

Title	N-アセチル- $\alpha$ -アスパラチルーグルタミン酸の研究
Author(s)	宮本, 英七
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29516">http://hdl.handle.net/11094/29516</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	宮 本 英 七 みやもと えい ひち
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 3 9 8 号
学位授与の日付	昭 和 4 3 年 3 月 2 8 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文名	<b>N-アセチル-<math>\alpha</math>-アスパラチルーグルタミン酸の研究</b>
論文審査委員	(主査) 教 授 金 子 仁 郎 (副査) 教 授 佐 野 勇 教 授 坂 本 幸 哉

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

Curatolo らはウマの神経組織中に N-アセチルアスパラチルーグルタミン酸 (N-Ac-Asp-Glu) の存在を推定した。しかし彼らの精製, 同定は不十分であり, 推定構造を裏づける実験的証拠を欠いている。N-Ac-Asp-Glu であるとしても N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu か N-Ac- $\beta$ -Asp-Glu かは不明である。予備実験から著者はこの物質が脳以外の臓器に検出されないことを知り, 本物質の確実な同定をこころざした。

#### 〔方法ならびに成績〕

##### 1) N-Ac-Asp-Glu の精製

冬期死後 1~3 時間のウシ新鮮脳計 58.0 Kg (150 頭分) を 3 回にわけて屠畜場で入手し, ただちに 60°C の熱処理とエタノールで除蛋白。遠心沈殿後の滲液を Amberlite IR 120, H<sup>+</sup> 型に通し, 陽イオン, 両性電解質をのぞき, 漏出液を集めた。ピリジンで pH 5 とし, 酸性物質を Dowex 1 $\times$ 8, 酢酸型に吸着させ, 樹脂を水および 1 N 酢酸で洗った後 1 N ギ酸溶液で溶出し濃縮した。この画分を Dowex 1 $\times$ 8 カラム上でギ酸濃度を順次上げながらクロマトグラフィーを行なった。水-酢酸エチルを用いて向流分配を行ない, ついで Amberlite CG 50, H<sup>+</sup> 型に通し水で展開し, 再び Dowex 1 $\times$ 8 およびギ酸によりクロマトグラフィーを行ない精製した。この画分はただ 1 つの酸性化合物をふくみ, 加水分解でグルタミン酸およびアスパラギン酸を等モル生じ, ほぼ純粋な画分と考えた。結晶化には成功しなかった。

##### 2) N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の同定

6 N 塩酸中 100°C, 16 時間酸加水分解すると, もとの酸性の化合物は消失し, 等モルのアスパラギン酸とグルタミン酸を生じた。0.2 N 塩酸中で 100°C, 1 時間酸加水分解すると, アスパラギン酸と

グルタミン酸のほかに  $\alpha$ -Asp-Glu が検出され、 $\beta$ -Asp-Glu は検出されなかった。ついで Bradbury の方法により、ヒドラジン分解を行なうと、アセチルヒドラジド、 $\alpha$ -アスパラチルヒドラジド、グルタミン酸が検出された。さらに、N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu と N-Ac- $\beta$ -Asp-Glu を合成し、天然の化合物と汙紙電気泳動上の性質を比較し、N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu と同定した。

### 3) N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の体内分布

家兎、ラット、モルモット、ニワトリを用い、それぞれの動物の脳、心、肺、肝、脾、腎、小腸、下肢筋の8組織についてしらべた。この物質は脳にのみ検出され、脳以外の組織における濃度はたとえ存在しても新鮮組織 1 $\mu$ g/g 以下と計算された。

### 4) N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の神経組織内分布

家兎、ラット、モルモットの全脳内濃度は新鮮組織 140~230  $\mu$ g/g であった。ついでイヌ、家兎、ヒトの神経組織内各部位別に濃度を測定した。いずれも脳幹部よりも大脳皮質で低値を示した。人脳において、N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu は測定したすべての部位に検出された。大脳で白質と灰白質との間に著明な差は認められなかった。

### 5) U- $^{14}$ C-D-ブドウ糖投与後の脳内 N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の放射能

40 $\mu$ c U- $^{14}$ C-D-ブドウ糖を成熟マウス腹腔内に注射し、時間的経過をおって遊離のアスパラギン酸、グルタミン酸、N-Ac-Asp、N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の比放射能を測定した。30分後の N-Ac-Asp と N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の比放射能はアスパラギン酸、グルタミン酸のそれに比し極めて低く、4時間後にも漸増の傾向を示した。また、N-Ac-Asp と N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu の比放射能を比較すると前者の方が高く、ペプチド内でのアスパラギン酸とグルタミン酸の放射能はアスパラギン酸の方が高かった。上の結果はこの物質がアスパラギン酸 $\rightarrow$ N-Ac-Asp を経て形成されることを示唆している。

## 〔総括〕

1) ウシ脳から N-Ac-Asp-Glu と思われる物質を精製し、部分酸加水分解、ヒドラジン分解によりその構造を N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu と想定し、推定物質を合成して両者を汙紙クロマトグラフィー、高圧汙紙電気泳動により同定した。

2) 4種の動物の8組織について検討した結果、この物質は脳組織のみに検出された。全脳内の濃度は新鮮組織 140~230  $\mu$ g/g であった。

3) ヒト、イヌおよび家兎の神経組織内部位別濃度をしらべた。いずれも脳幹部よりも大脳皮質で低値を示した。

4) U- $^{14}$ C-D-ブドウ糖を動物に投与後、時間的経過をおって N-Ac- $\alpha$ -Asp-Glu および関連物質の比放射能を測定し、生合成経路としてアスパラギン酸 $\rightarrow$ N-Ac-Asp を経て形成されると推定した。

## 論文の審査結果の要旨

哺乳動物脳内には多数の遊離アミノ化合物が存在し、その中には中枢神経組織のみに検出されて他の臓器には検出されないいわゆる臓器特異性の物質の存在が報告されている。これらの物質の中には

神経伝達物質に擬せられ、また脳機能と関連してその動態ならびに生理的意義に関し多くの研究がなされているものを含んでいる。

著者は哺乳動物の脳内にこれまで未同定の N-アセチル- $\alpha$ -アスパラチルグルタミン酸をウシの脳から精製し、種々の物理的、化学的方法を用い確実に同定した。さらにこの物質の体内および神経組織内分布をしらべた。また、放射性同位元素を用いた実験を行ない関連化合物との代謝経路を知る糸口を得た。その結果この物質は神経組織に特有の構成成分であることが明らかにされ、これの中樞神経系における生理的意義をしらべる上に確かな手がかりを与え、神経化学上重要な知見を提供したものと考える。