

PRF

蛋白質研究奨励会ペプチド研究所報 Vol. 3 No. 1 1976. 10.

続インシュリン物語

大阪大学蛋白研教授 中川八郎

岩波書店から刊行されている「インシュリン物語」（二宮陸雄訳）の中で、著者G. レンシャルらはインシュリンの発見が如何に多くの糖尿病患者の生命を救ったかを感動的に語っています。また、物語全体の構成力の印象の強さに対比して見失われがちですが、各論にみられる糖尿病との闘いの歴史、インシュリンの作用機構の解析等にも、平易な文章の中に、著者達の歴史家、科学者としての冷徹な洞察力がうかがわれ、思わず襟を正さざるを得ない思いがします。

原本の“The Story of Insulin”は1962年インシュリン発見40周年を記念して書かれたもので、それ以来15年近く経過していますから、研究の進歩の激しい昨今では、その後の足跡をうめる必要が痛感されます。しかし、たとえ時代の要求に応じられないとして改訂されたとしても原著の価値は全く失われない程の名著でありますので、この拙文の表題をその続編を意図したものであると受け取られると筆者の常識が疑われそうです。

筆者は糖新生（種々の前駆体物質からのブドウ糖の合成 肝臓と腎臓でのみおこなわれるが、ブドウ糖を唯一のエネルギー源とする脳の機能維持に重要な役割を果たしている。「肝腎かなめ」は経験的にこの事実を言い当てたのかもしれない）の調節機構の研究を専門としておりますが、これに日周リズムがあることを見出して以来、詳細に分析すればする程この現象が摂食行動の動機と密接に関係することに気がきました。そこでこれを指標とすれば摂食行動の動機が分子レベルで解明できるのではないかと大それたことを考え始めました。ところが、この問題について内外の文献を獵渉しますと摂食行動の動機が種々の点でインシュリン作用とからみ合っているらしいので、この機会にわれわれの生存にとってもっとも基本的な「食べる」仕組みをインシュリン作用の立場か

ら掘り下げてみようと思いついたのです。したがって、筆者の意図は「インシュリン物語」に書かれていない部分を補う意味ではなく、別の観点からこのホルモン作用の重要性を改めて強調したいために表題をかの名著にあやかっただと受け取っていただきたいと思います。

空腹感は胃の収縮（飢餓収縮）によりおこると信じられてきました。しかし、胃潰瘍等の理由で胃の切除術を受けた人でも空腹感を催しますので、この原因が探し求められてきました。ところが、食欲異常症と視床下部の腫瘍との間に相関関係があることが示唆されて以来、空腹感は視床下部のある部分の興奮によることが次第に明るみにできました。

視床下部と呼ばれるこの脳の中の小さな場所は脳下垂体後葉ホルモンを分泌するばかりでなく、前葉、中葉ホルモンの分泌を調節するホルモン（TRF等）の産生場所としても注目されています。しかし、ここはまた性本能、攻撃本能等の本能行動の中樞が局在する重要なところでもあります。

摂食行動について言えば、視床下部の腹内側核（ventromedial hypothalamus, VMHと略す）に飽食中枢（満腹中枢とも呼ぶ）、外側核（lateral hypothalamus, LHと略す）に摂食中枢が局在することが米国の生理学者を中心として明らかにされてきました。また、それぞれの中樞を興奮せしめる化学機構についても幾つかの説が提出されています。その一つに糖定常説（glucostat theory）があります。他に脂肪定常説（lipostat theory）、温度定常説（thermostat theory）があり、それぞれ捨て難い特徴をもっていますが、糖定常説の方が判り易いので、この説を拠り所として話を更にすすめてゆくこととします。

VMHにはブドー糖の濃度を監視する細胞（糖受容細胞）があります。ブドー糖と構造がよく似たgoldthiogluucoseをマウスに投与すると、半分位は死にますが、生き残ったものは例外なく肥満してきます。また、肥満動物の脳を解剖すると、これも例外なくVMHが破壊されています。種々のブドー糖の代謝産物に対してgoldthio誘導体を合成して動物に投与しても、このような現象は認められません。これらの現象はVMHの糖受容細胞にブドー糖を特異的に取込む性質があり、それがたまたま構造類似のブドー糖誘導体を取り入れた結果、細胞破壊を招いたと解釈できます。この細胞はもともと興奮すれば満腹するのですから、破壊されると満腹感が消失し、その結果、大量に食物を摂取して肥満するようになります。一方、ブドー糖を脳内に注射すると、この部分に電氣的興奮現象を誘発します。これらの二つの事実を考え合わせると、糖受容細胞が血糖の増加を感知した結果飽食中枢が興奮することになります。しかし、実際はこんな簡単な機構でVMHが興奮しているわけではありません。たとえば、この説をそのまま鵜呑みにすると、血糖が異常に高い糖尿病ではVMHが常に興奮して食物をとらないことになりますが、糖尿病のもう一つの特徴は多食でありますので矛盾します。

しかし、末梢の動脈と静脈におけるブドー糖の濃度差を測定すると、満腹感を味わっている時は必ずその差が大きいことが後に判ってきました。換言すると、組織におけるブドー糖の利用度が高い時満腹感を覚えるのです。この事実はVMHの糖受容細胞におけるブドー糖の利用度の高まりがこの細胞の興奮を誘発することを示唆しています。糖尿病は血糖は高いのですが、組織におけるブドー糖の利用が低下していますので、VMHでも同様の現象がおこっているとすると、VMHの興奮は低下し、摂食中枢の興奮が相対的に優位になるので、糖尿病患者が過食をしても不思議ではありません。



筆者近影

ブドー糖の利用度の増加が満腹感、利用度の低下が食欲を催せしめるとすると、ブドー糖の利用を調節しているインシュリンがこの機構に介在することは極めて理にかなっております。糖尿病マウスに goldthioglucose を注射しても肥満はおこりませんが、予め脳内にインシュリンを注射しておくことと肥満となることを示した実験はこの関係を裏付けているように思えます。

しかし、インシュリンとVMHの興奮を直接結びつけるには未だいくつかのギャップを埋めなければなりません。すなわち、食物をとるとインシュリンが分泌するのだろうか、また、脳には脳血液関門があって種々の有害物質の通過を制限しているのかかわらずインシュリンは果たして視床下部に達するのだろうか、更に、インシュリンがVMHに到達するとしても糖受容細胞のブドー糖の利用度を高めることが満腹感を催せしめるのか、あるいは、インシュリンが細胞に結合することが飽食の契機となるかといった問題の解決であります。

食物をとる毎にインシュリンが動員されることは今や明白となっています。その機構には消化管ホルモンが介在する事実もつきとめられています。この研究成果にはペプチドホルモンの radioimmunoassay 法の開発が大きな貢献をしています。その結果をまとめると次のようになります。糖類を摂取すると消化管から enteroglucagon の分泌が促されます。これが膵臓の β 細胞に働いてインシュリンを動員するとともに、他方では膵臓のグリコーゲンの分解を促進し血糖を増加せしめるが、これもインシュリン分泌の契機となります。蛋白質を摂取してもインシュリンの分泌は増加します。これにはpancreozymin-cholecystikinin が媒介していると考えられます。また、どのような種類の食物をとっても gastrin が分泌され、それに継起する secretin の分泌もインシュリン動員の要員となります。

¹²⁵Iで標識したインシュリンを動物の腹腔に注射すると、その放射能はVMHに存在

する oligodendrocyte と呼ばれる細胞に到達することも autoradiography によって確認されています。

第三の問いに答える直接的な証拠は今のところ存在しませんが、VMH にインシュリンに特異的な受容体があり、これとインシュリンが結合するだけで末梢の血管のブドウ糖濃度が低下することが知られています。この場合、2-deoxyglucose のようなブドウ糖の利用を妨害する物質をインシュリンと同時に脳に注射しても末梢血管のブドウ糖の利用は抑制されませんので上述のような結論が引き出されたのですが、これから考えると糖受容細胞にインシュリンが結合するだけで満腹感を味わう原因となる可能性は大きいと思えます。

ところが、分泌されたインシュリンが意外に早く数分のオーダーで VMH に到達し、その効果を発揮しますので、これでは食べ始めた直後に満腹することになります。それでは一体どのような機構で体が要求する食物量をとるよう調節しているのでしょうか。これには未だこれと言った決め手がありません。

摂食の動機の分子機構となると飽食機構ほど解析がすすんでいるわけではありません。一説によりますと、VMH と LH との間に線維連絡があり、常に VMH から LH に抑制的インパルスが送られていますので、VMH の興奮が静まると LH が興奮を開始するのです。しかし、糖の代謝に関して常にインシュリンの反対情報を荷なっているグルカゴンが重要な役割を果たす可能性も十分存在しています。

筆者らは、肝臓における糖新生能の日周リズムの最大値が常に動物の摂食開始時刻の直前に認められることや、日周リズムによる糖新生能の増加がブドウ糖の胃内投与、あるいはインシュリン注射により抑制されることを観察していますので、これらの実験成績を踏み台として研究をすすめれば摂食にまつわる未解決の問題の解答も得られるのではないかと夢んでいます。

肥満の話がでましたついでにこれに関する最近話題となっている夜食症候群をとりあげしめくりとしましょう。これは、朝、昼食をほとんどとらず、夕食に一日分を食べる習慣をもった日本でもよくある猛烈社員型の人々の間にみられる肥満症を意味します。このようなパターンの食事をとると肥満することは、ヒトについても動物についても実験的に確かめられています。更に、上述のような dinner only 群だけでなく、breakfast only 群についても同様の実験をおこなうと、奇妙なことに代って体重の減少が観察されました。通常インシュリンとグルカゴンは摂食行動をはさんで相反的な分泌挙動を示しますが、breakfast only 群ではインシュリンとグルカゴンが同時に分泌される為、作用が相殺されることも確かめられました。

インシュリン、グルカゴンの分泌は、また、視床下部を中枢とする自律神経の支配を受けますので、三度の食事が VMH と LH の交互の興奮の結果であるとしても、脳の中で定着したこの摂食リズムの攪乱は恐らく視床下部の機能に重大な影響を与え体重の増減を来すと思われる。このような点から考えてみましても摂食行動の中枢とホルモンの機能的な関連に関する研究の重要性は増すばかりです。

蛋白研メモ

蛋白研セミナー

i) 11月までに予定されるセミナー

題 目	開催日	担 当 者	担 当 部 門
蛋白質のシステイン及びシスチンに関するセミナー	11.8~11.9	浜口浩三・松原 央	化学 構造

ii) “蛋白質のシステイン及びシスチンに関するセミナー” プログラム

11月8日 (13時より)

- ・蛋白質のSH基及びS-S結合の化学的研究法 小谷昌司 (新潟大医)
- ・蛋白質のSH基の化学修飾 和田敬四郎 (阪大理)
- ・蛋白質のS-S結合の研究法 菅田 宏 (阪大蛋白研)
- ・蛋白質のSH基のポラログラフィー 千田 貢 (京大農)
- ・モデル物質におけるSH基 杉浦幸雄 (京大薬)
- ・S-S交換酵素 大村恒雄 (九大理)

11月9日 (10時より)

- ・ヘム蛋白とSH基 折井 豊 (阪大理)
- ・ヘム蛋白のチオエーテル結合形成 佐野晴洋 (京大医)
- ・免疫グロブリンの構造形成 東 隆親 (阪大理)
- ・触媒残基としての酵素のSH基 村地 孝 (京大医)
- ・カルボキシペプチダーゼYのSH基 林 力丸 (京大食研)
- ・SH基とアフィニティークロマトグラフィー 千畑一郎 土佐哲也 (田辺製薬)

“Fourteenth European Peptide Symposium” Program

Wepion, Belgium, 11-17 April, 1976

Structural characteristics of highly reactive pentapeptidase esters.	L. Kisfaludy Odense Richter	Improvements in the solid phase synthesis of large peptides.	J. Stewart University of Colorado
Radioisotopic analysis of acyl transferase.	J. Peboz University of California	Solid phase peptide synthesis on polymeric supports.	F. Steppart IGC Molecular Biology
Observations on P ²³² mediated coupling reactions.	M. Brewster Universität, Basel	Synthetic studies with sequence [1-17] of angiotensin. Fragment condensation solid phase synthesis and the use of protection for side-chain protection of arginine residues.	S. Cubie ICI Pharma, Centre de Recherches
Synthesis of biologically active cyclic peptides and hexapeptides by the phorbate method.	M. Roth Universität, Gie	Achievements, limits and prospects of the conformational analysis of peptide systems.	F. De Santis Università di Roma
Neurotensin-pyridylidenehistidylhistidylphenylalanine (NPH) : a new peptide coupling reagent.	B. Castro Université de Nancy	The molecular and functional evolution of zipostrictin hormones in the light of their structural relationships.	G. Maklin-Bogdaner Regia, Universitat de Saragosa
Use of high pressure liquid chromatography in the purification of peptides.	J. Burzay GSK Institute, San Diego	Conformation-function relations of Angiotensin II and analogs.	E. Fernandez ICS Sevilla, Gif-sur-Yvette
Synthesis of peptides containing tertiary amine residues.	J. Flugtak Academy of Sciences of Czechoslovakia	Structure and biological activity of analogs carrying non-homocysteine acids.	G. Chipone Academy Sciences Latvian
Application and comparison of rapid methods for preparing biologically active peptides.	B. Fekke Attila University, Szeged	Alpha methyl amino acids in peptide chemistry.	G. Marshall Washington University
Experiments on the direct exchange reamination of compounds related to benzylsuccinyl-D-benzyl-L-cysteine pentachlorophenyl ester.	J. Jones University of Oxford	Structural requirements for stimulation or blockade of the growth and adrenergic-releasing effects of angiotensin II.	M. Khosh Cleveland Clinic Foundation
New active analogs in the synthesis of cyclic and peptide bonds.	E. Tauscher Technical University, Osnabrück	Relationship between angiotensin conformation and melior translocation effects in smooth muscle.	A. Peiva Escola Paulista de Medicina
Synthesis and catalytic properties of peptides with hydrolytic activity.	F. Schneider Physiolog. Chem. Inst., Marburg	Penicillin-transpeptidase interaction.	J.-M. Pflzer
1-acylated- β -amyloligomeric salts: water-soluble reagents for the modification of anticancer and peptides.	M. Wakelam CNRS, Université de Paris Sud, Orsay	Protein binding of a melanotropin. Studies on the relationship between binding, structure and biological activity.	E. Medvedevsky SibGU University
New procedures for the chemical modification of tryptophan and sulfur amino acids in peptides and proteins.	A. Fontana University of Padova	Acylated pentapeptides of aldolase and substance P, suitable objects for structure response analysis characterizing between affinity and intrinsic efficiency.	E. Hiebrich Akademie der Wissenschaften
The synthesis of amino acids derivatives and peptides containing N α -dimethylamino and N α ,N α -trimethylamino groups.	L. Boudinon University of Ottawa	Specific binding and ability of overleins to activate adenylyl cyclase and inhibit cAMP, and to increase GMP levels and hydrolyse secretin in the nervous system. Structure-activity relationships.	J. Christophe Université Libre de Bruxelles
Total synthesis of the entirely protected Ouf ₁ and ₂ sequences of the anti-inflammatory MCP peptide from bee venom.	C. Berr Max Planck Inst. for Medical Research	Hypophysiotropic hormones: review on the design of synthetic analogs.	J. Rivier Salk Institute
New Methods for Peptide Synthesis with Organometallic Reagents and Intermediates.	I. Ugi Technische Universität München	The disposition of hormonal and CRM effects in analogs of CRM.	D. Vohar Merck, Darmstadt
Synthetic studies of α -hydroxyacids.	V. Tsvetkov Sotsepbank Institute	Studies on LHRH: metabolite P ₁ and lactaric modifications.	M. Easdale Royal Postgraduate Medical School
Synthetic peptide related to the C terminal sequence 66-104 of bovine cytochrome C.	P. Marchetti University of Padova	Structural studies on circulating hormone-releasing hormone.	D. Coy Tulane University
Attempts to synthesize α^1 -ketoesteroid-immunoreactive.	L. Kisfaludy Odense Richter	Analysis of somatostatin.	E. Imort Agest Research Laboratories
Studies in the synthesis of 1-17 fragment of a 1-20-1200 analog.	G. Kanner University of Liverpool		

Structural aspects of interaction of the vasopressin molecule with receptors in the renal tubule, vascular and uterine smooth muscle and the vascular endothelium.

Antagonists of neurohypophysial hormones.

Neuroendocrine experiments in the vasopressin series.
14C and 3H studies of the binding of selectively 14C acetylated vasopressin to bovine neurohypophysin II.

J. Curt Czechoslovak Academy of Sciences

T. North Czechoslovak Academy of Sciences

M. Sauer Czechoslovak Academy of Sciences

C. Di Bello CNR, Chiusa Sanmichele

Asparagine

Antibacterial activity of modified peptides containing cysteine/threonine.

Synthesis of the skeleton of the urokinase.

Naturally occurring sequences with urokinase activity.

Synthesis, structure-activity relationships and immunological properties of urokinase and some analogs.

J. Marley ICI Harrogate

P. Altmeyer Chem. Technol. Institute

T. Wieland Max-Planck Institute

D. Knapkowska Wrocław University

M. Fridkin The Weizmann Institute of Science

Poster Session Program

The effect of broadside on adequate cytosine activity in different organs.

Lipopeptide C-fragment: a peptide with potent opiate like activity.

Regioselective synthesis of N-acetyl-D-tryptophan.

Neurochemistry of cyclic peptides.

Synthesis and conformational analysis of the heptapeptide Lys-Pro-His-Gln-Pro-Tyr and the related octapeptide His-His-His.

Synthesis and conformation of block oligopeptides.

An unusual peptide structure: the intermolecular hydrogen-bonded parallel β -conformation.

Cis-trans isomerism of N-acetyl derivatives of proline and its analogues. The preparation of a linear oligopeptide with exclusively *cis* peptide bond.

Cyclic L-lysine-peptides: synthesis and conformational properties.

13C investigations on valine-rich modelling oligopeptides.

Regioselective identification of model dipeptide molecule.

Synthesis and conformational study of 14C and 3H modified tetrapeptides.

Conformational features of AcTyr111.

Three dimensional structure of Angiotensin II.

Synthesis and some pharmacological properties of [D-tyrosine, D-asparagine]-oxytocin: a thioamide ring mimicking oxytocin.

The conformational structure of some prokaryotic hormones (B-PP): conformational studies of synthetic fragments by means of nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.

Comparative *in vitro* biological activity of 1-26 synthetic fragments of human parathyroid hormone on bovine and rat kidney receptors.

Synthesis de la tyrosine.

K. Auld

A. Bruckner, B. Duth and C. Dell

K. Legley

B. Likens, M. Schwan, A. Krowiec and A. Marcinowska M. Kowalska

J. Brisson, J.-M. Desnoy, C. Deslaurier, J.-L. De Dier, M. Van Houten, M. Eusemann and C. Van Zant

F. Weyer, S. Egan, F. Gschubert and Ph. Walz

C. Tschüls, G.M. Bremer, H. Fahlke and E.H. Tynn

J. Szarka

J.-L. Fauchère, R. Mutsaers-Kroon and S. Schepfer

G. Kussner, H. Harwood and J. Sew

M. Chung, H. Harwood and J. Sew

E. Jan-Back, P. Tom, L. Ferenkiewicz, F. Frensdorff and A. Larfer

F. Tume, D. Greff, S. Ferenkiewicz, M. Liu and L. Haffelberg

E. Salakiewicz, D. Kalfonitich, M. Zanderowicz, C. Chlupczak and K. Weger

D. Theodoropoulos, M. Laskopoulos, C. Smith and B. Walter

R. Andruszka, A. Bacht, W. Hittal and K. Wiskuric

F. Riville, C. Baker, J. Muel, Ch. Guebert, M. Roubert and S. Hilairet

J. Harrison and F. Wintermantel

Synthesis of human big gastrin I.

Synthesis and properties of new homologues of the vasopressin series.

Thioether and α , β -unsaturated amino acids in peptide synthesis and biology.

Solid phase synthesis and determination of woodoligomers high molecular weight oligopeptides.

Stereochemistry and taste: the sweetness of aspartame.

Isolation and characterization of side-products from the synthesis of 1-D-threo-5-D-lysine (D-threo-5-D-lysine).

Chromogenic substrates based on the primary structure of prothrombin especially intended for the determination of Factor X activity.

Synthesis of the tetrapeptide calcium-binding part of carp parvalbumin.

Synthesis of glycinolactams and spirulactams.

Crystallization of solid phase derived amide-peptides (X-lysine).

Specific cleavage of peptides at serine residues and mass spectrometric identification of the cleavage products.

D-lysine-oligopeptides from D-lysine-oligopeptides.

A new protecting group for cysteine and histidine.

L-lysine-D-lysine derivatives as activated esters in peptide synthesis.

Preparation and application of D-substituted amino acids D-carboxyoligopeptides.

Comparative study of the three-dimensional structure of an octapeptide derivative of the insulin molecule.

[N1-D-tyrosine-L-tyrosine] insulin.

Synthesis, confirmation and biological activities of the heptapeptide intermediates of the proinsulin-insulin conversion.

Synthetic fragments of human proinsulin.

New derivatives for semisynthesis at the C-terminus of insulin B-chain.

C. Gerner, H. Frensdorff and Y. Wiskuric

L. Fintan, J. Savelov, G. Arctina, V. Drenov and F. Tschüls

E. Gross

E. Rotta, J. Muzarek and H. Rutt

F. Ley, T. Frensdorff, F. Temezi and F. Tschüls

M. Fliegel and M. Sauer

I. Kuvshinov, D. Glesner, C. Karpman and A. Clausen

T. Kulin, V. Sepulveda and E. Masthor

B. de Castellanos and F. Angelilli

M. Fintan, E. Fintan, C. Di Bello and I. Chikan

E. Rubin and K. Bruchman

A. Chikan and T. Kuzak

S. Cyle and C. Young

M. Gubner, M. Vincenzini, P. Gualini and F. Giori

T. Christman, J. Balazs, K. Kovacs, P. Villmos and H. Bruchman

C. Frensdorff-Szilke

V. Tark, F. Hubert and R. Seiger

J. Marzinek

H. Berruti, J. Fintan, V. Kulin, E. Kuzak and E. Schlegel

E. Gattner, E. Schmitt and E. Dahn

最近の話題

甘味蛋白質 monellin の性質と構造

アフリカ産の熱帯植物より単離精製された monellin は低分子量 (M. W. 11000) の甘味蛋白質であり、糖および脂肪酸を含んでおらず、システイン、メチオニン、トリプトファンを各一残基含むことが報告されている。又、その高次構造については同程度の分子量を持つ 2 種の subunit からなることが予想されていた。

Bohak¹⁾ は、尿素と SDS を加えた蛋白質変性条件下でゲル電気泳動を行ない、この蛋白質が、subunit I とシステイン残基を持つ subunit II からなり、これらが互いに強い非共有結合で結ばれていることを確認した。同時に subunit II のみに遊離の SH 基が含まれていることに着目し、有機水銀を含むアガロース樹脂により分離精製し甘味と構造との関連について次のことを明らかにした。

- i) それぞれの subunit は甘味を示さないが、両者を混合すると徐々に甘味を回復する。
 - ii) SH 基を修飾すると甘味がなくなる。
 - iii) CN Br を作用させると甘味がなくなる。
- さらに、2 種の subunit のアミノ酸配列の決定を自動エドマン法により試みたが完全に決定するには至らなかった。

一方、Frank²⁾ もこの蛋白質の研究を続けているが、最近 CN Br 処理した monellin をゲル泳動で分離すると、subunit I および II から由来する 2 個のフラグメントに分離精製できることを見出し、以下に示す monellin のアミノ酸配列を決定した。

subunit I (アミノ酸 44 残基)
Arg-Glu-Ile-Lys-Gly-Tyr-Glu-Tyr-Gln-Leu-Tyr-Val-Tyr-Ala-Ser-Asp-Lys-Leu-

Phe-Arg-Ala-Asp-Ile-Ser-Glu-Asp-Tyr-Lys-Thr-Arg-Gly-Arg-Lys-Leu-Leu-Arg-Phe-Asn-Gly-Pro-Val-Pro-Pro-Pro subunit II (アミノ酸50残基)

Gly-Glu-Trp-Glu-Ile-Ile-Asp-Ile-Gly-Pro-Phe-Thr-Gln-Asn-Leu-Gly-Lys-Phe-Ala-Val-Asp-Glu-Glu-Asn-Lys-Ile-Gly-Gln-Tyr-Gly-Arg-Leu-Thr-Phe-Asn-Lys-Val-Ile-Arg-Pro-Cys-Met-Lys-Lys-Thr-Ile-Tyr-Glu-Asn-Glu

蛋白質と味との関係を分子化学的に解明しようとするアプローチの一例として興味深い。
(奨励会ペプチド研 岸田保雄)

- 1) Zvi Bohak and Shoei-Lung Li, *Biochim. Biophys. Acta*, **427**, 153(1976).
- 2) G. Frank and H. Zuber, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **357**, 585(1976).

Substance P と鎮痛作用

Substance P は最近まで知覚刺激の伝達物質 (Transmitter) ではなからうかと推定されてきた。しかし、本論文は Stewart らが化学的に合成した純粋な物質を用い、痛覚の伝達物質としてよりはむしろ中枢に作用してモルフィン様の働きをすることを示した。¹⁾ これまでの生体試料より調製された substance P には bradykinin やその他のものが混在している恐れがあり、再検討の必要があると著者らは述べている。即ち、不純な substance P はモルフィンと拮抗する作用を示すが、合成 substance P はモルフィンの代用となる。実験法としてはマウスの脳内に substance P を注入し hot plate analgesiometer による反応時間の遅延をもって痛覚の麻痺作用を測定している。そして、substance P はモルフィン様作用を示し、共に naloxone で拮抗されることを明確に示している。このような作用は最近 enkephalin について報じられているものに似ているが、enkephalin の場合は脳内注入が必要であるのに対して、substance P は腹腔内注入でも麻痺作用を示すという興味ある結果を報じている。また、人の前腕にカンタリジンで作った水疱の痂皮をはぎとり直接的に痛覚刺激をも調べているが、アセチルコリンや bradykinin が強く痛覚をひきおこすのに対し合成 substance P は何ら痛覚作用を示さないことも明らかにしており、今後の進展に注目の必要があらう。(阪大医 和田 博)

- 1) J. M. Stewart *et al.*, *Nature*, **262**, 784(1976).

トリプトファン残基をもつペプチドのホルムアルデヒド処理による検出

ホルムアルデヒド処理によって生じる物質の蛍光により、カテコールアミン、インドールアミンおよびそれらの前駆体を検出する方法は古くから知られている。最近、Larsson らはこの方法をトリプトファン残基を持つペプチドの検出に応用した。¹⁾

彼らは、チロジン、ヒスチジン、トリプトファン、インドール酢酸、N 末端トリプトファンのペプチド、C 末端トリプトファンのペプチド、中間にトリプトファン残基を持つペプチド、glucagon thyreoglobulin などをシリカゲルの薄層プレートおよびクロマト用口紙上にスポットし、検出試薬として、i)ホルムアルデヒドガス、ii)ホルムアルデヒドガス+オゾン、iii)ホルムアルデヒドガス+塩酸を用いて処理し、反応の特異性、検出感度、生成物の蛍光の性質について調べている。その結果、iii) による処理では、トリプトファン、インドール酢酸、トリプトファン残基を持ったペプチドのみに強い蛍光がみられ、反応がインドール核に起因することが認められた。最小検出限界は 0.03 μg であり、シリカゲル薄層より口紙の方が感度がよく、又、蛍光のスペクトルの性質は特徴的であり他の化合物のものと識別できることがわかった。この反応はトリプトファン残基を持つペプチドの追跡に広く利用されることであらう。
(奨励会ペプチド研 高谷隆夫)

- 1) L.-I. Larsson, F. Sundler and R. Håkanson, *J. Chromatogr.*, **117**, 355(1976).

歯の蛋白質中のアスパラギン酸残基のラセミ化と年令との関係

以前 Helfman らは化石中に含まれるアミノ酸のラセミ化度を測定すればその地質学的年代を推定しうることを見出したが、今回彼らは同じ手法を生きた温血動物に適用し、生涯代謝されることのない蛋白質中のアスパラギン酸の D 化度を測定すればその動物の年令を推定しうること明らかにした。一旦生合成されれば生涯代謝されることのない蛋白質源として採取容易な歯に着目し、各年代のヒトの歯を採集し、最初エナメル質中の蛋白質を用いて一応の成果を得た。¹⁾ しかし、エナメル質は齶歯その他の病変の影響を受けやすく、良

好なサンプルを集めにくい後には象牙質のみを集めて定量する方法に切り換えた。²⁾

11才から75才までのヒトの歯の象牙質のみを注意して集め、一定条件下で加水分解し、分解液中に含まれるD-アスパラギン酸をManningの方法にて定量したところ、体温の個体差(36.9±0.7℃)を補正すれば $\ln[1+(D/L)]$ 値と年齢との間に直線関係が存在し、体温37℃の場合のD化度は60年間に6%に達することが判明した。この実験結果は逆に歯の象牙質の蛋白質がほとんど代謝されないことに対する確認を与えたことにもなる。

この研究の結果得られた実験式を用いれば、ソビエト、ジョージア地方などの長寿地域に住む人の実際の年齢を確認することもできるわけで、著者らはそれらのサンプルの入手を待ち望んでいる。(奨励会ペプチド研 森川忠則)

- 1) P. M. Helfman and J. L. Bada, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **72**, 2891(1975).
- 2) P. M. Helfman and J. L. Bada, *Nature*, **262**, 279(1976).

ブタインシュリンを原料にしたヒトインシュリンの新合成法

ヒトインシュリンの化学合成はすでに報告されてはいるが、治療用として供給可能なほど大量に合成するには今だ未解決な問題が多く残されてい

る。そこで Chinese グループや Ruttenberg らはブタとヒトのインシュリンの差違がAla^{B30}とThr^{B30}だけであることに着目し、ブタインシュリンのCOOH基をメチルエステル化し、ついでトリプシン分解、Boc化により得られるフラグメントを用いてヒトインシュリンの合成を行なった。しかしながら、アルカリによる脱エステルの際に生じる副反応物が除去し難いことから、GeigerらはCO-OHを保護しないでヒトインシュリンを合成する方法を試みた。¹⁾彼らはブタインシュリンのBoc化、トリプシン分解で調達したN^αAl, N^αB¹-di-Boc-desooctapeptide (B23-30) insulinを、予め合成した保護 octapeptide (Human B23-30)と DCC/HOBtで反応させた結果、Arg^{B22}での縮合が他のCOOH基に比し優先的に起こることを見出した。このようにして得られた粗生成物をTFA処理し、分配クロマト、イオン交換クロマトで精製して高純度のヒトインシュリンを合成することに成功し、生理学的な研究用として十分な量を提供することを可能とした。数個のCOOH基のうち1個だけが優先的に縮合に関与するという事実は合成の立場から極めて興味ある現象である。

(奨励会ペプチド研 岸田保雄)

- 1) R. Obermeier and R. Geiger, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **357**, 759(1976).

PRF · NEWS

お待たせいたしました

新カタログ、1976—1977年版をお届けいたします。話題の新生活活性ペプチド類も豊富に取りそろえました。皆様のご利用をお待ちしております。

米国Beckman社、Peninsula Laboratories社では複雑なペプチドを固相法にて合成し販売しております。今回その主なものを輸入販売することになりました。詳細は別紙をご覧ください。

PRF

Vol. 3 No. 1 1976. 10

編集発行 財団法人 蛋白質研究奨励会

〒562 大阪府箕面市稲476 TEL(0727)29-4121