

氏名	杉田陸海 すぎ た むつ み
学位の種類	理学博士
学位記番号	論理博第680号
学位授与の日付	昭和55年3月24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	Studies on Glycosphingolipids of the Starfish, <i>Asterina pectinifera</i> (イトマキヒトデのスフィンゴ糖脂質に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 香月裕彦 教授 丸山和博 教授 波多野博行

### 論文内容の要旨

高等動物のスフィンゴ糖脂質については多くの研究があり、これに属する種々な化合物が報告されている。これに反して、下等動物については、研究がようやく緒についた段階であるが、高等動物の脂質とは構成糖種や結合位置の異なるスフィンゴ糖脂質が存在することが指摘されている。申請者は棘皮動物に属するイトマキヒトデのスフィンゴ糖脂質について研究を行い、2種の中性糖脂質および3種の酸性糖脂質を単離し、その化学構造を明らかにした。

主論文Iはイトマキヒトデからの粗脂質の抽出、スフィンゴ糖脂質画分の分離、その中の中性糖脂質の構造決定を扱ったものである。まず、クロロホルム-メタノール混液で粗脂質を抽出し、Folchの分配を行い、クロロホルム可溶画分をとり、これを凍結乾燥した。各脂質の構造を調べるため、弱いアルカリけん化を行い、常法に従い脂肪酸画分とアルカリ安定画分に分けた。後者は、順次、DEAE-Sephadex A-25 (アセテート型) および Unisil の2種のカラムクロマトグラフィー、さらに、シリカゲルの薄層クロマトグラフィーにかけて精製した。実験の結果、中性スフィンゴ糖脂質画分は2成分から成ることがわかった。

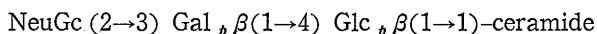
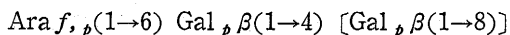
糖部分の分析のためには、試料を、順次、メチル化、還元およびアセチル化して部分メチル化アルジトール酢酸エステルに換えた後、ガスクロマトグラフィー-質量分析法により各成分を同定した。アノマー配位を調べるためには、アセチル化した試料をクロム酸酸化してメチル化した後、ガスクロマトグラフィーにより分析した。その結果、上記二つの中性糖脂質は glucopyranosyl- $\beta$  (1 $\rightarrow$ 1) ceramide および galactopyranosyl- $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) glucopyranosyl- $\beta$  (1 $\rightarrow$ 1) ceramide であることがわかった。

脂肪酸部分の分析のためには、試料をメタノリシスしてメチルエステルに換えた後、Unisil クロマトグラフィーを行い、ヒドロキシ酸エステルとその他の酸のエステルとに分離した。これらのエステルはガスクロマトグラフィーにより分離し、各成分は質量分析によって同定した。その結果、両脂質の脂肪酸部分は約65%が2-オキシン酸であり、 $C_{22:0}$ 、 $C_{23:0}$ 、 $C_{24:0}$ が多かった。残りの非オキシン酸は  $C_{14}$ ~ $C_{22}$  であり、こ

れらの中には  $C_{16:1}$ ,  $C_{18:1}$ ,  $C_{16:2}$  の不飽和酸および  $C_{14:0}$ ,  $C_{15:0}$ ,  $C_{16:0}$  の iso-酸が含まれていた。

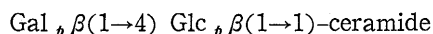
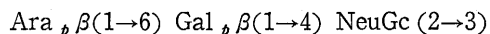
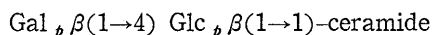
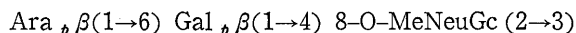
長鎖塩基部分の分析には、脂肪酸画分を除いた酸性液をアルカリ性とし、トリメチルシリル化した後、ガスクロマトグラフィー-質量分析にかけ各成分の同定を行った。もしくは、四酢酸鉛ついで酸化銀で処理し、脂肪酸の形に換えて分析を行った。その結果、塩基成分はいずれもフィトスフィンゴシン ( $C_{16} \sim C_{18}$ ) のみから成り、そのうち約70%は分岐型 (iso- および anteiso-型) であった。

主論文Ⅱは酸性のスフィンゴ糖脂質 (ガングリオシド) の抽出、さらに、これを3成分に分離し、そのうち量的にもっとも多いガングリオシド3の構造を決めたものである。まず、主論文Ⅰに述べたように粗脂質を Folch の分配にかけた際に得られる上層画分をシリカゲル, DEAE-Sephadex A-25 (アセテート型) および Iatrobeads 6 RS-8060 を用いる3種のカラムクロマトグラフィーにかけ、3種のガングリオシドに分離した。このうちガングリオシド3を取り上げ、0.1 N HCl で処理することにより ceramide lactoside とオリゴ糖が得られたが、シアル酸は検出できなかった。オリゴ糖画分の成分からはシアル酸が単離同定された。構成糖はアラビノース, グルコース, ガラクトースおよびシアル酸であり、そのモル比は 1:1:3:1 であった。また、ブタノリシスして得られるブチルエステルをガスクロマトグラフィーにかけた結果、グリコール酸ブチルエステルが検出された。糖の結合順序などについて詳しく調べた結果、ガングリオシド3は次の構造をもつことを明らかにした。



構成脂肪酸はすべて 2-ヒドロキシン酸であり、主に  $C_{22:0}$ ,  $C_{23:0}$ ,  $C_{24:0}$  であり、長鎖塩基は  $C_{16}$ ,  $C_{17}$ ,  $C_{18}$  のフィトスフィンゴシン型であり、分岐型のものが大部分を占めていた。

主論文Ⅲはガングリオシド1および2の単離および構造決定を扱ったものである。すなわち、両者を調製用薄層クロマトグラフィーで分離し、ガングリオシド3の場合と同様に分析した。ガングリオシド1は 8-O-メチルシアル酸を含んでいた。種々の分析実験の結果から、両者は、それぞれ、次の構造をもつと結論された。



脂肪酸および塩基の部分はガングリオシド3の場合と同様であった。

参考論文1~4はセタジミの中性スフィンゴ糖脂質およびイケチヨウガイ精子のグロボシドの単離および構造決定を扱ったものである。同5~16は貝類のスフィンゴリン脂質を、同17~22は上記脂質の代謝酵素の欠損症を、また、同23, 24はこれら脂質の新分析法を扱ったものである。

### 論文審査の結果の要旨

申請者は、参考論文の研究からもわかるように、下等生物のリン脂質・糖脂質の研究に関し多くの業績を挙げ、また、これに関して新しい分析法の開発を行っている。

主論文 I, II および III はイトマキヒトデの中性および酸性のスフィンゴ糖脂質の単離と構造決定を扱ったものである。本研究は精緻な実験を行った結果、これらの脂質は高等動物のものとは非常に異なる極めて特異的なものであることを明らかにした優れた研究である。まず、この研究はヒトデの中性スフィンゴ糖脂質から ceramide lactoside を証明し、また、その構成成分として iso-C<sub>16</sub>- および anteiso-C<sub>18</sub>- フィトスフィンゴシンの存在を最初に発見したものである。他種のヒトデのスフィンゴ糖脂質に関する海外の研究の一例はあるが、両者の組成はかなり異なることがこの研究により明らかにされた。また、酸性スフィンゴ糖脂質（ガングリオンド）の糖成分にアラビノースを発見した最初の研究であり、さらに、この研究はシアル酸残基が糖鎖の中間に組みこまれており、多くの高等動物から見出されているものとは全く異なる極めて特異的な脂質であることを証明した。特に、単離された 3 種のガングリオンドの一つのシアル酸は 8-O-メチル-N-グリコリルノイラミン酸であることがわかり、この化合物は申請者の研究以前には知られていない。

低分子性生体成分はほぼ研究し尽されたかのような印象を受けがちであるが、事実はこちらと異なり、今なお取り残されている一群の化合物がある。その一つが糖その他の成分を含んだ脂質である。複雑な構造をもつ場合が多く、非常に熟練した分析技術を以てしなければ、これを研究することは困難である。申請者はその専門家の一人であり、3編の主論文は脂質性化学の領域に貢献するところ大である。

参考論文の大部分も貝類の脂質に関する研究であり、立派な研究であるが、このほかに、これらの複雑な脂質の代謝に関する酵素の欠損症に関する研究およびこれらと関連して開発した分析法に関する研究もあり、申請者の研究領域を拡げている。

よって、本論文は理学博士の学位論文に値するものと認める。