムを精製し、それらの酵素化学的、タンパク質化学的諸性質について検討することにより、既に報告のあるヒトの場合を含め、これらの動物において発現している GST アイソザイムのクラスがそれぞれ異なっていることを明らかにした。さらに、これらのアイソザイムのクラス間において、種々の酸化ストレスや白内障を惹起するような化学物質に対する感受性が異なることを明らかにし、各動物において発現しているアイソザイムのクラスとそれらの動物の白内障発症の難易度との関連性から白内障発症過程における GST の関与を考察し、その可能性を示した。

以上の研究成果は白内障発症機構の一つに新たな視点を加えるものであり、博士(薬学)の学位請求論文として充分価値あるものと認められる。