



脂質化學

第1-2卷



MINISTRY OF LIBRARY

CHEMISTRY of LIPIDS

脂質化学

編集

東京大学教授・農学博士

舟橋三郎

東京都立大学助教授・理学博士

毛利駿

千葉大学助教授・理学博士

原一郎

お茶の水女子大学助教授

福場博保

日本大学教授・工学博士

松本太郎

②



共立出版株式会社

第 2 卷

執 筆 者

(執筆順)

お茶の水女子大学助教授
福 場 博 保

立 教 大 学 助 教 授
木 村 徳 次

帯広畜産大学教授・医学博士
藤 野 安 彦

東京慈恵会医科大学助教授
医 学 博 士
松 葉 三 千 夫

北海道大学教授・医学博士
安 田 守 雄

東京大学教授・理学博士
石 田 寿 老

京都府立医科大学講師・医学博士
陳 震 東

国立らい研究所・医学博士
阿 部 正 英

東京医科大学助教授・医学博士
佐 藤 倚 男

立 教 大 学 教 授 ・ 理 学 博 士
笹 川 泰 治

東京大学教授・農学博士
舟 橋 三 郎

東京慈恵会医科大学教授
医 学 博 士
中 尾 健

東京都立大学助教授・理学博士
毛 利 駿

東京大学農学部農芸化学教室
岩 本 浩 明

京都府立医科大学教授・医学博士
荒 木 正 哉

九州大学教授・医学博士
山 村 雄 一

東京大学助教授・医学博士
白 木 博 次

東京大学医学部田坂内科教室
医 学 博 士
友 野 隆

AUTHORS

Vol. 2

(in writing ordgr)

Hiroyasu Fukuba	<i>Faculty of Home Economics, Ochanomizu University</i>
Taiji Sasakawa	<i>College of Science, St. Paul's University</i>
Tokuji Kimura	<i>College of Science, St. Paul's University</i>
Saburo Funahashi	<i>Faculty of Agriculture, University of Tokyo</i>
Yasuhiko Fujino	<i>Obihiro Zootechnical University</i>
Takeshi Nakao	<i>Department of Pharmacology, Tokyo Jikeikai School of Medicine</i>
Michio Matsuba	<i>Department of Pharmacology, Tokyo Jikeikai School of Medicine</i>
Susumu Mori	<i>Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University</i>
Morio Yasuda	<i>Department of Biochemistry, University of Hokkaido, School of Medicine</i>
Hiroaki Iwamoto	<i>Faculty of Agriculture, University of Tokyo</i>
Juro Ishida	<i>College of General Education, University of Tokyo</i>
Masaya Araki	<i>Department of Pathology, Kyoto Prefectural Medical College</i>
Chen Chen Tong	<i>Department of Pathology, Kyoto Prefectural Medical College</i>
Yuichi Yamamura	<i>Department of Biochemistry, University of Kyushu, School of Medicine</i>
Masahide Abe	<i>National Institute for Leprosy Research</i>
Hirotsugu Shiraki	<i>Institute of Brain Research, University of Tokyo, School of Medicine</i>
Yorio Sato	<i>Department of Neurology and Psychiatry, Tokyo Medical College</i>
Takashi Tomono	<i>Faculty of Medicine, University of Tokyo</i>

第 2 卷 目 次

第 3 章 生体反応論

§ 3.1 代謝論	1
1. 脂質と酵素	(福 場 博 保) 1
A. 序 論	1
B. リパーゼ	1
C. ホスホリパーゼ (Phospholipase)	7
D. 脂肪酸脱水素酵素 (Fatty acids dehydrogenase)	13
E. リポキシンダーゼ (Lipoxidase)	15
文 献	19
2. 脂肪酸の代謝	(笹川泰治・木村徳次) 22
A. まえがき	22
B. 脂肪酸酸化に関する実験	23
C. 脂肪酸の β -酸化酵素系	30
D. アシル CoA 誘導体の合成法	43
E. 特殊な脂肪酸の代謝	45
文 献	48
3. 複合脂質の代謝	53
A. リン脂質の機能	(舟 橋 三 郎) 53
B. リン脂質の代謝分解	62
C. リン脂質の生合成	(藤 野 安 彦) 63
文 献	77
4. ステリンの代謝	(中尾 健・松葉三千夫) 80
A. 腸管よりの吸収排泄	80
B. コレステリンの生合成	83
C. コレステリンの Catabolic metabolism	98
文 献	111
追 記	(中尾 健・毛利 毅) 115
§ 3.2 栄養論	(安 田 守 雄) 120
1. 栄 養	120
A. 脂肪の栄養的重要性	120

B. 脂肪の栄養価の比較	121
C. 脂質の消化吸収並びに排出	121
D. 脂肪の非熱源的機能	125
E. 貯蔵脂肪	127
F. 脂質の所要量	129
2. 代謝異常	131
A. 動脈硬化と血液脂質	131
B. 脂 肝	136
C. 肥 満 (症)	138
文 献	140

第 4 章 特 殊 項 目

§ 4.1 微生物による脂質の合成	(岩 本 浩 明)	143
1. 概 説		143
2. 微生物における油脂蓄積の一般的条件		144
A. 窒 素 源		144
B. 炭 素 源 及 び エ ネ ル ギ ー 源 並 び に 酸 素		145
3. 微生物の脂質		147
A. 細菌の脂質		147
B. 糸状菌の脂質		147
C. 酵母の脂質		150
D. 単細胞藻類の脂質		151
4. 微生物における油脂合成の機構		153
A. 飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸		153
B. 飽和脂肪酸の合成		154
文 献		155
§ 4.2 発生と脂質	(石 田 寿 老)	158
1. 受精と脂質		158
A. 精子リジン		158
B. ウニ受精卵表面の透明層物質中の脂質		159
C. 受精によるウニ卵表面脂質の変化		160
D. 受精によるリン脂質の変化		161
2. 発生にともなう脂肪とリパーゼの変化		162

A. ウニ卵発生と脂肪	162
B. ウニ卵発生とリパーゼの作用	162
C. ウニ卵発生とコレステリン	164
文 献	164
§ 4.3 脂質及びビタミン A・D の組織化学	(荒木正哉・陳 震東) 166
1. 脂質の組織化学的検索標本の作製法	166
A. 固 定	166
B. 切片作製	166
C. 後 染 色	166
D. 封 入 薬	167
2. 脂質の組織化学的検索法の概観	167
A. 脂質の一般反応	167
B. 特殊反応	167
3. 脂質の一般的組織化学検索法	167
A. 溶解性を利用する方法	167
B. 脂質の一般的染色法	168
4. 各脂質の組織化学的鑑別法	170
A. 中性脂肪	170
B. 脂肪酸及び脂肪酸塩類	170
C. コレステリン及びコリンエステル	172
D. 複合脂質	173
E. アルデヒド基及びケトン基をもつ脂質	175
F. 過酸化基をもつ脂質	176
G. リポタンパク質	176
5. ビタミン A・D の組織化学	177
A. ビタミン A の組織化学的検索法	177
B. ビタミン D の組織化学的検索法	178
C. ビタミン A 及び D の組織像	178
文 献	181
§ 4.4 抗酸性菌の脂質	(山 村 雄 一) 183
1. 菌体脂質の系統的分離法	183
A. Anderson の方法	183
B. Lederer の方法	185

2.	アセトン可溶性脂肪	187
3.	リン脂質	188
4.	アルコール・エーテル可溶性ロウ及びロウ A	190
5.	ツベルクロスチアリン酸とフチオン酸	191
	A. ツベルクロスチアリン酸	191
	B. フチオン酸	192
6.	ロウ	193
	A. ヒト型結核菌のロウ	193
	B. ヒト型結核菌以外の抗酸性菌のロウ	194
7.	ミコール酸	196
	A. ヒト型結核菌のミコール酸	196
	B. ウン型結核菌と BCG のミコール酸	199
	C. チモテー菌のミコール酸	200
	D. 恥コウ菌のミコール酸	200
	E. ジフテリア菌のミコール酸	200
8.	ロウ D (糖脂質画分)	200
9.	尿素抽出糖脂質	202
10.	流動パラフィン抽出糖脂質 (PMK ₀)	202
11.	Cord-factor (Bloch)	204
	A. Cord-factor の精製	204
	B. Cord-factor の物理化学的性状	205
	C. Cord-factor の化学構造	206
	D. 化学構造の毒性	207
12.	結合脂質	208
	A. ヒト型結核菌の結合脂質	208
	B. トリ型菌の結合脂質	208
	C. <i>Mycobacterium leprae</i> の結合脂質	209
13.	リボタンパク質	209
14.	脂質中に含まれる高級アルコール	210
	A. フチオセロール (Phthiocerol)	210
	B. D-2-Eicosanol と D-2-Octadecanol	211
	C. α -及び β -Leprosol	211
15.	抗酸性菌脂質の生物学的作用	211

A. 抗酸性	211
B. 毒力	211
C. 結核結節の形成	212
D. 結核アレルギー	214
E. 抵抗性獲得(免疫)	214
F. 抗原性	214
G. 抗酸性菌の脂質による分類法	215
文 献	215
§ 4.5 脂質と血清反応 (阿 部 正 英)	219
1. 脂質の抗原性	219
A. 抗原性とは何か	219
B. 各種の脂質の抗原性	220
C. Forssman 抗原	222
D. 細菌の脂質	226
2. 脂質を用いた血清反応	232
A. 梅毒血清反応	232
B. ライ血清反応	240
C. ケファリン-コレステリン反応	243
3. 抗原抗体反応における血清脂質の意義	244
A. 血清の脂質を除く方法	244
B. 脱脂血清による抗原抗体反応の研究	245
文 献	246
§ 4.6 脱髓疾患と脂質 (白木博次・佐藤倚男)	251
1. まえがき	251
2. 神経線維の微細構造, 個体, 系統発生学, 生化学的研究	251
3. 脱髓の細胞病理学と生化学	255
4. 脱髓疾患の分類と機制	256
A. 第1群の形態学的特長	258
B. 第2群の形態学的特長	259
C. 狂犬病ワクチンの予防接種後脱髓炎	259
D. 接種後脱髓炎と多発硬化症	260
E. 接種後脱髓炎の発生機制	261
F. 実験的アレルギー性脳脊髄炎	262

G. 実験的アレルギー性脳脊髄炎と接種後脱髄炎	262
H. 第3群の形態学的特長	263
I. 脱髄現象の生化学的考察, 特に脂質化学の立場から	265
5. あとがき	269
文 献	270
§ 4.7 病的状態と脂質 (友 野 隆)	304
1. 臨床医学において普通行われている脂質研究方法	304
A. 皮下脂肪	304
B. Chylomicron account	304
C. 糞便脂肪	305
D. 血液脂質	305
E. 体液の脂質	310
F. 骨髄脂肪の測定	310
G. 組織脂質	311
H. 脂質の組織化学	311
I. リポタンパク質	311
2. 発熱と脂質代謝	311
A. まえがき	311
B. 発熱時における血液脂質	312
C. 発熱時血液脂質消長の意義	313
D. 脂肪酸単分子層 (Monolayer) による体温の調節	314
3. 動脈硬化症と脂質代謝	315
A. まえがき	315
B. 老人における脂肪代謝の形態学的観察	316
C. 動脈硬化症の成立因子の一つとして脂質代謝異常が挙げられる根拠	316
D. 動脈壁の脂質	316
E. 動脈硬化症と血液脂質	317
F. ヘパリンと脂質代謝	319
G. 脂肪摂取と血液凝固	321
H. 実験的動脈硬化症	321
文 献	323
総 索 引	1

第 3 章 生体反応論

§ 3.1 代 謝 論

1. 脂質と酵素

A. 序 論

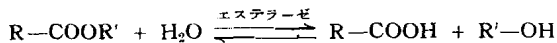
脂質が生体内で分解利用されるためにも、また他の素材から合成されるためにも、この反応に特有の酵素系が関与していることは当然推定されるところであり、古く 19 世紀には既に膵臓リパーゼ¹⁾、ヒマシリパーゼ²⁾その他のリパーゼ類が見いだされている。しかし現在までのところ、試験管内においてこれら酵素の作用を追跡するとき、基質脂肪酸が水に不溶または難溶性である点をはじめとして多くの実験上の困難が伴っているために、アミラーゼ、プロテアーゼ類の研究に比較するとその成果の著しい見劣りする点は認めざるをえない。また生体内の脂肪酸代謝の過程に関する研究においても、解糖反応がはなばなしく世界中の酵素研究者の注目を引き、続々とその機構が明らかにされつつあった 1930 年代の終りになって、初めて Leloir & Muñoz³⁾ によって試験管内実験が行われ、1940 年代から現在にかけて多くの酵素化学者の研究題目として取り上げられた状態で、現在まだ代謝系が完全な形で我々の前に披露されているとはいえない。

本節においては、脂肪の生体内代謝系を考えると、この系外に存在すると考えるほうが現在のところ妥当であると思われる酵素、及びあまり代謝系においては説明されない酵素のみを取り上げたい。

(エステラーゼ中コリン・エステラーゼ及びコレステリン・エステラーゼについては本節 3 及び 4 の項に譲る)

B. リパーゼ

エステラーゼは字義どおりエステルを加水分解して酸とアルコールを遊離する反応またはその逆反応の触媒となる酵素である。



この際アルコールの種類または酸の種類によって数多くの特殊エステラーゼが存在するわけで、高級脂肪酸と多価アルコールであるグリセリンとのエステルである脂肪に働くリパーゼと、一価アルコールと脂肪酸とのエステルに働く狭義のエステラーゼなどに分類されるが、この両者の間には大体判然とした区別はないようで、ただその反応速度の差によってリパーゼ、エステラーゼと区別する程度のものである。しかし Nachlas⁴⁾ らは 6 種の動物の肝臓、腎臓、膵臓などの臓器抽出物を

用い、基質として脂肪及び酢酸、ラウリン酸、ステアリン酸の β -ナフトールエステルを用い、エステラーゼとリパーゼとは別種の酵素であると主張しているし、また同様なことは Rossiter⁵⁾によってもウサギの血清中のエステラーゼを用い、このものが低級脂肪酸エステルは分解するがトリオレインのようなグリセリドを分解しないことから、両者を異種の酵素であると主張している。

実際、リパーゼは 1856 年 Cl. Bernard⁶⁾ によって膵液中に存在することが見いだされてから既に 100 年を経過しているが、いまだにアミラーゼ、プロテアーゼのように精製酵素、あるいは結晶酵素の分離にも成功をみておらず、その作用についても多々不明の点が残されている。これは一つには基質が脂肪あるいは脂肪酸エステルのように水あるいは緩衝液に難溶性の物質であり、更に酵素自体、これら媒質に溶解抽出されにくい点などが重なり、研究を大きく妨げているためであり、新しい酵素研究のテクニックの導入により今後活発に研究の進められていく酵素群であろう。

(a) 動物リパーゼ 1834 年 Eberle によって膵液中に含まれていることが見いだされて以来、多くの動物臓器、分泌液中にリパーゼの含まれていることが報告されている。これら各リパーゼは器官、動物種類の相違によって各々その性質に若干の変化がみられる。これらのうちで最も差異の著しいものは膵臓及び肝臓の脂肪分解酵素で、前者は脂肪に対する作用が強く、後者は逆にこの作用が弱くエステル分解力が強いので、一般に前者を膵臓リパーゼ、後者は肝臓エステラーゼとよんでいる。Willstätter & Memmen⁷⁾ の実験によると、ブタの膵臓及び肝臓粉末についてオリブ油、トリブチリン及びメチルブチラートを基質として分解力を求めてみると、オリブ油についてはこの両者の作用力比は 10600 : 1 であり、トリブチリンについては 100 : 1、またメチルブチラートについては 2 : 5 となり、明らかに後者がリパーゼとしての作用力をもたないことが知られる。なお Ammon & Jaarma⁸⁾ によってまとめられた両者の相違点を表示すると次表のようになる。

表 3.1 膵臓リパーゼと肝臓エステラーゼの比較

	アトキシル	キニーネ	ロイシルグリシ シルグリシ	トリブチリン	酪 メチルエステル	酸 DL-マンデル 酸メチル
膵臓リパーゼ	阻害されない	阻害される	活性化される	よく分解する	あまり分解しない	左旋性生成物
肝臓エステラーゼ	阻害される	阻害されない	影響なし	あまり分解しない	よく分解する	右旋性生成物

(1) 所 在 前述のように多くの動物臓器、分泌液に見いだされているが、特に強力なもののは膵臓リパーゼであり、その他胃、乳汁、血液、筋肉などに含まれている本酵素についても相当研究されている。また伊藤らは膵臓、腎臓、肺臓、睪丸、脳、子宮、心臓、胎盤、羊膜、臍帯に、この順で漸次作用力が低くなるがリパーゼの含まれていることを報告している。

(2) 特 性 (i) 最適 pH : 一般に脂肪酵素の最適 pH というものは乳化性その他の条件に支配されやすいもので、正確に求めることが困難である。膵臓リパーゼについてはオリブ油を基質として pH 8.5 とされている。また、胃リパーゼについては pH 4.0~5.0 とされているが、Noyes¹⁰⁾ らはこの値は酵素液中に含まれている不純物に影響された値であって、酵素の精製が進むにつれてこの値がアルカリ側に移動することを報告している。乳汁リパーゼについては pH 7.3 と報告されている。

(ii) 活性化及び阻害：最適 pH の場合と同様、酵素標品の純度によって各種薬剤の作用も異なり、ときとしては逆転するので注意する必要がある。すなわち、胃リパーゼの場合には精製することによってキニーネに対する影響が漸次強く現われ阻害されるようになる。

最も早くから見いだされた活性化剤はカルシウムイオンで Willstätter によって報告されている。その他膵臓リパーゼは胆汁酸、アルブミン及び L, DL, D-Leucylglycylglycine^{7,11)} などによって活性化される。カルシウムイオンの作用は反応によって生じた遊離脂肪酸をカルシウム塩として反応系外に出すためと考えられ、胆汁酸の作用はリパーゼと脂肪との結合を助ける点にあると考えられている。この点について Foder¹²⁾ は胆汁酸は脂肪と水との界面張力を変化させてリパーゼの作用を容易にすると述べている。また山本¹³⁾ は各種アミノ酸及びその誘導体の膵臓リパーゼに対する作用をみ、L-アスパラギン酸、L-グルタミン酸及びこれらのベンゾイル誘導体が酵素力を 50% 程度活性化する作用をもつが、 ϵ -Benzoyl-DL-lysine がリジンの 1/2 活性化し、 α, ϵ -Benzoyl-DL-lysine は全くリパーゼに対して作用性をもたないことを報告している。また血液リパーゼは Hexametaphosphate¹⁴⁾ によって活性化されることを Barnabei は報告している。

また阻害剤としてはキニーネ、ストリキニーネ、コカインなどのアルカロイド、各種アルデヒド、ことにベンズアルデヒド、銅、鉄、水銀、コバルトなどの無機イオン、ハロゲンイオンによって阻害される。

なお、膵臓リパーゼの場合には、このほかシアン化カリウム、システイン、アセトニトリル、チオグリコール酸などによって活性化され、ヨード酢酸、ブロム酢酸などによって阻害されるので、活性基としてメルカプト基 (-SH) が含まれているものと予想される。

(iii) 精製：唾液、血液、乳汁などの酵素については、これらの液体それ自身を酵素液として使用することもできる。臓器酵素の場合には単に圧搾して搾汁しただけでは酵素液がすみやかに失活するので、なんらかの方法で精製安定化させることが望ましい。一般に用いられる方法は臓器よりリパーゼをグリセリンを用いて抽出する方法で、この方法によるときは相当安定な酵素抽出物を得ることができる。また Willstätter & Waldschmidt-Leitz¹⁵⁾ のアセトン-エーテル粉末にすれば更に安定な標品を得ることができる。またアセトン-エーテル脱脂粉末を 87% グリセリンまたは 0.025 N アンモニアで抽出すれば高単位の酵素液をうることができる。

膵臓リパーゼ精製法：新鮮なブタ膵臓からできるだけ繊維及び脂肪を除き肉ひき器で細かくする。このものを数回アセトンで冷浸出し、アセトン可溶の脂肪を除去する。次に 1 回アセトン-エーテル (1:1) 混液を用いて冷浸出しを行い、更にエーテルのみを用いて同様数回冷浸出しを繰り返して脂肪を除去する。この操作によって組織摩擦物から脂肪及び水分を除去することができ、エーテル臭のなくなるまで風乾すると白色粉末として酵素標品が残る。このものを粉碎篩別したくわえておく。

この粉末に 160 倍量のグリセリンを加えて 37°C に 4 時間放置してグリセリン抽出を行う。更に精製するとき、このグリセリン抽出物に 5 倍量の水を加え、酢酸で弱酸性にしたのち活性アルミナを用いて酵素を吸着させる。このとき抽出物に含まれているアミラーゼ及びトリプシンは酸性ではアルミナに吸着されないで、この両者を分離することができる。次に吸着されたリパーゼをアルカリ性リン酸アンモニウム液を用いて溶出し、更にこの吸着-溶出操作を繰り返すと、精製リパーゼ標品を得ることができる。

なお別法として Kraut & Panschenko-Jurewicz¹⁶⁾ の方法がある。彼らはリパーゼ及びエステラーゼには、一般酵素のアポ酵素に相当するフェロン助酵素に相当するアゴンとから成り、この両者が結合し複合体であるジプレックスになって初めてその作用がみられると説明し、高純度の酵素標品を分離している。

すなわち、脾臓リパーゼアゴンの最も簡単な分離法はグリセリン抽出物を水で希釈し、浮いてくる固形物を遠心分離して除去することによって目的を達することができる。

(b) 植物リパーゼ 1890年 Green¹⁷⁾ はヒマシ種実中にリパーゼの存在するのを見だし、このものが発芽によって更に強力になることを報告している。大体脂肪を多く含んでいる種実中にはリパーゼが見いだされると考えられているが、やはりヒマシリパーゼが最も強力である。この植物リパーゼの最も著しい特性は水に対する溶解性の著しく小さいことである。また、休眠中の種子中に存在するときは乾燥あるいは脱脂によって割合失活しやすい型のリパーゼ (Spermato-lipase) として存在し、最適 pH も 4.7~5.0 にあるが、発芽に従って最適 pH が漸次中性に近づき、安定な型のリパーゼ (Blasto-lipase) となる。Willstätter¹⁸⁾ らは未発芽種子をペプシン処理してもみられるので、この現象は初めタンパク質と強固に結合している酵素が、発芽に伴ってタンパク質が分解し、型の違ったリパーゼになるものと考えている。

植物リパーゼの精製は難溶性その他の性質のために困難である。

精製法¹⁹⁾ : ヒマシ種実 130 g を外皮とともに乳パチ中で摩砕し、還元性物質を除去した炭酸ガスをもって飽和した 1N 硫酸 18 ml を加え、25°C で 2 時間混和したのちこれを炭酸ガスを充満した共栓三角フラスコにとり、再蒸留エーテル 600 ml を徐々に加えながら振り混ぜる。次に炭酸ガスをもって保護しながら遠心分離管に採取し、空所には炭酸ガスを満たし密栓して 3000 rpm で 10 分間遠心分離する。ほとんど霧状になってエーテル液を炭酸ガスで保護しながら炭酸ガスを満たした着色ビンに移す。石油エーテルを等量注加し、密栓してよく混和したのち冷蔵庫に放置する。2 日以上放置したのち、冷却しながら上澄み液をサイホンを用いて静かに除き、炭酸ガスを満たし、エーテルを第 1 回は 800 ml、第 2 回には 500 ml を加え、密栓、振り混ぜたのち室温に放置すると沈殿物をはっきり分離することができる。上澄み液を静かに除去する。この沈殿物に注意しながら石油エーテル 200 ml を加え、密栓、振り混ぜたのち遠心分離し、上澄み液を吸引除去し、更に一度この操作を繰り返したのち直ちにオリブ油 100 ml を加えかき混ぜ、遠心分離して得られる上澄み液 (多少混濁する) をエーテル、石油エーテルで各 2 回ずつ洗浄すると 240 倍濃厚な酵素製剤 (187.5 mg) を得ることができる。リパーゼ単位を用いて収量を計算すると約 35% となる。

この精製酵素は不安定で空気によって酸化され不活性となるので、精製後すぐオリブ油またはグリセリンを加えて安定化する必要がある。

(c) リパーゼの脂肪合成作用 リパーゼ及び単純エステラーゼが他の消化酵素と異なり、単に加水分解反応だけでなく、合成反応をも顕著に促進することが 1900 年 Kastle & Loevenhart²⁰⁾ の実験によって明らかにされ、その後多くの研究者によってこの現象について研究されてきた。

すなわち、Hamsik²¹⁾ によると脾臓、肝臓、肺臓及び胃粘液などの乾燥物をオレイン酸とアミルアルコールまたはグリセリンとの混合物に働かせるとエステル化合物が生成することをみ Jalander²²⁾ らは同様の作用を植物リパーゼについても観察している。当然リパーゼが分解、合成両反応の触媒となるとときには、我々の観察する結果は一定時間後には両反応の平衡状態であるはずであり、Rona

& Ammon²⁵⁾ は *n*-Butyl-*n*-butyrate の分解合成平衡状態をブタの乾燥膵臓粉末を用いて観察し、図 3.1 のような結果を得た。

伊藤²⁴⁾によると、ヒマシリパーゼを用いて各種アルコール及び酸について合成速度を求めたところ、酸としてはオレイン酸、アルコールとしてはグリセリンが最もよく合成されることを認めている。また彼はヒマン種子中に“Lipase-activator”を認め、このものは一種の酸化還元系を含む物質で、還元型のはリパーゼの分解反応を促進し、酸化型のは逆に合成反応を促進すると述べている。

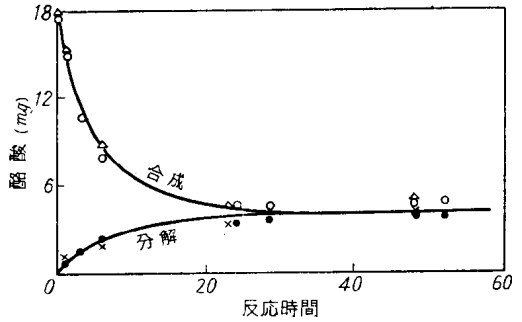


図 3.1 ブタ膵臓粉末による *n*-Butyl butyrate の分解及び合成

(d) 酵素反応測定法 (1) 分解反応測定法 古くから用いられている方法は分解によって生じた酸を滴定によって求める方法であり、そのほか滴数計(スタラグモメーター)を用いて分解反応に伴って生ずる表面張力の変化(上昇)を求める方法、反応によって生ずる酸を重炭酸塩と反応させ、発生する炭酸ガスを Warburg のマンメーターを用いて求める方法、あるいは 2-Na-phthol-6-sulfonic acid (ナトリウム塩)の高級脂肪酸エステルをリパーゼによって分解し、生ずるスルホン酸を Folin 試薬で発色させ比色する比色法²⁵⁾などがある。これらの方法の詳細については伊藤^{9,26)}、福場²⁷⁾その他の参考書を参照されたい。

(2) 合成反応測定法 合成反応の場合にも合成によって消失する脂肪酸量を滴定によって求めるのが一般法である。

(e) リパーゼの光学及び *cis-trans* 特異性 1903 年 Dakin²⁸⁾ はラセミ型のマンデル酸メチルエステルをブタ肝臓エステラーゼを用いて分解したところ、生成物は右旋性のマンデル酸のみで、左旋性のは作用されないことを見いだした。これに反して、DL 型のフェニル酢酸の場合には L 型のほうがすみやかに反応を受ける。なお、マンデル酸メチルエステルを同じブタのエステラーゼを用いて分解しても、膵臓酵素と肝臓酵素とは反応が逆転し、膵臓では左旋性、肝臓では右旋性のものがよりすみやかに分解される。なお Bamann²⁹⁾によると、ヒトの肝臓エステラーゼでは基質濃度の低いときには左旋性を、また高いときには右旋性を選択することを見いだしている。

この光学的選択性はまた合成反応の際にもみられ、Rona & Ammon³⁰⁾によると DL-乳酸とイソアミルアルコール及び DL-*sec*-ブタノールと *n*-酪酸とをブタの膵臓リパーゼを用いてエステル合成を行わせると、前者では右旋性、後者では左旋性のエステルが生ずる。

Fabisch³¹⁾ はフマル酸とマレイン酸、オレイン酸とエライジン酸、及びエルカ酸とブラシジン酸の 3 組の *cis-trans* 異性体をブタの膵臓リパーゼを用いてリパーゼの選択性を試験した。この結果、マレイン酸はフマル酸よりも 2 倍速く合成反応を営むが、オレイン酸列では若干オレイン酸のほう

が速い程度であり、エルカ酸では全く両者についてエステル合成速度に差異がなかった。この点について Rona³²⁾らは詳細に研究し、オレイン酸とエライジン酸の場合には、両酸ともほぼ等しい親和力を酵素に対してもっているが、この酵素-酸-アルコール複合体からの分解に差異があることを報告している。

(f) 作用基及び酵素モデル Freudenberg³⁵⁾は乳汁中には“プロリパーゼ”(Prolipase)としてリパーゼは分泌され、このものは胃液中に存在する“リポキナーゼ”(Lipokinase)によって活性化されると唱えた。Rosenheim³⁴⁾も同様ブタ膵臓リパーゼについて実験し、膵液として分泌されたときにはプロリパーゼの形で分泌され、膵液に含まれている“コリパーゼ”(Colipase)の作用で活性化されると述べている。しかし前者については、リポキナーゼなるものは胆汁酸をそのように見違っているらしい点もあり、また後者においても Co-enzyme それ自身強い還元性をもっており、単に一種の活性化剤ではなからうかと想像される。なお、Pantschenko-Jurewicz & Kraut¹⁶⁾は既に酵素の精製の項で述べたように、リパーゼをアゴンとフェロンの複合体であると述べているが、このものも Rosenheim のコリパーゼ同様強い還元性を持ち、アスコルビン酸ではなからうかと考えられる点があり、これも一種の活性化剤として作用したものを誤られたものであろう。

リパーゼの作用基としては、種々の阻害剤及び活性化剤に対する反応から、一応メルカプト基(-SH)が考えられている。

またリパーゼのモデルとしては、スルホン酸説、アスコルビン酸説及び $R-CO-CH_2OH$ 説などがある。

今世紀の初めごろから、油脂分解剤としてよく用いられている Twichell 試薬(ベンゼンステアロスルホン酸)の作用、性質とリパーゼの作用、性質との類似性から注目されたもので、戸井はスルホン酸のエステル分解作用はエステルのアルキル基とスルホン酸のアルキル基とが一定の長さになったときエステルを十分活性化するだけの凝縮力が現われ、この力によって両者が密接に凝縮し、このエネルギーによってエステルが賦活され、加水分解が行われるものと説明している。

アスコルビン酸説のほうはアスコルビン酸とクルペインとの結合物にエステラーゼ作用がみられるところからきたものである。

(g) その他 Desnuelle & Constantin³⁶⁾は膵臓リパーゼによるグリセリドの分解形式を過ヨウ素酸酸化法によって調べた。この方法によるときは α -グリコールが検出される。試験管内でリパーゼを働かせると、pH 7~8、胆汁酸の存在下では、トリグリセリドよりまずジグリセリドを生じ、次にモノグリセリドとなる。オリブ油をネズミに与え、3時間後に殺すと、腸では大部分分解されたグリセリドが見いだされる。この場合モノグリセリドでは α -グリセリド 1 mol に対して β -グリセリドが 2~4 mol の割合で見いだされ、またジグリセリドの生ずる場合にも α, α' -よりも α, β -ジグリセリドが多く生ずる。なおトリグリセリドと ^{14}C を含んだ脂肪酸とをいっしょにして膵液の作用を行わせると、同位体がグリセリドのほうからも検出され、オレイン酸とオリブ油を用いた場合には、反応後各グリセリドをクロマトグラフィーで分け、放射性を比較すると、オレイン

