

論文内容要旨

薬物の効力や毒性が、動物の種・性・系統・年齢などによって異なり、また動物を種々の非生理的あるいは病的状態にすることにより変化することは以前からよく知られている。このような変化は、生体側の諸条件による薬物代謝活性の変動に起因していることが多いことが明らかにされてきている。従って薬物代謝活性の変動を検討することは、薬物の有効性や安全性を確立するために重要な要件であると考えられる。

現在一般に用いられている脂溶性の高い薬物の多くのは、主として肝臓のmicrosome分画に局在する薬物代謝酵素により代謝をうけて、より極性の高い物質となり、その効力や毒性が変化することが知られている。この薬物代謝酵素系の活性を決定する主な因子として、NADPH依存性の電子伝達系(電子伝達系と略す)の活性、その構成因子であるcytochrome P-450 (P-450と略す)の含有量およびその基質との結合が関与していると考えられているが、とりわけP-450と基質との結合は主要な律速段階として重要視されている。

種々の実験動物のうち、ラットではある種の薬物の代謝活性が何らかの機構によりandrogenによって増強されているので、雄ラットの方が雌の2~3倍の高い活性を示すが、ラット以外の動物ではそのような性差はなく、androgenによる活性増強機構が存在しないものと考えられている。さらにラットにおいてはP-450と基質との結合にも薬物代謝活性とほぼ同程度の性差があることが報告されている。またラットにおいては、morphine投与・絶食・L-thyroxine投与・副腎摘除・alloxan投与などの処置をして、非生理的あるいは病的状態にした場合の薬物代謝活性の変動のしかたにも、雌雄間において差異があることが報告されている。

そこで本邦において実験動物として比較的繁用されているラット・マウス・ウサギを用いて、薬物代謝酵素活性の種差・性差の発現機構および上述の非生理的あるいは病的状態下における薬物代謝酵素活性の変動に関する性差および種差の原因を、主としてP-450と基質の結合との関連において検討した。

1. 肝microsomeにおけるP-450と基質の結合と、薬物代謝活性の種差・性差との関係
ラットでは、microsome蛋白質1mg当りのP-450とhexobarbital (HBと略す)やaminopyrine (APと略す)との結合差スペクトルの大きさ(結合量)に代謝活性と同様に約2.5倍の性差があったが、P-450の含有量の性差は約1.3倍なので、P-450 1m μ mol当りの基質の結合量(結合能)には約2倍の性差がみとめられた。これに対しマウスやウサギでは、P-450の含有量、HBやAPとの結合能のいずれにも代謝活性と同様に性差はみとめられなかった。一方ラットにおける代謝活性に性差のないaniline (ANと略す)を基質とした場

合には、ラット・マウス・ウサギともにP-450の結合能に性差はみとめられなかった。雄ラットにおけるP-450のHBやAPとの結合能は、精巣摘除により低下して雌に近い値を示し、精巣摘除ラットにandrogenを投与すると結合能は回復して正常な雄ラットに近い値を示した。P-450のHBやAPとの結合能のandrogenによる増加は、estrogenの同時投与により拮抗された。これらの知見は、同様な処置による薬物代謝酵素活性の変動についての報告と一致する結果を示した。さらに、ラットにおいては、HBやAPの代謝活性に関するKm値(Michaelis定数)およびP-450のそれらの基質との結合差スペクトルに関するKs値(spectral dissociation constant)は、いずれもandrogenによって調節されており、雄の方が雌よりも小さいことを認めた。また精巣摘除およびandrogenやestrogenの投与によるKs値の変動は、Km値の変動とよく一致する傾向を示した。これらのことからラットにおけるHBやAPの代謝活性の性差の主な原因は、雄ラットではP-450の基質に対する親和性が、androgenによって高められていて、その結果、P-450の基質結合能が増加することによるものと考えられた。

薬物代謝酵素の活性には動物による種差のあることがよく知られているが、P-450の含有量およびP-450のHBやANとの結合差スペクトルの大きさにも、ラット・マウス・ウサギの間に著明な差異が認められた。しかし、P-450のHBやANとの結合能には、androgenによって増強されている雄ラットにおけるHB結合能を除き、種差は殆どみられなかった。雌ラットおよび雌雄マウス・ウサギにおけるHB代謝活性の種差は、P-450の含有量や基質結合差スペクトルの大きさの差異と一致する傾向を示し、したがって雌雄マウス・ウサギにおけるHB代謝活性の種差の原因は、主としてHBのP-450との結合量の差異に関連していることが示唆された。一方ANを基質とした場合には、P-450の基質結合差スペクトルに対する代謝活性の比率と一致する種差がみとめられたことから、AN代謝活性の種差は、P-450とANの複合体の還元速度と関連している可能性が推察された。

2. 各種動物におけるmorphine投与による薬物代謝活性の変動とP-450と基質の結合の変動との関係

雄ラットにmorphineを投与すると、P-450のHBやAPとの結合能が著明に減少したが、雌ラットや精巣を摘除した雄ラットでは、morphine投与による結合能のそれ以上の低下はみられなかった。一方、精巣を摘除してからandrogenを投与した雄ラットでは、P-450のHBやAPとの結合能のmorphine投与による低下は正常な雄ラットと同様に著明にみとめられた。これらの知見は、同様な処置によるHBやAPの代謝活性の変動に関する結果とよく一致した。また雄ラットにおけるKs値やKm値は、HBやAPを基質とした場合にはいずれもmorphine投与により正常な雌の値に近づいた。ANを基質とした場合には、雌雄ラットとも

に、P-450の結合能、代謝活性、 K_s 値および K_m 値のいずれも有意の変動を示さなかった。一方、zoxazolamine (Z Aと略す)は、ラットにおける代謝活性やP-450の結合能にはA Nと同様に性差がないが、A NがP-450と結合してtype IIの差スペクトルを示すのに対して、Z Aの差スペクトルはHBやA Pと同様のtype Iであった。さらにmorphineを投与したラットにおけるZ Aの代謝活性やP-450のZ Aとの結合能には、A Nと同様に、雌雄ともに低下はみとめられなかった。従って、morphine投与による薬物代謝酵素活性やP-450の基質との結合能の変動にみられた、基質による差異は、P-450の基質結合差スペクトルのtypeとは無関係であり、むしろ基質結合能のandrogen依存性に関連しているものと考えられた。これらのことから、雄ラットにおけるHBやA Pの代謝活性のmorphine投与による低下の原因は、主として、P-450の基質に対する親和性のandrogenによる増強機構が障害をうけ、基質との結合能が低下することによるものと考えられた。それ故、このようなandrogenによる増強機構が存在しないとされているマウスやウサギでは、HBやA Pの代謝活性やP-450のそれら基質との結合能のmorphine投与による低下はみられないものと考えられたので、この点について雌雄マウス・ウサギを用いて検討を加えたところ、予想通りの結果を得た。また、A Nを基質とした場合にも同様な知見が得られた。

3. 各種動物における絶食およびL-tyroxine投与による薬物代謝活性の変動とP-450と基質の結合の変動との関係

雄ラットにおけるP-450のHBやA Pとの結合能は、絶食やL-tyroxine投与により著しく低下し、 K_s 値や K_m 値も雌の値に近づいた。雌ラットでは、いずれの場合にもHBやA Pの代謝活性やP-450のそれら基質との結合能は低下しなかった。一方A NやZ Aを基質とした場合には、雌雄ラットともに、P-450の基質結合能、 K_s 値および K_m 値のいずれにも変動はみられなかった。マウスやウサギでは、HB・A P・A Nのいずれの代謝活性も、絶食やL-tyroxine投与による変動は、それぞれに雌雄同様の傾向を示した。これらのことから、絶食やL-tyroxine投与による雄ラットにおけるHBやA Pの代謝活性の低下の原因は、主として、P-450の基質との親和性に対するandrogenによる増強機構が障害をうけ、P-450の基質結合能が低下することに関連しているものと考えられた。

4. 各種動物における副腎摘除およびalloxan糖尿による薬物代謝活性の変動とP-450と基質の結合の変動との関係

雄ラットでは、副腎摘除やalloxan糖尿発症によりP-450のHBやA Pとの結合能は著明に低下し、 K_s 値や K_m 値も雌の値に近づいた。雌ラットや雌雄マウスでは、同様な処置をしてもHBやA Pの代謝活性もP-450の基質結合能も低下せず、マウスにおいては雌雄差はみられなかった。一方、A N代謝活性やP-450のA Nとの結合能は雌雄ラット・マウスともに低下せ

ず，雄ラットにおける K_s 値や K_m 値にも変動が認められなかった。雄ラットにおけるZ A代謝活性やP-450のZ Aとの結合能についても，ANと同様な結果が得られた。このことから，雄ラットにおける副腎摘除やalloxan糖尿病発症によるHBやAPの代謝活性の低下の主な原因は，P-450の基質に対する親和性のandrogenによる増強機構の障害により，P-450の基質結合が低下することと関連しているものと考えられた。

ま と め

ラットにおけるHBやAPの代謝活性の性差の原因は，雄ラットではP-450の基質に対する親和性がandrogen依存性の機構により高められていて，その結果，P-450の基質との結合能が増加していることによるものと考えられる。またmorphine投与・絶食・L-thyroxine投与・副腎摘除・alloxan糖尿病発症などの処置による，雄ラットにおけるHBやAPの代謝活性の低下の原因は，主として，そのようなandrogen依存性の活性増強機構が障害され，P-450の基質結合能が低下することに関連しており，したがってラットではこれらの処置による薬物代謝酵素活性の変動のしかたに性差がみられ，一方，マウスやウサギではandrogen依存性の活性増強機構が存在しないので，同様な処置による薬物代謝酵素活性の変動も雌雄同様な傾向を示したものと考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、薬物代謝酵素系の活性が、生体側の諸条件、特に種々の病的状態によつて変動するが、これが種差や性差によって異なることを解明したものである。

論文は以下の4編よりなっている。

第1に薬物代謝酵素系の肝ミクロゾームのP-450とヘキソバルピタールやアミノピリンなどの基質との結合能をしらべたところ、ラットにおいては雄が雌よりもはるかに大きい、マウス、ウサギではこのような性差は認められなかった。このラットの雄における結合能のレベルは去勢により低下して雌と同レベルになり、またアンドロジェンの投与により高レベルに復帰したことより性ホルモンの影響と考えられたこと、第2にモルヒネ投与における中毒状態においては雄ラットではP-450と基質の結合能は低下したが、雌ラットや去勢雄ラットでは変動はなかった。一方、アンドロジェンにより増強した結合能は、モルヒネにより低下することを観察した。第3に、絶食時や甲状腺ホルモン投与時の基礎代謝亢進時における結合能は雄ラットでやはりいちじるしく低下し、アンドロジェンによる増強機構もこの状態では抑制されることが認められた。第4に、副腎摘出やalloxan糖尿病ラットにおいても、雄ラットにおいてのみ結合能の低下が認められた。

以上よりラットにおけるヘキソバルピタールやアミノピリンの代謝活性の性差の原因は、雄ラットでは基質とP-450との結合能の差異によることを観察し、さらにこの結合能が性ホルモンのアンドロジェンに強く依存していることを、種々の病的状態において証明している。

薬物代謝酵素の活性を、基質とP-450の結合能を目標として検討し、これが性ホルモンの支配されていることが性差の原因であることを証明したものである。

この分野の研究としてきわめてユニークな見解であり、新しい知見を加えたものである。

よって本論文は学位を授与するに値するものと認める。