

Title	Anserine及びCarnosineの生合成経路に関する研究
Author(s)	玉木, 七八
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27719
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【11】

氏名・(本籍)	たま き なな や 玉 木 七 八
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 2 1 8 8 号
学位授与の日付	昭和46年1月30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	Anserine及びCarnosineの生合成経路に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 青沼 繁 (副査) 教授 上原 喜八郎 教授 岩田平太郎 教授 三浦喜温

論 文 内 容 の 要 旨

〔緒 論〕

anserine {3-methyl-N, α -(β -alanyl)-L-histidine: 一般名N- β -alanyl-L-methyl-histidine: 以下anserineと称す。} 及びcarnosine (N- β -alanyl-L-histidine: 以下carnosineと称す。)は蛋白質構成成分でない β -alanineを含む特異的なdipeptideである。1900年carnosineが、1929年anserineが骨格筋中より発見されて以来、生理作用としてhistidine欠乏食ラットにおけるcarnosineのhistidine代償性、神経伝達に対する作用、生体内液の緩衝性、ニワトリの血圧降下作用、AT-Paseに対する作用等が種々報告されているが確定的な解決をみないまま今日に及んでいる。

青沼、浜等は心臓ホルモン研究の一環として心臓自動運動を抑制する因子の一つに哺乳類心筋より初めてanserineを単離証明した。しかしanserine、carnosineは他の臓器に比較し、骨格筋に、例えばネコでは150~200mg%と大量に含まれるものであるが特有の生体内作用が不明であり、これらdipeptidesの生理作用を鮮明に説明出来ない。そこでこれらdipeptidesの生理的意義を解明することを最終目的に、まずanserine、carnosineの生合成経路の解明を行なった。

〔本 論〕

^{131}I -標識5-monoiodohistidineを合成しこのもののcarnosine合成能(β -alanineとの結合能)をラットの種々臓器の酵素系を用いて検討した。その結果 β -alanineのみ ^{131}I -標識5-monoiodohistidineと結合することを認め、各臓器の酵素活性は肝臓で最も強く、ついで腎臓、骨格筋、小腸の順であることを認めた。従ってanserine、carnosine含量の最も多い臓器が、合成能においては最も強い臓器ではないことを認めた。このことからanserine、carnosineの生合成の研究は合成能の強い肝臓と含量の多い骨格筋と常に対比して考えた。ラットの場合histidineは必須アミノ酸であることからanserine、carnosineの生合成経路の研究は、まずもう一方の構成成分の β -alanineの生合成から検討

を行なった。

まず aspartic acid [$3-^{14}\text{C}$] を股静脈内投与すると24時間後では anserine, carnosine への放射能の incorporation が、青沼らの β -alanine [$2-^{14}\text{C}$] の anserine, carnosine への incorporation と同レベルであることを認めた。この取り込みは、L-leucine [$U-^{14}\text{C}$] を用いた結果と比較して、この場合に anserine, carnosine には放射能が認められなかったことから、aspartic acid [$3-^{14}\text{C}$] が一般代謝を経て、炭素プールに入ってから incorporation ではなく、aspartic acid に特異的な反応であることを知った。次いで尿中に β -aspartyl-histidine が認められることから β -aspartyl-histidine を合成して、このものの α -脱炭酸による carnosine への conversion を検討したが、carnosine の形成は認められなかった。また哺乳類では aspartic acid の直接の α -脱炭酸による β -alanine の形成は認められない。そこで Fink 一派の uracil 代謝による β -alanine の生成に着目し、まず orotic acid [$6-^{14}\text{C}$] をラット股静脈内に投与し、1時間後における β -alanine, anserine, carnosine への放射能の incorporation を検討したところ、骨格筋より肝臓において、aspartic acid [$2-^{14}\text{C}$] の場合とオーダー違いに非常に多量の incorporation を認めた。取り込みの絶対値、比放射能とも β -alanine, anserine, carnosine の順に強く、他のアミノ酸への取り込みはほとんど認められなかった。

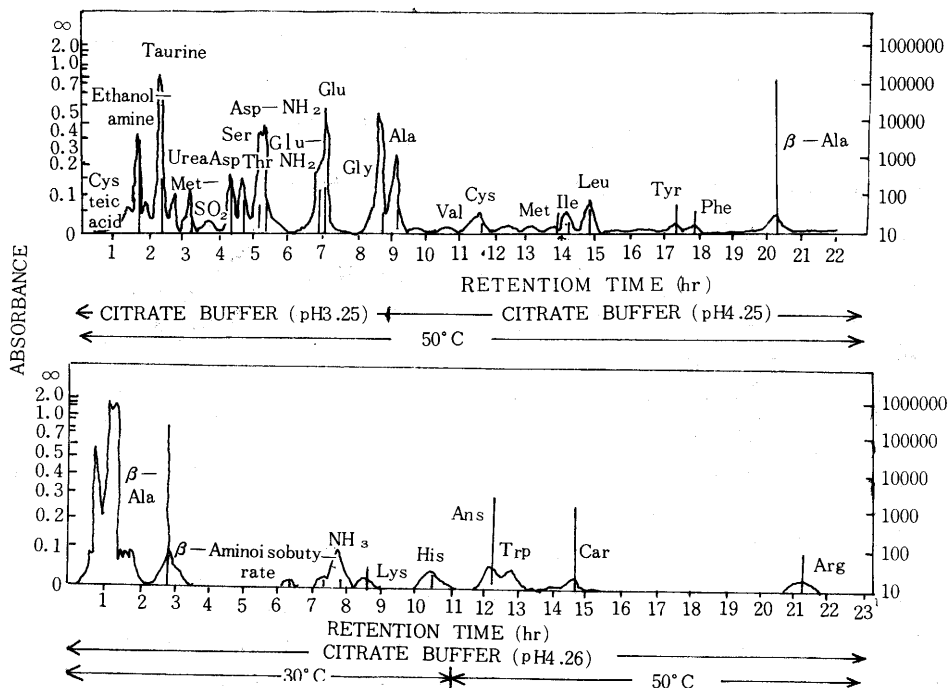


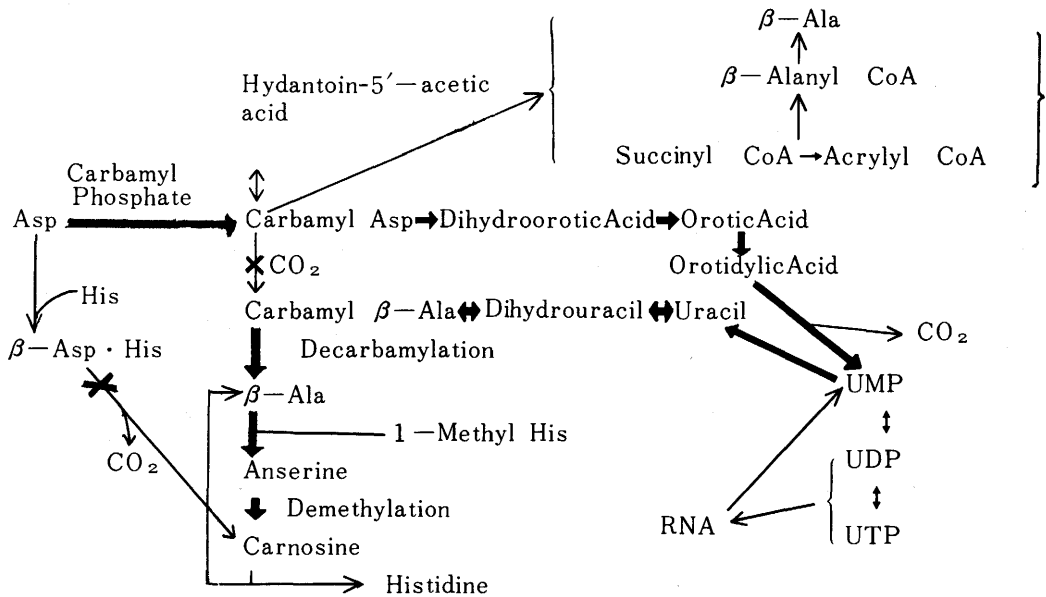
FIG. 1. Column chromatograms of 80% alcoholic extract of liver homogenate of rat with orotate- $6-^{14}\text{C}$ by a preparative amino acid autoanalyzer (O. D. at $560\text{m}\mu$ and radioactivity). Upper: Acid-neutral column ($18 \times 1500\text{mm}$, 120ml/hr , ratio 1:4, Amberlite CG-120 325-400 mesh). Lower: Basic column ($18 \times 500\text{mm}$, 120ml/hr , ratio 1:4, Amberlite CG-120 400-600 mesh) with adding $1\mu\text{mole}$ of Ans and Car.

Curve: Absorbance at $560\text{m}\mu$. Vestical lines: Radioactivity of each amino acid fraction.

Prior to the radioactivity counting, the samples were desalted with H^+ -form of Amberlite IR-120 (300-500 mesh). When the contents of β -Ala, Ans and Car were low, the quantitative analysis of them was carried out by addition of $1\mu\text{mole}$ of cold samples as carriers on the column.

この場合actinomycin DでRNA合成を阻害したところuracilの代謝系が促進され β -alanine, anserineに正常な場合より著明に多く放射能が取り込まれたがcarnosineは逆に抑制されていた。6-azauracilでorotidylic acidの脱炭酸を阻害したところ、 β -alanineの含量は肝臓で正常な場合の70倍にも増加し、orotic acid [6- ^{14}C] からの β -alanine, anserine, carnosineへの放射能の取り込みは、正常な場合の比率を保ちながら、全体として三者ともcontrolより著しく促進した。このことから orotic acid からuracilへの経路とは逆経路により、orotic acidから、carbonyl aspartic acidとなり、このものの脱炭酸によってcarbonyl β -alanineが形成され、脱carbonylによって β -alanine が生成される可能性をin vivo, in vitroで検討した。しかしcarbonyl aspartic acidの α -脱炭酸によるcarbonyl β -alanineの形成は認められなかった。従って6-azauracilのuracil代謝に対する促進的に働く新しい作用点を見出したものと考えられる。

orotic acid [6- ^{14}C] を用いた場合specific activityから従来考えられた如く、carnosineがanserineに変換するのではなく、 β -alanine \rightarrow anserine \rightarrow carnosineの順で生合成されることが考えられる。この点を更に直接的に証明するため ^3H -anserine, ^3H -carnosineをWilzbach法で



Scheme 1 Established Pathway by Author

合成し、このものの相互のconversionを検討した結果、肝臓、骨格筋ともにanserine \rightarrow carnosineの順に生合成されることを見出した。以上をまとめるとscheme Iの太線の如くなる。

anserine, carnosine生合成経路から当然の帰着として核酸代謝と密接な関係が考えられる。そこで β -alanine, carnosine長期投与によるRNA合成をorotic acid [6- ^{14}C] を用い検討した。肝臓及び腓腸筋ともに β -alanine, carnosine投与によりRNA合成を促進することを認めた さらに $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ を用い5分間のパルスラベルによる核酸の生合成が β -alanine, carnosine投与により促進されることを実証した。さらにこの核酸合成の影響はRNaseと無関係であることから、endoprotein inhibition による結果、RNA形成に反応が傾いたためと考えられる。

〔結 論〕

1. anserine, carnosine含量は骨格筋に多いが、合成能は肝臓で最も強い。
2. aspartic acidから特異的に β -alanine, anserine, carnosineが合成される。
3. aspartic acidからpyrimidine合成分解系を経て β -alanineが生成され、引き続いてanserine carnosineへと形成される。
4. 肝臓、骨格筋ともに β -alanineからanserineが形成され次いでcarnosineとなる。
5. β -alanine, anserine, carnosine形成はリボ核酸合成と密接な関係を有し、これらの投与は核酸合成を促進的に作用する。

論文の審査結果の要旨

心臓自働運動抑制因子としてのAnserine, Carnosineの生合成経路の解明を行なった。すなわちAsp, Carbamyl-Asp, orotic Acid, β -Ala, Anserine, Carnosineをラベルし、この順に生体内で合成されていることを証明した。よって本研究が学位論文に適するものと認めた。