

氏名(本籍) さ とう とく た ろう
佐 藤 徳 太 郎

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 博 第 4 9 9 号

学位授与年月日 昭 和 4 3 年 3 月 2 6 日

学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当

研究科専門課程 東北大学大学院医学研究科
(博士課程)内科学専攻

学位論文題目 Structural Study of α_1 -Acid Glycoprotein
of Human plasma
(人血漿 α_1 -アシドグリコプロテインの構造研究)
First Report. Structural Study of
Polysaccharide.
(第1報 多糖体の構造研究)
Second Report. Isolation and Identification
of Novel Mannose-Containing Oligosaccha-
rides.
(第2報 マンノースを含む新しいオリゴ糖
の単離と同定)

(主 査)

論文審査委員 教授 鳥 飼 龍 生 教授 吉 沢 善 作
教授 菊 地 吾 郎

論 文 内 容 要 旨

人血漿 α_1 -アシドグリコプロテンについてはこれまで多くの研究がなされて来た。特に糖部分の構造研究は主としてJeanloz一派によつてかなり詳しく調べられて来たが、未だ解決されていない。本研究は、過沃素酸 α 化、Smith氏分解法、部分水解法等を組合せる事によつて、人血漿 α_1 -アシドグリコプロテンの構造を明らかにしようとして実施された。

第 1 報， 多 糖 体 の 構 造 研 究

本研究は、試料として、 α_1 -アシドグリコプロテンから蛋白部分を除いたヒドロゲン分解物(DeAc-PS)、及びそのN-アセチル化物(PS)、並びにPSからシアル酸を除去した物質(Asialo-PS)を用い、先ず、過沃素酸 α 化を行い、酸化剤の消費量、ホルムアルデヒドとギ酸の生成量を調べた。次にSmith氏分解法(過沃素酸 α 化-水素化ホウ素ナトリウム還元-弱酸水解)による、構成々糖並びに生成物の変動をしらべた。それらの結果をまとめることによつて、多糖体構造の平均像を得た。結果を要約すると、多糖体部分は、ガラクトース4モル、マンノース3モル、グルコサミン5モル、フコース0.5モル、シアル酸2.5モルより構成され、グルコサミンを還元末端に、シアル酸とフコースを非還元末端にもつことが既に前報で確認されていたので、これを過沃素酸で酸化すると、ガラクトースの3モル、マンノースの1モル、フコースとシアル酸の全てが酸化され、グルコサミンはN-アセチル化されているときは2モルが、アミノ基遊離のときは3.5モルが酸化される事が分つた。その酸化で消費した過沃素酸の量及び生成されたホルムアルデヒドとギ酸の量から、酸化されたガラクトースの1モルは4位置換、2モルは6位置換か非還元末端に存在すること、一方酸化されなかつた1モルは3位置換と推定された。更にマンノースは1モルが6位置換で、他の2モルは3位置換(分岐鎖形成を含む)と見做された。又、グルコサミンは、還元末端以外で酸化された他の1モルが6位置換とされ、残りの1.5モルが3位置換(分岐鎖形成を含む)、1.5モルが4位置換(分岐鎖形成を含む)、と推定された。フコースとシアル酸は非還元末端に存在し、容易に酸化されたが、フコースはガラクトースの3位に結合、シアル酸は2モルがガラクトースの6位に結合し、0.5モルが3位に結合しておると示唆された。以上の結果は多糖体分子の主として外殻構造に手がかりを与えたものである。次にSmith氏分解の結果は、分子の内部構造を解明する指針を与えた。即ち、Smith氏分解を3度繰返すことにより、PS及びAsialo-PSはグルコサミンとマンノースを各1モルづつもつ中核を残すだけとなつた。DeAc-PSでは更に酸化が進み、少量のマンノースが残存するにすぎなかつた。Smith氏分解2度の産物には、PSでは、グルコサミンとマンノースを約2モルづつ、Asialo-PSでは1.4モルのグルコサミンと1.8モルのマンノースを、DeAc-PSでは、0.5モルのグルコサミンと1モルのマンノースを含んでいた。Smith氏分

解1度の産物には、2度の産物に加えて、PSでは、グルコサミンとガラクトースを約1モルづつ、Asialo-PSではグルコサミン1.6モルとガラクトース0.4モル、DeAc-PSでは、グルコサミン、マンノース及びガラクトースを各1モルづつ多く含んでいた。これらの結果及びSmith氏分解で生ずるグリコールアルデヒド、グリセロール、エリスリトール及び(又は)スレイトールの量から、多糖体の中核鎖は $O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})-(1\rightarrow3)-O-\alpha\text{-D-mannopyranosyl}-(1\rightarrow4)-O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})-(1\rightarrow3)-O-\alpha\text{-D-mannopyranosyl}-(1\rightarrow4)-2\text{-acetamido-2-deoxy-D-glucose}$ と示唆された。そしてこれまでの実験結果から、この糖鎖の還元末端に続くマンノースの2か4か6位に、0.5モルづつの構成糖からなる、 $O\text{-sialyl}-(2\rightarrow3)-O\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}-(1\rightarrow3)-O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})$ 及び、 $O\text{-}\alpha\text{-L-fucopyranosyl}-(1\rightarrow3)-O\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}-(1\rightarrow4)-O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})$ が結合、又 $O\text{-sialyl}-(2\rightarrow6)-O\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}$ が2番目のグルコサミンの6位に、 $O\text{-sialyl}-(2\rightarrow4)-O\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}$ が3番目のグルコサミンの4位又は3位に、 $O\text{-}\beta\text{-D-galactopyranosyl}-(1\rightarrow6)-O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})-(1\rightarrow6)-O-\alpha\text{-D-mannopyranosyl}$ が同じグルコサミンの3位又は4位に結合し、多糖体を形成しているものと結論づけられた。

第2報、マンノースを含む新しいオリゴ糖の単離と同定

本研究は、前報で多糖体の中核鎖中にマンノースの3位にN-アセチルグルコサミンの結合した新しいタイプの構造部位があると結論づけられたので、その存在を確認するため、前報のDeAc-PSの過沃素酸に抵抗する部分を部分水解して、目的のオリゴ糖を単離同定したものである。即ち、DeAc-PSを過沃素酸々化し、続いて還元、得られた産物を1規定硫酸で100℃、4時間水解を行った。この水解物をN-アセチル化してから、ペーパークロマト法により、酢酸エチル：酢酸：水(2:1:2)でR_Fマルトースが1.1及び0.9を示す物質を、濾紙から溶出して、2つのオリゴ糖を単離した。前者(olig.I-a)は、N-アセチルグルコサミンとマンノースを等モル含み、 $[\alpha]_D^{20} - 11.6^\circ$ (水)、後者(olig.I-b)は、前者にグリセロールを1モル加えた組成をもち、 $[\alpha]_D^{20} + 22.3^\circ$ (水)であつた。還元並びに四酢酸鉛酸化や過沃素酸々化の結果から、前者を $O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})-(1\rightarrow3)\text{-mannose}$ 、後者を $O-(2\text{-acetamido-2-deoxy-}\beta\text{-D-glucopyranosyl})-(1\rightarrow3)\text{-}\alpha\text{-D-mannopyranosyl}-(1\rightarrow2)\text{-glycerol}$ と同定した。

審 査 結 果 の 要 旨

人血漿 α_1 -acid glycoprotein の糖部分の構造については、かなり以前から研究されてきたが解決されていなかった。本研究は、この糖蛋白からヒドラジン分解法で蛋白部分を除いてから、各種の構造研究法を適用して、糖部分の構造決定を行ったものである。

第一報で、著者は、上記糖蛋白のヒドラジン分解物と、その N-アセチル化物、およびそれからシアル酸を除いた物質について、まづ過沃素酸酸化を行い、酸化剤の消費量、formaldehyde と formic acid の生成量を経時的にしらべると共に、構成に分糖の変動の結果をもとにして、多糖鎖の外殻構造を決めた。次に、上記試料について、Smith 氏分解法を適用し、各段階での構成に分糖の変動と生成する低分子化合物 (glycolaldehyde, glycerol, erythritol, threitol) の量から多糖鎖の中核構造を決定した。

第二報では、前報で中核鎖中に mannose の 3 位に N-acetylglucosamine の結合した新しいタイプの構造部分があると結論づけられたので、その存在を確保するため、上記ヒドラジン分解物の過沃素酸に抵抗する部分を部分水解し、クロマト法で目的とするオリゴ糖を単離し同定した。

以上の研究は、世界の最高レベルの糖化学者によつても、長い間難問の一つとされていた α_1 -acid glycoprotein の糖部分の構造決定を行ったわけで、その成果は糖化学の研究に寄与すること極めて大である。

よつて本論文は学位を授与するに値する。