

氏名	林 基 治 はやし もと はる
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	論 理 博 第 626 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 11 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	Monkey Brain Arylamidase.—Studies on Characteristics and Mode of Hydrolysis of Physiologically Active Peptides (サル脳アリルアミダーゼ — 性質と生理活性ペプチド分解機作に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教授 高橋健治 教授 大沢 濟 教授 日高敏隆

### 論 文 内 容 の 要 旨

哺乳類脳組織には種々のアミノ酸 $\beta$ -ナフチルアミドまたは $p$ -ニトロアニドを加水分解する酵素であるアリルアミダーゼの存在が知られている。本酵素はペプチダーゼ活性を持つとされており、脳における生理活性ペプチドの生成、分解との関連において興味深く、その研究の進展が望まれている。しかし本酵素に関する研究は従来少く、その性状や生理的役割についても極めて知見が乏しい。本論文はサル大脳より本酵素を大量精製する方法を検討し、精製酵素の分子的ならびに酵素的諸性質を詳細に解明するとともに、脳に存在する各種生理活性ペプチドへの作用の有無と作用機作を比較検索したものである。

まず申請者はニホンザル大脳より種々のクロマトグラフィー法を併用して純粋酵素を比較的大規模に調製する方法を確立し、これにより得られた酵素について種々の性状を明らかにした。アミノ酸組成分析、アミノ末端基分析等の結果から、本酵素はアラニンをアミノ末端基とする1本のポリペプチド鎖からなる酸性の単純タンパク質であることが明らかにされた。また活性のpH依存性の解析から最適pHは7付近であること、温度安定性の測定から比較的熱に不安定であり、40℃以上で徐々に不活性化すること、チオール酵素であり活性発現に活性化剤としてチオール化合物の共存を必要とすること、ベスタチンにより強力な競争的阻害を受けることなどの事実が明らかにされた。

また脳に存在する各種生理活性ペプチドに対する作用を比較した。その結果、エンケファリン、メチオニルリシルブラジキニン、アンギオテンシン、メラニン細胞刺激ホルモン放出抑制因子などには作用するが、アミノ基末端がピログルタミン酸である黄体形成ホルモン放出ホルモン、サイロトロピン放出ホルモンやアミノ基末端の次にプロリンを持つP物質やブラジキニンには作用しないことが見出された。これらペプチドの分解生成物の分析から、本酵素はペプチドのアミノ基末端から作用して遊離アミノ酸を逐次放出する1種のアミノペプチダーゼであることが明らかにされた。

これらの研究結果から、本酵素が脳において種々の生理活性ペプチドの生成、分解等に関する可能性が示され、またこの種の研究にベスタチンのような酵素阻害剤が有効に利用しうる可能性が指摘された。

参考論文2篇は、サル脳アシルアミダーゼの小規模精製と性状の一部解明に関するもの、およびサル胎盤オキシトシナーゼ（シスチンアミノペプチダーゼ）の精製と性質に関するものである。

### 論文審査の結果の要旨

哺乳類の脳組織にはアミノ酸の $\beta$ -ナフチルアミドや $p$ -ニトロアニリドを加水分解するアシルアミダーゼの存在が知られているが、その性状や生理的役割に関する知見は極めて乏しい。一方、脳にはペプチド性のホルモン、ホルモン放出因子、神経伝達物質をはじめ種々の生理活性ペプチドが存在しており、これらの物質の生成、分解とその調節機作の解明が強く望まれている。しかしこの分野の研究はまだ非常に遅れている実状にある。申請者は本アシルアミダーゼがペプチダーゼ作用を持つ点に着目し、これら生理活性ペプチドへの作用の有無や作用様式の比較検索を通じて本酵素の生理的意義の解明を意欲的に試みており、従来このような見地からの研究例がないことから本研究は高く評価される。

申請者はまずサル大脳から本酵素を比較的大規模に精製する方法を確立し、精製酵素について分子的ならびに酵素的諸性状を解明し、本酵素の分子の実体と酵素的特性に関する種々の評価すべき新知見を得た。

申請者はさらに、脳に存在する各種生理活性ペプチドに対する本酵素の作用の有無と作用様式を初めて比較検索した。この結果エンケファリン、メチオニルリシルブラジキニン、アンギオテンシン、メラニン細胞刺激ホルモン放出抑制因子などによく作用を受けるものと、黄体形成ホルモン放出ホルモン、サイロトロピン放出ホルモン、P物質、ブラジキニンのように作用を受けないものがあることを見出し、その差異の原因をペプチドの化学構造と酵素の基質特異性に基づいて明らかにした。また分解生成物の分析、同定を注意深く行い、本酵素がペプチドのアミノ酸末端から逐次遊離アミノ酸を放出するアミノペプチダーゼの1種であることを明らかにした。これらの結果はいずれも新知見として評価される。

以上本論文はサル脳アシルアミダーゼの精製法を確立し、諸性状を解明するとともに、脳内生理活性ペプチド類に対する作用機作を初めて明らかにし、本酵素が脳組織においてこれらのペプチドの分解に関与する可能性を具体的に示したものである。脳における本酵素の生理的意義の解明への新しい研究の方向を示すものとして有意義な結果であり、また脳内生理活性ペプチドの生成、分解機構解明への酵素レベルの研究としてその貢献度は高いものと考えられる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。