

脳 の 遊 離 ア ミ ノ 酸 に つ い て

(X)

ニワトリ脳, 活動期クサガメ脳の遊離
アミノ酸およびその関連物質

岡山大学医学部神経精神医学教室 (主任: 奥村二吉教授)

青 山 達 也

〔昭和34年7月7日受稿〕

序 論

私は中枢神経系の形態と機能の進化に対応して脳遊離アミノ酸パターンがどのように変化しているかを検索する目的で, 広く脊髄動物門の各綱から代表的な動物を選び出し, その脳遊離アミノ酸および関連物質を, Moore & Stein¹⁾の発表したイオン交換クロマトグラフィー法によつて分離定量している。すでに私は魚綱からナマズ (*Parasilurus asotus*)²⁾を, 両棲綱からトノサマガエル (*Rana nigromaculata*)³⁾を, 爬虫綱からクサガメ (*Geoclemys reevesii*)⁴⁾を選んで検索し報告した。今回は温血動物であり鳥綱の代表的なものとしてニワトリ (*Gallus domesticus*)を選び, 前回と同様に検索すると共に, 前記トノサマガエル, クサガメが冬眠期にあつたので, 活動期との比較を検索すべく活動期クサガメ脳をも検索したので, 両者の成績を併せて報告する。

実験材料および方法

1) 試料の調製

ニワトリ (体重: 2, 100 g) およびクサガメ 3 匹 (体重: 650~700 g) を生体のままで断頭し, 各々, 大脳・中脳を摘出, 直ちにドライアイス-アセトン中に投入氷結させた後, 秤量, エタノール除蛋白濾液作製を前回²⁾⁵⁾と同様の操作で行つた。

2) イオン交換クロマトグラフィー法および定量定性,

すべて前回の報告²⁾⁶⁾と同様の方法で行つた。

実験成績

試料を添加した Dowex50-X4, 150×0.9 cm カラムの溶出曲線を第1図に示し, ニワトリ脳および活

動期クサガメ脳の遊離アミノ酸およびその関連物質の定量値を, ダイコクネズミ脳, ナマズ脳, 冬眠期トノサマガエル脳, 冬眠期クサガメ脳の定量値と並記して第1表に示す。表中 X₁~X₆⁶⁾とあるのは現在未同定のニンヒドリン陽性物質で, 分子量が不明なため定量値を一応ロイシン当量として記載した。

1) ニワトリ脳

ニワトリ脳とダイコクネズミ脳における遊離アミノ酸パターンを, 全アミノ-N量に対する含有比で比較すると, グリセロホスホエタノラミン1.2倍, ホスホエタノラミン2倍, タウリン0.7倍, グルタミン0.8倍, グリシン0.6倍, アラニン0.7倍, グルタチオン0.8倍, ロイシン0.5倍, リジン0.8倍, N-アセチルアスパラギン酸0.5倍で, アスパラギン酸, グルタミン酸, スレオニン, セリン, イソロイシン, γ -アミノ酪酸はほぼ同様の含有比を示していた。すなわち大体においてダイコクネズミ脳パターンに類似のパターンを示すが, ニワトリ脳にはホスホエタノラミン, X₂が稍多く, N-アセチルアスパラギン酸が少く, 尿素が認められなかつた。尚, N-アセチルアスパラギン酸については, Tallan⁷⁾の値に比して極めて少く, この点について再検討する予定である。

またニワトリ脳では, グルタチオンとイソロイシンの溶出部位の中間に明らかなニンヒドリン陽性物質の溶出ピーク「X₃」を認め, ヒスチジン溶出部位に近接して同様な溶出ピーク「X₆」を認めた。

2) 活動期クサガメ脳

活動期クサガメ脳とナマズ脳の遊離アミノ酸パターンを全アミノ-N量に対する含有比で比較すると, グリセロホスホエタノラミン2.7倍, ホスホエタノラミン1.6倍, タウリン0.7倍, アスパラギン酸4.7

第1表 ニワトリおよび活動期クサガメの、脳遊離アミノ酸およびその関連物質、と各種動物脳に於ける値との比較。

単位：mg/100g 湿重量。X₁~X₆、未同定物質でロイシン当量。

	ナマズ	冬眠期 トノサマガエル	冬眠期 クサガメ	活動期 クサガメ	ニワトリ	ダイコク ネズミ
全アミノ-N	50.5	38.1	30.3	34.8	50.5	43.5
グリセロホスホエタノラミン	16.9	31.0	14.8	31.2	24.9	17.8
X ₁	5.4	1.6	0	0	0	0
ホスホエタノラミン	17.6	21.0	10.2	20.3	45.8	19.9
タウリン	42.5	0.6	3.9	19.3	40.4	47.8
尿素	0	66	20	40.5	0	56
X ₂	94.4	41.9	56.4	63.4	7.5	1.5
アスパラギン酸	3.9	8.9	6.3	12.8	33.4	30.0
スレオニン	7.9	1.8	0.5	1.5	4.2	3.6
セリン	2.9	2.1	1.3	3.5	12.9	10.1
グルタミン	90	80	30	51	60	65
グルタミン酸	74.2	64.2	68.0	98.0	158.2	147.0
グリシン	6.0	12.1	1.1	6.5	5.1	6.8
アラニン	2.2	2.1	1.1	8.4	4.3	5.0
グルタチオン	14.3	13.5	5.3	11.5	26.6	25.9
X ₃					1.7	
イソロイシン	2.8	1.3		<1	1.4	1.6
ロイシン	3.9	1.3		<1	1.0	1.7
X ₄			2.6			
γ-アミノ酪酸	18.8	28.2	17.9	18.4	28.0	22.1
X ₅			3.0			
リジン	3.0	1.2			1.7	1.8
ヒスチジン	4.6					1.4
X ₆		26.2	19.3	14.7	6.8	
アルギニン	1.3	1.2	1.8			1.9
N-アセチルアスパラギン酸	14.0			28.7	46.0	75.0

倍、スレオニン0.3倍、セリン1.6倍、グルタミン0.8倍、グルタミン酸1.9、グリシン1.5倍、アラニン5.5倍、グルタチオン1.1倍、γ-アミノ酪酸1.3倍、N-アセチルアスパラギン酸3倍で、グリセロホスホエタノラミン、アスパラギン酸、アラニン、N-アセチルアスパラギン酸が著しく多く含まれ、スレオニンが少なく含まれているが、大体類似したパターンを示し、温血動物である、ニワトリ脳、ダイコクネズミ脳、とは明らかな差がある。冬眠期クサガメ脳と比較すると、グリセロホスホエタノラミン、ホスホエタノラミンの両含磷アミン、アスパラギン酸、グルタミン酸のジカルボン酸およびグリシン、アラニンが明らかに増加している他に著しい変化は認められず、未知ニンヒドリン陽性物質、X₂、X₆にも著変は認められない、尚今回は、X₅を認めなかつ

た。

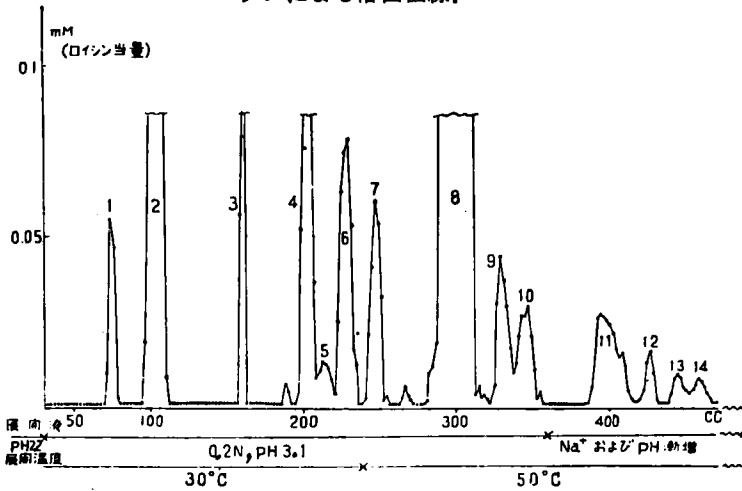
考 察

1) ニワトリ脳

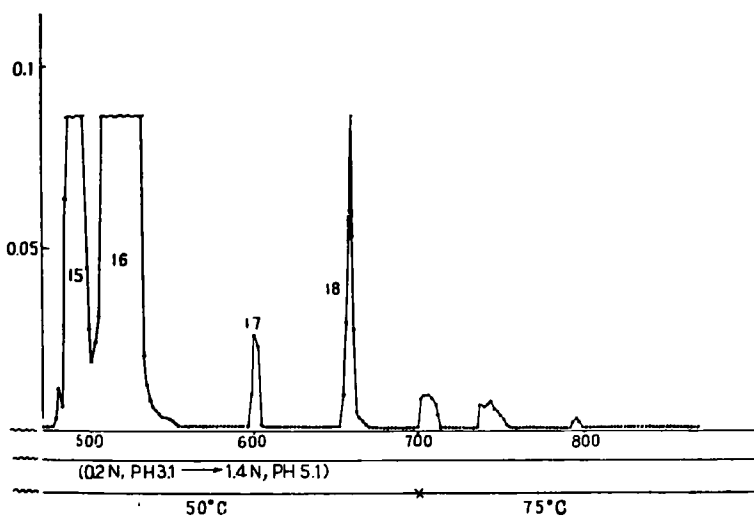
第1表に示したごとく、ニワトリ脳遊離アミノ酸パターンはダイコクネズミ脳パターンに類似し、ナマズ等の冷血動物脳との間には明らかな差異が認められる。すなわち、ニワトリ脳、ダイコクネズミ脳の値を温血動物脳の値とし、ナマズ脳、トノサマガエル脳、クサガメ脳の値を冷血動物脳の値として両者を比較すると、前者には後者に比較して、アスパラギン酸、グルタミン酸を始めとする酸性アミノ酸群が多く含まれ、未知ニンヒドリン陽性物質、X₁、X₂が少く、中性および塩基性パターンには著差がない。

X₁、X₂が冷血動物脳に特長的に大量存在する事

第1図の① ニワトリ脳遊離アミノ酸およびその関連物質のDowe X50-X4, 150×0.9 cm カラムによる溶出曲線。



第1図の②



1. グリセロホスホエタノラミン, 2. ホスホエタノラミン+タウリン, 3. X₂, 4. アスパラギン酸, 5. スレオニン, 6. セリン, 7. グルタミン, 8. グルタミン酸, 9. グリシン, 10. アラニン, 11. グルタチオン, 12. X₃, 13. イソロイシン, 14. ロイシン, 15. γ-アミノ酪酸, 16. アンモニヤ, 17. リジン, 18. X₆,

に関してはすでに前報²⁾³⁾⁴⁾に記載したように、冷血動物脳に少量しか含まれていない遊離の酸性アミノ酸を補つて酸性物質として、脳内の酸-塩基平衡に関与しているものと推定した。

Roberts 等⁵⁾ はアスパラギン酸, グルタミン酸等のジカルボン酸群は幼若脳ほどその含有量が少ないと報告しており, また Tallan⁷⁾ は, N-アセチルアスパラギン酸は幼若脳および下等動物脳ほど含有量が少なく, 冷血動物脳と温血動物脳とでは劇然とした差異のある事を報告している。これらの報告および私の実験結果からアスパラギン酸, グルタミン酸

およびN-アセチルアスパラギン酸は脳の形態と機能の進化に最も密接に対応して増加していくものと断定し得る,

ニワトリ脳に尿素が認められなかつた事は, 鳥類は一般に窒素の主要最終代謝産物が尿酸である事から当然とも考えられるが, 尿素はニンヒドリン発色度が非常に少いため確言は下し得ない,

ニワトリ脳に他の4種動物脳には認められなかつた, X₃ (0.013 mM%) およびダイコクネズミ脳にみられなかつた, X₆ (0.052 mM%) が他の冷血動物脳と共通して存在し, またグリセロホスホエタノラミン, ホスホエタノラミン等の含磷アミンが, ダイコクネズミ脳に比較して大量に含まれていた事は, 興味深く思われた。

2) 活動期クサガメ脳。

活動期クサガメ脳遊離アミノ酸パターンにはナマズ脳等と共通して, ニワトリ脳等の温血動物脳との間に明らかな差異が認められる。すなわち酸性アミノ酸群が少なく, 未知ニンヒドリン陽性物質, X₂ が大量に含まれている。

冬眠期クサガメ脳と比較すると, 活動期には, アスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, アラニン, グリセロホスホエタノラミン, ホスホエタノラミンおよびタウリンが著しく多く含まれており, γ-

アミノ酪酸を始めとして中性および塩基性アミノ酸群には著差がなく, また未知ニンヒドリン陽性物質, X₂, X₆ にも著差がなく, X₅ が認められなかつた。

この中で最も注目される所見は, 冬眠期において, グルタミン酸ならびに, グルタミン酸との間に活潑な代謝関係の存在するアミノ酸群, すなわち, アスパラギン酸, アラニン等がすべて減少しているにも拘らず, γ-アミノ酪酸が殆んど減少を示さない事である。今井⁸⁾によれば, γ-アミノ酪酸-グルタミン酸トランスアミナーゼ活性は, 活動期カメ脳においては, ハツカネズミ脳やナマズ脳に比して遙かに

低いと認められている。カメ脳における、グルタミン酸脱炭酸酵素活性については報告がないが、トノサマガエル脳についてこの活性がかなり高いことが奥村¹⁰⁾、松田¹¹⁾等によつて報告されているので、カメ脳においてもこの酵素活性はかなり高いものと推定される。γ-アミノ酪酸の生成と分解は、グルタミン酸からの脱炭酸によつて生じ、トランスアミネーションによつて、コハク酸セミアルデヒドを通つて、クエン酸サイクルに入る代謝経路が主道であると¹²⁾推定されている。冬眠期において、グルタミン酸が減少するにも拘らず、γ-アミノ酪酸がそれほど減少しないことは、脱炭酸酵素活性の増大か、あるいはトランスアミネーション以下の代謝の抑制かが存在するものと考えられる。γ-アミノ酪酸の、inhibitory transmitter としての作用が、Florey¹³⁾、Killam¹⁴⁾等によつて報告されているが、冬眠期クサガメ脳において、γ-アミノ酪酸濃度が低下しない事は、この物質のこのような作用とも何らかの関係の有する事柄であろう。冬眠期にアスパラギン酸、グルタミン酸等のジカルボン酸が減少する事は脳機能の低下³⁾⁴⁾から、アラニンの減少は糖代謝の低下から¹⁵⁾グリセロホスホエタノラミンの減少は絶食⁵⁾から、と推定を下し得るが冬眠期には、非常に複雑な代謝反応を営み且つ各種アミノ酸代謝反応に間接的に関与すると考えられている。グリシンが著明に減少している事からも、脳遊離アミ

ノ酸パタンは活動期とは全く態度を異にするものと理解したい。

冬眠の本態に関してはすでに多くの報告が¹⁶⁾⁻¹⁹⁾があるが、脳遊離アミノ酸パタンにもこのような著しい変化の存在する事を追加する。

結 論

比較生化学の立場から、ニワトリおよび活動期クサガメの、脳遊離アミノ酸およびその関連物質を分離定量した。

1) ニワトリ脳遊離アミノ酸パタンは大体においてダイコクネズミ脳のそれに類似していたが、尿素が認められず、X₃ および X₆ を認めた。

2) 活動期クサガメ脳遊離アミノ酸パタンは冷血動物脳としての特長を示すと共に、冬眠期に比較して、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、アラニン、グリセロホスホエタノラミン、ホスホエタノラミンおよびタウリンを著しく多量に含有し、両者の間のγ-アミノ酪酸含有量には殆んど差異が認められなかつた。

稿を終るにのぞみ御指導、御校閲を賜つた奥村二吉教授に感謝の意を捧げると共に実験に当り終始御援助を戴いた大月三郎講師、那須弘之博士、龜山彰氏に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Moore, S., Stein, W. H. : J. Biol. Chem. **211**, 893 (1954)
- 2) 青山達也 : 生化学, **30**, 452 (1958)
- 3) 青山達也 : 岡山医誌, **70**, 2131 (1958)
- 4) 青山達也 : 岡山医誌, **70**, 2135 (1958)
- 5) 那須弘之 : 生化学, **30**, 205 (1958)
- 6) 奥村二吉, 他 : 医学と生物学, **47**, 8 (1958)
- 7) Tallan, H. H. : J. Biol. Chem., **224**, 41, (1950)
- 8) Roberts, E., Frankel, S., Harman, P. J. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **74**, 383 (1950)
- 9) 今井昭正 : 岡山医誌, **71**, 1647 (1959)
- 10) 奥村二吉, 生化学, **28**, 740 (1957)
- 11) 松田誠 : 生化学, **30**, 77 (1958)
- 12) Wilson, W. H., Hill, R. J., Koeppe, R. E. : J. Biol. Chem., **234**, 347 (1959)
- 13) Florey, E., Mc Lennan, H. J. : J. Physiol., **130**, 446 (1955)
- 14) Killam, K. F. : Fed. Proc., **17**, 1018, (1958)
- 15) Goren, P. A. : Biol. Rev. **5**, 213 (1930)
- 16) Okasaki, Y. : J. Biochem. **36**, 85 (1944)
- 17) Sibuya, S. : J. Biochem. **14**, 111 (1931)
- 18) Mandel, P., Weill, J., Kayser, Ch. : Compt. rend. Soc. biol. **144**, 1144 (1950)
- 19) Prosser, C. L. : Comparative animal physiology. W. B. Saunders Company, London & Philadelphia (1952)

Free Amino Acids in the Brains. X

Free Amino Acids and Related Substances in the Brain of
Hen (*Gallus domesticus*) and Common Turtle
(*Geoclemys reevesii*) in Active Stage.

By

Tatsuya Aoyama

From the comparative biochemical standpoint the author isolated and estimated free amino acids and related substances in the brains of Hen (*Gallus domesticus*) and Common turtle (*Geoclemys reevesii*) in active stage, and obtained the following results:

1. The free amino acid pattern of the hen brain is on the whole similar to that of the albino rat brain, containing X₃ and X₆ but no urea.

2. The free amino acid pattern of the common turtle brain reveals characteristics as the cold blooded animal and contains markedly greater volumes of aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, glycerophosphoethanolamine, phosphoethanolamine and taurine as compared with those in the hibernating turtle. As for the volum of γ -amino butyric acid there can be recognized no difference between the brain of active turtle and that of hibernating one.