



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | $\alpha$ -MSHとそのfragment, L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophyl-glycineの蛙melanocyte暗色化作用について                                         |
| Author(s)    | 小井田, 雅夫                                                                                                                                         |
| Citation     | 大阪大学, 1966, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/28935">https://hdl.handle.net/11094/28935</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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【 5 】

|           |                                                                                                              |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名・(本籍)  | 小 井 田 雅 夫<br><small>こ い だ まさ お</small>                                                                       |
| 学 位 の 種 類 | 薬 学 博 士                                                                                                      |
| 学 位 記 番 号 | 第 9 5 3 号                                                                                                    |
| 学位授与の日付   | 昭 和 41 年 3 月 31 日                                                                                            |
| 学位授与の要件   | 薬学研究科応用薬学専攻<br>学位規則第5条第1項該当                                                                                  |
| 学位論文題目    | $\alpha$ -MSH とその fragment, L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophyl-glycine の蛙 melanocyte 暗色化作用について |
| 論文審査委員    | (主査)<br>教 授 羽 野 寿<br>(副査)<br>教 授 川崎近太郎 教 授 青 沼 繁                                                             |

論 文 内 容 の 要 旨

現在脳下垂体から melanocyte 暗色化作用 (MSH 作用) をもつ3種類の peptide hormone,  $\alpha$ -MSH,  $\beta$ -MSH, ACTH が単離されている。これらホルモン分子の1次構造の解明ならびにfragmentの合成研究によって、それぞれの分子に共通なアミノ酸配列-histidyl-phenylalanyl-arginyl-tryptophyl- が MSH 作用と密接な関係をもつことが明らかにされた。

一方脳下垂体の粗抽出物のアルカリ水溶液を熱処理すると、その MSH 作用は低下せずむしろ上昇することは古くから知られていた。最近上述の3種のホルモンを用いた追試からアルカリ処理によってこれらホルモンの分子に共通なアミノ酸配列中に集中してラセミ化が起ることが認められ、アルカリ熱処理による MSH 作用の変化が分子内のラセミ化に起因することが提唱された。

そこで著者は矢島らによって合成された L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophyl-glycine (all-L) ならびにその立体異性体について、MSH 活性の比較を行ない、all-L をアルカリ処理したときに起る活性の変化を調べると共に、 $\alpha$ -MSH とこれら pentapeptide の MSH 作用の機作について2, 3の比較研究を行なった。

第1章 使用した peptide の MSH 活性の比較

まず著者の考案した蛙皮膚の melanocyte を用いる MSH 作用測定法を用いて、使用した peptide の活性を比較した。

all-L の活性を1とすると  $\alpha$ -MSH の活性は  $1.4 \times 10^6$ , caffeine は  $1.8 \times 10^{-2}$  であった。all-L の9つの立体異性体のうち phenylalanine だけがD型になった pentapeptide の活性が最も大きく160で、全てがD型のアミノ酸からなる D-histidyl-D-phenylalanyl-D-arginyl-D-tryptophyl-

glycine (all-D) には活性がなかった。

all-L の分子には 4 つの光学的に活性なアミノ酸基が含まれるが、一般に histidine または arginine-基がD型になると活性が低下し、phenylalanine または tryptophan 基がD型になると活性が上昇することを認めた。

一方 all-D をはじめ他の 2 つの pentapeptide ならびに  $\alpha$ -MSH の C-terminal heptapeptide が  $\alpha$ -MSH ならびに all-L の作用を抑えることを見出した。

しかし all-L のアミノ酸配列を含まない  $\alpha$ -MSH の N-terminal tetrapeptide にはこのような作用はなく、また caffeine の作用はこれらの peptide によって何ら影響を受けなかった。

## 第 2 章 all-L の MSH 作用に対するアルカリ処理の影響

all-L の 0.1N-NaOH 水溶液を 100°C で 10 分間処理すると MSH 活性が約 40 倍に上昇することを認めた。処理時間を 60 分に延長しても活性は上昇したままであった。そこで 30 分間処理した all-L の精製されたものを用いてその MSH 活性を未処理の all-L と比較した。MSH 活性は 40 倍に上昇したが、未処理の all-L の作用と同じく、all-D によって抑えられ、また両者の時間-反応曲線の間に著明な差異はなかった。

矢島らによって行なわれたアルカリ処理 all-L のアミノ酸組成の分析結果は、4 つの光学的に活性なアミノ酸基がいずれもラセミ化を起し、ラセミ化の度合は phenylalanine 基にもっとも著しく、arginine-基、histidine-基の順であった。

第 1 章の立体異性体の活性の比較結果から、アルカリ処理によって起こる活性の上昇が phenylalanine-基のラセミ化によることを推論した。

## 第 3 章 $\alpha$ -MSH と all-L の MSH 作用の比較

all-L の MSH 作用は  $\alpha$ -MSH と同じく、melatonin、甲状腺ホルモンや all-D によって抑えられ、また両者の用量-反応曲線、時間-反応曲線の間に著差はなかった。

$\alpha$ -MSH の MSH 作用には  $\text{Na}^+$  の存在が必要とされており、著者も脱 Na-リンゲル液では比較的高濃度を用いても  $\alpha$ -MSH の作用は全く現われないことを認めた。

しかし、all-L、その 2 つの立体異性体ならびにアルカリ処理 all-L はいずれもその作用発現に  $\text{Na}^+$  の存在を必要としなかった。

そこで  $\alpha$ -MSH の濃度を更に高めて all-L と同モル濃度付近で脱 Na-リンゲル液中の作用をみると、 $\alpha$ -MSH も all-L の約 20 倍の活性をもつことを認めた。

通常の NaCl-リンゲル液中の  $\alpha$ -MSH と all-L のモル当り活性比は  $1.4 \times 10^6 : 1$  である。したがって  $\alpha$ -MSH が蛙 melanocyte の暗色化を起こすためには必ずしも  $\text{Na}^+$  の存在を必要とせず、脱 Na-リンゲル液中ではその力価が約 10 万分の 1 に低下するものと考えられる。

以上の成績が示すようにアルカリ処理による作用の変化、MSH 作用の  $\text{Na}^+$  要求性の点で、all-L は  $\alpha$ -MSH と異なった態度を示すのであるが、この差異が両者に共通なアミノ酸配列以外の  $\alpha$ -MSH の構成部分に起因することはいきうまでもない。

したがって pentapeptide のレベルで MSH 作用の機作を究明することは 1 つの方法であるが、この場合 parent hormone と作用機作の上で多少の差異があることを考慮に入れなければならないと

考える。

## 論文の審査結果の要旨

本論文は下垂体に含まれるホルモンの  $\alpha$ -MSH とその合成 fragment, L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophyl-glycine (以下 all-L) ならびに後者の立体異性体 9 種の MSH 作用について、蛙 melanocyte を用いて比較したものである。

第 1 章に於いては melanocyte に及ぼす暗色化の活性を測定するため、光電管を利用した装置を新しく考案して用いた。

$\alpha$ -MSH の活性は all-L の  $1.4 \times 10^6$  倍であり、all-L と 9 種の立体異性体の活性比較から、all-L の分子中 histidine または arginine-基が D-型になると活性は低下し、phenylalanine- または tryptophan-基が D-型になると上昇することを認めた。

一方使用した立体異性体のうち 3 種と、 $\alpha$ -MSH の C-terminal heptapeptide が  $\alpha$ -MSH, all-L いずれの作用も抑えることを明らかにした。

第 2 章に於いては all-L をアルカリ処理すると MSH 活性は 40 倍に上昇するが、この活性の上昇が phenylalanine-基のラセミ化に起因することを明らかにした。

第 3 章に於いては  $\alpha$ -MSH, all-L いずれの作用も melatonin, 3, 5, 3',5'-triiodothyronine, thyroxine によって抑えられることを見出した。

また、脱 Na-リンゲル液中では  $\alpha$ -MSH の作用は約 10 万分の 1 に低下するにも拘わらず、all-L 以下前記 pentapeptide の作用は Na<sup>+</sup> 有無によって変化しないことを認めた。

この様に本研究は  $\alpha$ -MSH とその活性 fragment によって示された MSH 作用との機作が 2, 3 の点で差異があることを明らかにしたもので、今後ホルモンの薬理作用および合成研究上重要な知見を得た業績であって、薬学博士論文として価値あることを認める。