

氏 名	山 本 尚 三 やま もと しょう ぞう
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 350 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 23 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 Tryptophan Cleaving Enzyme of Rabbit Small Intestine (兎小腸のトリプトファン開裂酵素に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 早 石 修 教 授 山 田 肇 教 授 島 本 暉 朗

論 文 内 容 の 要 旨

家兎に D-トリプトファンを経口的に投与すると尿中に D-キヌレニンが排出されることは、古くから知られている。一般に D-トリプトファンは L 体に転換した後に生体に利用されることが知られているが、上の知見は、これとは別に、D-トリプトファンの直接の酸化的開裂に始まる代謝経路の存在を示唆する。この事実にもとづき、最近著者の教室において、家兎小腸に D-トリプトファンを酸化的に開裂する酵素の存在することが見出されたが、その詳細については未知の点が多い。

著者は、本酵素の一般的性質を明らかにし反応機構を解明するために、酵素を高度に精製し、それがヘム蛋白であることを明らかにし、さらにその反応に関連した諸性質について多くの知見を得た。

家兎小腸より抽出した粗酵素を、硫酸分画、P-セルローズカラムクロマトグラフィー、燐酸カルシウムゲル吸着、DEAE-セファデックスカラムクロマトグラフィーの諸段階で約 100 倍精製した結果、比活性 $0.23 \mu \text{mole/min/mg}$ 蛋白 (37°) の標品が得られた。

粗酵素を D-トリプトファンに作用させて得られた反応生成物は、紫外吸収曲線でキヌレニンと一致し、ペーパークロマトグラフィー、旋光分散、酵素の特異性による方法で、D-キヌレニンであることが明らかにされた。精製酵素では、ホルミルキヌレニンが蓄積し、それは家兎小腸の加水分解酵素の作用で D-キヌレニンとなる。精製標品には、トリプトファン及びキヌレニンのラセマーゼ活性は認められない。

精製酵素は、D-トリプトファンを基質とするのみならず、L 体をも分解し、その場合には、L-キヌレニンが生じる。D 体では正常の濃度曲線が得られるが L 体ではその高濃度で反応が阻害される。反応の至適 pH は、D 体で 7.5、L 体では 6.5 である。L 体は D 体の分解を阻害するが、D 体は L 体の分解に影響しない。両活性の安定性の至適 pH は一致して 6.5 である。さらに、反応にはメチレン青とアスコルビン酸が必要で、この要求性は L-トリプトファンを基質とした場合にも認められる。

精製酵素は $406 \text{ m}\mu$ に Soret 帯をもつヘムの吸収を示し、その吸収と酵素活性が一致すること、酸性硫酸処理標品のヘマチン要求性、一酸化炭素での反応阻害と光照射による活性の回復等の実験事実にもと

づき、本酵素がヘム蛋白であることが証明された。反応機構解明のために、ヘムの吸収曲線の変化を調べた結果メチレン青とアスコルビン酸の存在下に酵素に D-トリプトファンを添加しても Soret 帯の変化は認められない。さらに一酸化炭素を添加すると Soret 帯は $421\text{ m}\mu$ へ移行するが、この移行速度は D-トリプトファンの存在に依存する。一方、酵素に L-トリプトファンを添加するのみで Soret 帯は $409\text{ m}\mu$ へ移行する。このように本酵素のヘムの吸収は、トリプトファンの分解反応に密接に関連して変化する。

以上の如く、高等動物における D-トリプトファンの代謝に、本酵素が重要な役割を果して居ることが明らかになった。また、肝臓及び緑膿菌のトリプトファンピロラーゼと比較して考察すると、本酵素は、阻害剤に対する態度、補酵素の要求性、吸収曲線の変化等の諸点で、特異な性質を示し、酸素添加反応によるトリプトファンの分解機構の解明に種々の手がかりを与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

1937年、古武および伊藤の報告以来、家兎に D-トリプトファンを経口的に投与すると尿中に D-キヌレニンを排出することが知られている。しかしながらトリプトファンからキヌレニンをつくる酵素、すなわちトリプトファンピロラーゼは、L-トリプトファンのみに作用する酵素であるので、D-キヌレニンの起源に関してはじゅうらいまったく不明であった。

著者は、家兎の小腸から D-トリプトファンを酸化的に開裂して D-フォルミルキヌレニンをつくる酵素を抽出し、高度に精製した酵素標品を得ることに成功した。精製酵素は基質として D-トリプトファンのみならず L 体をも分解し、その場合 L-キヌレニンをつくる。また精製酵素は多くの実験事実からヘム蛋白であることが明らかにされた。

以上の研究は同じくヘム蛋白である肝臓のトリプトファンピロラーゼと比較研究することにより、トリプトファンの酸化的核開裂の機構に関して多くの新知見を提供し、また高等動物における D-トリプトファンの代謝の解明に貢献したものであり、医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。