

# 脳 の Histidine 代 謝 に つ い て (第 2 報) Decarboxylation による Histamine の生成

戸 田 茂, 黒 田 正 清

## METABOLISM OF HISTIDINE IN THE BRAIN (II) THE FORMATION OF HISTAMINE BY THE DECARBOXY- LATION OF THE HISTIDINE

Shigeru Toda and Masakiyo Kuroda

Edlbacher(1) によつて始められた Histidine 代謝は、瀬良等(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)によつて urocanic acid を経て Glutamic acid になることが判明した。著者等も第一報(9)において、Guinea pig 脳を用いて、これら先人の得たと略同様の過程の存在を明白にした。

しかし Histidine の化学構造式から、その Decarboxylation が行われた場合 Histamine の生成は容易に考えられる事であり、事実 Tohor(10)によつて腎、肝、小腸には微弱ではあるが、この作用があると報告されている。そこで著者等は脳組織においても urocanic acid 以外の Histamine を経る Pathway が、存在するか否かを確定する目的をもつて、Guinea pig 脳ならびに、岡山大学医学部陣内教授の御厚意により人脳をも使用して本実験を行った。

### 実 験

#### I. 試 料

第 1 報(9)に記載の如く反応液の組成は

$\frac{1}{10}$  M Histidine monohydrochloride (pH 8.6)

10倍稀釈脳 Homogenate

1/15 M Phosphate buffer (pH 8.6)

水

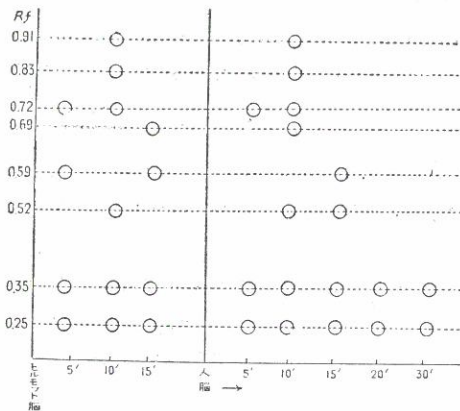
で各々を 2 ml づつ Thumberg 管中にとり、14 mmHg の anerobic State にし、38°C の恒温槽中で、それぞれ 5 分、10 分、15 分、20 分及び 30 分間 incubate した後、同量の 10 per cent, Trichloroacetic acid 溶液で反応を停止して除蛋白したものを使用した。

#### II. Paperchromatography による分離

上記反応液 0.03 ml づつを Toyo filter paper No. 50 をもちいて Butanol-acetic acid-水(4 : 1 : 2) の展開溶媒で、一次元上昇法によつて展開し Ninhydrine 反応及び Diazo 反応を用いて発色した。

## 実 験 結 果

上記実験から次表に示すような結果を得た。



## 考 按

Guinea pig の脳 Homogenate を使用した、5分後の Data では、第一報(9)で報告した様に Rf. 0.25, 0.35, 0.59, 0.72 の4つの Spot を得た。その内 Rf. 0.25 は Histidine, Rf. 0.35 は L-Glutamic acid, Rf. 0.72 は36時間、同様な方法によつて、猫の肝酵素を使用して得た Urocanic acid と一致する物質、Rf. 0.59 は未知物質であるが、同様操作によつてそれぞれ、10分、15分間 incubate して得た Spot は、10分のものでは Rf. 0.25, 0.35, 0.72 の3つの既知物質以外に Rf. 0.52, 0.83, 0.91 の3つの未知物質を分離し、15分間のものでは、Rf. 0.25, 0.35, 0.59 ならびに 0.69 物質を得た。

一方人脳では、5分後には Rf. 0.25, 0.35, 0.72 の3つの Spot を、更に10分間 incubate したものでは Rf. 0.25, 0.35, 0.72 の3つの既知物質の外に、未知物質として Rf. 0.52, 0.69, 0.83, 0.91 の4つの Spot を分離した。つづいて15分間後のものからは、Rf. 0.25, 0.35, 0.52 ならびに 0.59 の4つの Spot を得た。さらに20分、30分間 incubate したものでは、いずれも Rf. 0.25, 0.35 の2つの Spot を得るのみである。

これらの事から Guinea pig 脳でえた、Rf. 0.52, 0.83, 0.91 の3つの未知物質の内 Rf. 0.52 は内田(11)が肝酵素を使用して pH 8.6 でえた Urocanic acid の Imidazol 環の酸化物である Imidazolone acrylic acid から得られる、Rf. 0.51 なる物質と、その Rf. 値の酷似、更に Diazo 反応のみ陽性であるところから、 $\alpha$ -ketoglutar 酸 amide であると考えられるが、その決定は、さらに今後の研究に、よらなければならない。つぎに Rf. 0.83 および 0.91 物質についても、内田(11)が Imidazolone acrylic acid から、2, 3の操作によつて得た Diazo 反応陽性の Rf. 0.93 物質か、或は市原等(12)の主張する Hydantoin acryl 又は Succinic mono-ureide などが予想されるが、これら物質の結晶化を、こころみている現在、残念ながら、その何であるかについては言明することが出来ない。

つぎに15分後には、Rf. 0.25, 0.35, 0.59 および 0.69 の4つの Spot を得たが、そのうち Rf. 0.69 は Histamine の Spot で、反応時間から考えて、Protein の腐敗によつて得られたものでない事は容易に予想され、Guinea pig の脳中に Decarboxylase が存在し、その Decarboxylation によるものと推定される。

そこで人脳では、果してどうかを探求するため Guinea pig 脳の場合と同様な方法で、5分間 incubate したもののから、Rf. 0.25, 0.35, 0.72 の3つの Spot をえた。このことからして人脳においても Histidine→Urocanic acid→Glutamic acid の経路の存在が、うかがわれる。

さらに10分間 incubate したものでは、Rf. 0.25, 0.35, 0.52, 0.69, 0.72, 0.83, 0.91 の7つの Spot を得たが、Rf. 0.25 の Histidine から 0.72 の Urocanic acid を経て、Rf. 0.35 の Glutamic acid に到る過程に Guinea pig の場合と同様に、Histidine→Urocanic acid→Imidazolone acrylic acid から Rf. 0.52 の  $\alpha$ -ketoglutar 酸 amide, Rf. 0.91 の Aminoglutacon imide 又は Hydantoin acryl, Succinic monoureide 等が予想されるが、さらに重要なことは Rf. 0.72 の Urocanic acid と同時に Rf. 0.69 の Histamine の出現すること、そして15分以後には、その Spot が消失することを考えれば1部 Histidine が Decarboxylation されたものと考えられる。つぎに15分間 incubate したものは、Rf. 0.25, 0.35, 0.52, 0.59 の4つの Spot をえた。すなわち松田(6)の Rf. 0.25 物質から 0.59 物質を経て 0.35 の L-Glutamic acid に到る道程を物語ると、ともに Rf. 0.52 は其の経路中に  $\alpha$ -Ketoglutar 酸 amide の出現を予想される。最後に20分をすぎると Rf. 0.25, 0.35 の2つの Spot のみをえられることから Glutamic acid のみの存在が認められ、Histidine の反応は完全に終了した事を意味する。

## 結 論

I. 人脳においても、また Guinea pig 脳においても、わずか5分間の反応で、Urocanic acid と Glutamic acid とが出来る。

II. 人脳では10分、Guinea pig 脳では15分間の incubate で Histamine の成生が行われる。よつて現在知られている以外の、脳独自の経路の存在が予想される。

III. 人脳では20分間で現在認められている Histidine の全過程は完全に終了する。

本論文の要旨は第8回日本生化学会中国・四国地方部会総会にて発表した。尚本研究費の1部は委託費ならびに、本学後援会費によるものである。記して深謝す。

## 文 献

- (1) Edlbacher, S.: Z. physiol. Chem. 157, 106 (1926)
- (2) 瀬良好太 ; 大阪医, 38, 1107 (1939)
- (3) 瀬良好太 ; 生化学, 17, 107 (1942)
- (4) 赤松 茂 ; 生化学, 17, 75 (1942)
- (5) Takeuchi, M.; J. Biochem. 34, 1 (1941)

- (6) 松田 誠 ; 生化学, 28, 158 (1956)
  - (7) Tahor, H., Mehler, A. H., Hayashi, O. and White, J.,: J. Biol. Chem. 196, 121 (1952)
  - (8) 須田正己 ; 酵素化学シンポジウム, 4, 11 (1950)
  - (9) 戸田 茂, 黒田正清 ; 岡山県栄養短期大学研究紀要 ; 2, 19 (1958)
  - (10) Tohor, H.; J. Biol. Chem. 188, 125 (1951)
  - (11) 内田禎男, 大田省三, 浦中 淳 ; 生化学, 29, 676 (1957)
  - (12) 市原 硬 ; 生化学, 28, 399 (1956)
-