

Title	ラット肝細胞質新規ユビキノン還元酵素系の存在と、その生体内抗酸化系への関与に関する研究
Author(s)	高橋, 隆幸
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3110189
DOI	10.11501/3110189
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏 名	たか 高 橋 隆 幸
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 2 5 7 号
学位授与年月日	平成 8 年 2 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	ラット肝細胞質新規ユビキノ還元酵素系の存在と、その生体内抗酸化系への関与に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範 (副査) 教授 前田 正知 教授 三村 務 教授 溝口 正

論 文 内 容 の 要 旨

Ubiquinone (UQ) は真核生物においてミトコンドリア以外にも広く分布しているが、ミトコンドリア外UQの生理的意義については、これまで明確な結論が得られていない。本研究ではミトコンドリア外UQの役割を明らかにする研究の一端として、ラット組織のUQ同族体の分布を詳細に調べ、その結果から以下に述べるように肝細胞質にNADPH依存性UQ還元酵素 (NADPH-UQ Reductase) の存在と、それと共役したUQ還元系が生体内抗酸化系として重要な役割を演じていることを明らかにした。

Å berg¹⁾ や Reahal & Wrigglesworth²⁾ が報告したように、ラット生体内に存在するUQ同族体の一部は還元型のUbiquinol (UQH₂) 同族体として存在し、その還元比率 [総Ubiquinone量 (UQとUQH₂の和) に対するUQH₂量の割合] は組織により異なることを確認した。そこで還元比率の高い肝臓 (およそ70%) と低い腎臓 (およそ15%) を用い、細胞画分におけるUQ同族体の分布とその還元比率を調べたところ、UQ同族体はあらゆる細胞画分に存在し、しかも、どの画分の還元比率も組織全体の還元比率とほぼ同じであった。ミトコンドリア電子伝達系に存在するUQ還元酵素 (NADH Dehydrogenase Complex および Succinate Dehydrogenase Complex) は、ミトコンドリア内膜に存在するため、これら酵素が外膜を隔てた他の細胞画分に存在するUQを直接還元するとは考えがたい。したがって、ミトコンドリア以外の細胞画分でも、不安定なUQH₂が恒常的に保持されているのは、ミトコンドリア以外にUQを還元・維持する何らかの機構が存在するためであると考えた。

この考えに基づき、還元比率の高かった肝臓を用い、細胞画分中のUQ-10還元活性の検索を行ったところ、細胞質に主に局在する強い酵素活性を認めた。このUQ還元酵素は、細胞質に存在する既知のキノ還元酵素であるDT-diaphorase と異なるだけでなく、他の細胞画分に見出されるどのキノ還元酵素とも異なった新規のキノ還元酵素であることが判明した。この酵素は不安定であるため、分画直後の細胞質をそのまま用いてNADPH-UQ Reductaseとしての諸性質を検討したところ、細胞質に高い還元比率 (NADPH/NADP⁺ = 71.4) で存在する³⁾ NADPHを電子供与体とし、ラットの主UQ同族体であるUQ-9を最も良い電子受容体とする、フラビン酵素の一種であると推定された。さらに、この酵素によるUQの還元は2電子還元機構であると推測された。

ところで、生体内に存在するUQは、その脂溶性のため、主に生体膜中に存在するが、NADPH-UQ Reductaseはリポソーム膜内のUQ-10や、肝ミクロソーム膜内の内因性UQ-9をも還元することを認めた。したがって、細胞内の各画分の脂質膜内に存在するUQが、どの画分においてもほぼ一定の還元比率で維持されているのは、この細胞質NADPH-UQ Reductaseにより還元されているためであることが示唆された。事実、ラット各組織のUQ-9の還元比率とその組織の細胞質NADPH-UQ Reductase活性との間に、正の相関関係が認められることは、細胞質NADPH-UQ Reductaseが、他の細胞画分に存在するUQ同族体の還元に対して中心的に働いていることを裏付けているものと思われる。

UQH₂は強い抗酸化作用を有することが知られている^{4) - 6)}。そのため、細胞質NADPH-UQ Reductaseによる脂質膜内UQの還元は、生体内において新規の抗酸化系を形成していることが期待された。そこで、この可能性について検討したところ、NADPH-UQ Reductaseはリポソーム膜内に存在するUQ-10の還元を介して脂質膜に誘導した2, 2'-Azobis(2, 4-dimethylvaleronitrile)誘導脂質過酸化反応を抑制することを認めた。同様の結果はミクロソーム膜を用いた2, 2'-Azobis(2-amidinopropane) Dihydrochloride誘導脂質過酸化反応でも認められた。これらのことからNADPH-UQ Reductaseは生体膜中のUQを還元する、いわゆるUQH₂リサイクリングに関与し、生体膜に生じた脂質過酸化反応に対する防御機構を担っている可能性が示唆された。ところで、このような細胞質NADPH-UQ Reductaseによる生体膜UQH₂リサイクリング系が、実際にin vivoでも機能しているかどうかは重要な問題である。そこで、UQ投与が四塩化炭素(CCl₄)による脂質過酸化反応を伴った肝炎を軽減するというin vivoでの報告に基づいて、UQH₂リサイクリング系が生体内で機能しているか検討した。その結果、UQ-10投与ラットでは、肝臓内の抗酸化因子の中でUQH₂-10含量と細胞質中のNADPH-UQ Reductase活性のみが上昇し、しかも、このUQ-10投与ラットでは、CCl₄の投与により肝臓に誘導した脂質過酸化反応が有意に抑制されることを認めた。また、CCl₄投与によるUQH₂-9や α -Tocopherolなどの脂溶性抗酸化物質含量の減少も有意に抑制された。これらの結果から、細胞内オルガネラに広く分布するUQは、細胞質に存在するNADPH-UQ Reductaseと共役し、UQH₂として脂質膜内で起こる過酸化反応に対する抗酸化剤として働くことが、in vitroおよびUQ-10を前投与したラットを用いたin vivo実験でも示された。

以上、ミトコンドリア外UQは、細胞質NADPH-UQ Reductaseにより恒常的にUQH₂として保持されており、しかも、この酵素と共役した新規の生体内抗酸化系を形成していることを明らかにした。

引用文献

- 1) Åberg, F., Appelkvist, E.-L., Dallner, G. and Emster, L.(1992) Arch.Biochem. Biophys.295, 230 - 234.
- 2) Reahal, R. and Wrigglesworth, J.(1992) Drug Metab. Dispos.20, 423 - 427.
- 3) Krebs, H.A.and Veech, R.L (1969) in Advances in Enzyme Regulation (Weber, G.ed.) Vol.7, pp.397 - 413, Pergamon Press, London.
- 4) Mellors, A. and Tappel, A.L.(1966) J.Biol.Chem.241, 4353 - 4356.
- 5) Kagan, V.E., Serbinova, E. A., Koyova, G.M., Kitanova, S. A., Tyurin, V.A., Stoytchev, T. S., Quinn, P. J. and Packer, L.(1990) Free Radic. Biol.Med.9, 117 - 126.
- 6) Yamamoto, Y., Komuro, E.and Niki, E.(1990) J. Nutr.Sci. Vitaminol.36, 505 - 511
- 7) Frei, B., Kim, M. C.and Ames, B. N.(1990) Proc.Natl.Acad.Sci. USA 87, 4879 - 4883.
- 8) Stocker, R., Bowry, V. W. and Frei.B.(1991) Proc.Natl.Acad.Sci. USA 88, 1646 - 1650.

論文審査の結果の要旨

ユビキノン(UQ)はミトコンドリア電子伝達系の必須成分として酸化的リン酸化の機構の一部を担っていることが明らかにされている。しかしながら、UQはミトコンドリア以外の細胞内オルガネラにも広く分布していることが古く

から知られているところから、近年このミトコンドリア外UQの生理的役割について多大の関心が集まっている。

著者はこのミトコンドリア外のUQの生理的意義の解明を目的に詳細な検討を行い、以下に述べる知見を得た。

1) UQ同族体は、ラット組織のあらゆる細胞内画分に存在し、しかもその一部は還元型のUQH₂同族体であった。さらに、その還元レベルはどの細胞内画分においても当該組織全体の還元レベルと同じであった。2) ラット肝臓細胞質には既知のキノン還元酵素とは異なった、新規のNADPH依存性のキノン還元酵素(NADPH-UQ Reductase)が存在することを明らかにした。またこのNADPH-UQ Reductaseの諸性質を明らかにした。3) ラット肝臓細胞質NADPH-UQ Reductaseは、脂質膜内のUQ同族体をも還元し、しかも、本酵素は組織中のUQ同族体の還元比率に対し、支配的な役割を担っていることを明らかにした。4) ラット肝臓細胞質NADPH-UQ Reductaseは、脂質膜内のUQH₂リサイクリングにより脂質膜に誘導した脂質過酸化反応を防御することを明らかにし、この酵素が生体内で新規の抗酸化系を形成している可能性を示した。

細胞質にNADPH依存性の新規UQ還元酵素が存在し、オルガネラ膜のUQと共役して脂質過酸化に対する防御機構を構成していることを見いだした前述の成果は、ミトコンドリア外UQの生理的意義の重要な一端を解明したものであり、博士(薬学)を授与するにふさわしいものと考えらる。