

- metabolism of nitrile compounds from *Pseudomonas chlororaphis* B23. *J. Bacteriol.*, 173, 2465-2472 (1991).
- M. Kobayashi, M. Nishiyama, T. Nagasawa, S. Horinouchi, T. Beppu and H. Yamada, Cloning, nucleotide sequence, and expression in *Escherichia coli* of two cobalt-containing nitrile hydratase genes from *Rhodococcus rhodochrous* J1. *Biochim. Biophys. Acta*, 1129, 23-33 (1991).
- Y. Hashimoto, M. Nishiyama, F. Yu, I. Watanabe, S. Horinouchi and T. Beppu, Development of a host-vector system in a *Rhodococcus* strain and its use for expression of the cloned nitrile hydratase gene cluster. *J. Gen. Microbiol.*, 138, 1003-1010 (1992).
- M. Kobayashi, H. Komeda, I. Nagasawa, M. Nishiyama, S. Horinouchi, T. Beppu, H. Yamada and S. Shimizu, Amidase coupled with low-molecular-mass nitrile hydratase from *Rhodococcus rhodochrous* J1. *Eur. J. Biochem.*, 217, 327-336 (1993).
- K. Kobayashi, H. Komeda, S. Shimizu, H. Yamada and T. Beppu, Characterization and distribution of IS1164 that exists in the high molecular mass nitrile hydratase gene cluster of the industrial microbe *Rhodococcus rhodochrous* J1. *Proc. Japan Acad.*, 73, Ser. B, 104-108 (1997).

薬学博士野島庄七氏の「膜リン脂質の構造と代謝に関する研究——大腸菌ホスホリパーゼの研究を中心に——」に対する授賞審査要旨

リン脂質は生体膜の脂質二重層を構成する主要な脂質であり、生体膜の種類によりリン脂質の疎水性部および親水性部に、それぞれ特徴的な構造を有する。一般にリン脂質の疎水性部は各種脂肪酸エステル結合、また親水性部はリン酸ジエステル結合から構成されている。脂質二重層を構成するリン脂質は単なる不活性な構造体ではなく、生理活性物質の前駆体であると認識されている。リン脂質の各種エステルを分解する或る種のリン脂質加水分解酵素は細胞内、あるいは細胞間のシグナル伝達発現に関連していることが一九八〇年代より次第に明らかになってきている。

野島氏がリン脂質の生化学的研究を開始した一九五〇年代後半は、まだ生体膜二重層の概念は定着してはいなかったが、核酸と共にリン酸ジエステル構造を形成する生体主要成分として生命科学における機能については強い関心が持たれていた時代であった。野島氏

は抗酸性菌および大腸菌を用いて各種リン脂質の同定、糖含有リン脂質、カルジオリピンの免疫活性、更にリン脂質代謝等に関する研究を行い、特にホスホリパーゼについては、大腸菌を用いて遺伝生化学的研究を展開した。

(1) 抗酸性菌膜リン脂質

野島氏はまず病原性細菌で脂質をその菌体の二五%も含む抗酸性菌 BCG のリン脂質の分離、解析、同定を行った。リン脂質を含むワックス画分より特徴のある糖含有リン脂質——ホスファチジルイノシトールオリゴマンノシド (PIOM, 図1) ——を単離・同定した(一九五八)。このリン脂質は BCG の細胞膜と細胞壁の両画分に存在して、癩患者の血清と補体結合反応陽性であり、また、結核患者血清との反応に関わりのあることが報告されている。

カルジオリピン(図2)は常在リン脂質の一つであるが、動植物細胞では主としてミトコンドリアの内膜に局在している場合が多い。また抗酸性菌をはじめ微生物にも広く分布している。梅毒患者の血清中には「カルジオリピン抗原」(カルジオリピン・レシチン…コレステロール(1:10:30))と特異的に反応する抗体がある。野島氏はカルジオリピンおよびその類似体を化学合成して患者血清との反応性を検討した。その結果はカルジオリピンにある1'-phosphoryl-glycerol-3'-phosphoryl基が抗原の特異性をきめていることが明

らかになった(一九六五)。また、カルジオリピン抗原とメチル化ウシ血清アルブミンとの複合体を作成し、これを免疫源としてアジュバンドと共にウサギに静注してカルジオリピン抗体を作成することが出来た(一九六七)。脂質に対する抗体を人工的に作成した最初の例である。レシチンは抗原としても、免疫源としても必須であることが示された。この人工抗原とウサギ抗体との反応で、先に示した1'-phosphorylglycerol-3'-phosphoryl基が特異性を決定していることが再度確認された。またホスファチジルイノシトールのウサギ抗血清も作成でき、その特異性を明らかにした。この方法は、各種リン脂質、ホスファチジルイノシトールモノ、ジホスフェイトや各種糖脂質の特異抗体作成に現在用いられている。

(2) 大腸菌ホスホリパーゼ

野島氏は抗酸性菌および大腸菌の対数増殖期において、それぞれの構成リン脂質種によって、代謝回転に著しい差のあることを示した(一九六七)。このようなダイナミックなリン脂質の動きを酵素レベルで明確にするために、リン脂質のエステル結合を加水分解する脱アシル化酵素について研究し、抗酸性菌 *Mycobacterium phlei* (*M. phlei*) から膜結合性ホスホリパーゼ A₂ を精製・単離・同定することに成功した(一九七四)。*M. phlei* と平行して、遺伝的情報が最も豊富である大腸菌を用いて、研究を展開した。野島氏は大腸

菌に四種のホスホリパーゼを発見している。detergent-resistant (DR)-ホスホリパーゼ A (一九七七、一九八四)、detergent-sensitive (DS)-ホスホリパーゼ A (一九七六)、リンホスホリパーゼ L₁ (一九七五、一九九七) およびリンホスホリパーゼ L₂ (一九八五)

である。それぞれについての生化学的知見の一部をまとめたものが表 1 である。以下、特に DR-ホスホリパーゼ A について記す。大腸菌膜画分にホスファチジルエタノールアミンをリンホスファチジルエタノールアミンと脂肪酸に加水分解する活性 (DR-ホスホリパーゼ A) を発見した (一九六九)。活性発現には Ca²⁺ と界面活性剤を必要とする。酵素は A₁, A₂ および L₁, L₂ (図 3) 活性を示し、外膜に強固に結合しており、SDS およびブタノールによりはじめて可溶化できる。本酵素の構造遺伝子 (*aldA*) のヌクレオチド配列により、DR-ホスホリパーゼ A はアミノ酸残基二六九からなる直鎖の蛋白質である (一九八四)。今まで報告されているホスホリパーゼのアミノ酸配列との相同性は現在見出されない。最近になりヒト脾臓およびヒト cytosolic ホスホリパーゼ A₂ に見出されている Four-*amino-acid* モチーフ (G.....T.....L.....Y) が本酵素に見出された (G₂₁₂.....T₂₁₈.....L₂₂₇.....Y₂₃₈)^o

(3) 血小板活性化因子 (図 4)

微量で種々の生理活性を示す血小板活性化因子 (Platelet-

Activating Factor (PAF)) は一九七九年に構造が決定された一位にアルキル基 (C₁₆, C₁₈ 等)¹、二位がアセチル基であるグリセロホスホリン誘導体である。PAF 抗体の作成 (一九九三) また血漿型 PAF アセチルヒドロラーゼの一次構造決定 (一九九五) 等により、PAF の生物学的意義の解明のための幅広い応用面を開拓した。

以上述べたように野島氏の研究は膜リン脂質の構造研究から始まり、膜リン脂質の動態・機能について生化学的に明らかにすることに集中している、大腸菌 DR-ホスホリパーゼ A は微生物に発見される膜に固く結合しているホスホリパーゼの典型として国際的な研究課題となっている。また、リン脂質の免疫化学について、野島氏により組織的な研究が始めて行われたといつてよい。

これらの業績により、日本薬学会賞 (一九八二)、内藤記念科学振興賞 (一九八七)、紫綬褒章 (一九八九) を受賞また受章している。

主要報文目録

1. Bacterial lipids, metabolic turnover and phospholipase. Shoshichi Nojima : Studies on the chemistry of wax D of BCG II. On the chemical structure of oligomannosinoides. J. Biochem., 46 (1959) 607-620.
2. Yuzuru Akamatsu, Yoshie Ono and Shoshichi Nojima : Studies on

- the metabolism of phospholipids in *Mycobacterium phlei* I. Difference in turnover rates of individual phospholipids. *J. Biochem.*, 61 (1967) 96-102.
3. Yasuhiro KANEMASA, Yuzuru AKAMATSU and Shoshichi NOJIMA: Composition and turnover of the phospholipids in *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta*, 144 (1967) 382-390.
4. Harumi OKUYAMA and Shoshichi NOJIMA: The presence of phospholipase A in *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta*, 176 (1969) 120-124.
5. Misaō OHKI, Osamu DOI and Shoshichi NOJIMA: Mutant of *Escherichia coli* K-12 deficient for detergent-resistant phospholipase A. *J. Bacteriol.*, 110 (1972) 864-869.
6. Shoshichi NOJIMA, Osamu DOI, Nakako OKAMOTO and Mihoko ABE: The role of phospholipase A in *E. coli*. *Membrane Research*, ed. by C.F. Fox, Academic Press, New York and London (1972) 135-144.
7. Mihoko ABE, Nakako OKAMOTO, Osamu DOI and Shoshichi NOJIMA: Genetic mapping of the locus for detergent-resistant phospholipase A (*pldA*) in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.*, 119 (1974) 543-546.
8. Masahiro NISHIJIMA, Yuzuru AKAMATSU and Shoshichi NOJIMA: Purification and properties of a membrane-bound phospholipase A₁ from *Mycobacterium phlei*. *J. Biol. Chem.*, 249 (1974) 5658-5667.
9. Osamu DOI and Shoshichi NOJIMA: Lysophospholipase of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 250 (1975) 5208-5214.
10. Yumiko TAMORI, Masahiro NISHIJIMA and Shoshichi NOJIMA: Properties of purified detergent-resistant phospholipase A of *Escherichia coli* K-12: Interaction and protection with detergents and phospholipids. *J. Biochem.*, 86 (1979) 1129-1138.
11. Hiroshi HOMMA, Tetsuyuki KOBAYASHI, Nobuyoshi CHIBA, Ken KARASAWA, Hiroshi MIZUSHIMA, Ichiro KUDO, Keizo INOUE, Hideo IKEDA, Mutsuo SEKIGUCHI and Shoshichi NOJIMA: The DNA sequence encoding *pldA* gene, the structural gene for detergent-resistant phospholipase A of *E. coli*. *J. Biochem.*, 96 (1984) 1655-1664.
12. Tetsuyuki KOBAYASHI, Ichiro KUDO, Hiroshi HOMMA, Ken KARASAWA, Keizo INOUE, Hideo IKEDA and Shoshichi NOJIMA: Gene organization of *pldA* and *pldB*, the structural genes for detergent-resistant phospholipase A and lysophospholipase L₂ of *Escherichia coli*. *J. Biochem.*, 98 (1985) 1007-1016.
13. Tetsuyuki KOBAYASHI, Ichiro KUDO, Ken KARASAWA, Hiroshi MIZUSHIMA, Keizo INOUE and Shoshichi NOJIMA: Nucleotide sequence of the *pldB* gene and characteristics of deduced amino acid sequence of lysophospholipase L₂ in *Escherichia coli*. *J. Biochem.*, 98 (1985) 1017-1025.
14. Ken KARASAWA, Ichiro KUDO, Tetsuyuki KOBAYASHI, Takao SA-EKI, Keizo INOUE and Shoshichi NOJIMA: Purification and characterization of lysophospholipase L₂ of *Escherichia coli* K-12. *J. Biochem.*, 98 (1985) 1117-1125.
15. Ken KARASAWA, Ichiro KUDO, Tetsuyuki KOBAYASHI, Hiroshi HOMMA, Nobuyuki CHIBA, Hiroshi MIZUSHIMA, Keizo INOUE and Shoshichi NOJIMA: Lysophospholipase L₁ from *Escherichia coli* K-12 overproducer. *J. Biochem.*, 109 (1991) 288-293.
16. Ken KARASAWA, Osamu KUGE, Kiyoshi KAWASAKI, Masahiro NISHIJIMA, Yasuko NAKANO, Motowo TOMIYA, Kazuki YOKOYAMA, Morio SERRAKA and Shoshichi NOJIMA: Cloning, expression and characterization of plasma platelet-activating factor acetyl-

hydrolase from guinea pig. *J. Biochem.*, **120** (1996) 838-844.
参考文献

II. Immunochemistry of complex lipids

1. Keizo INOUE, Shoshichi NOJIMA and Takayuki TOMIZAWA: The specificity of cardiolipin in the serological reaction. *J. Biochem.*, **57** (1965) 824-826.
2. Keizo INOUE and Shoshichi NOJIMA: Immunochemical studies of phospholipids I. Reactivity of various synthetic cardiolipin derivatives with Wassermann antibody. *Chem. Phys. Lipids*, **1** (1967) 360-367.
3. Keizo INOUE and Shoshichi NOJIMA: Immunochemical studies of phospholipids III. Production of antibody to cardiolipin. *Biochim. Biophys. Acta*, **144** (1967) 409-414.
4. Keizo INOUE and Shoshichi NOJIMA: Immunochemical studies of phospholipids IV. The reactivities of antisera against natural cardiolipin and synthetic cardiolipin analogues-containing antigens. *Chem. Phys. Lipids*, **3** (1969) 70-77.
5. Tateshi KATAOKA and Shoshichi NOJIMA: Immunochemical studies of phospholipids VI. Haptenic activity of phosphatidylinositol and the role of lecithin as an auxiliary lipid. *J. Immunol.*, **105** (1970) 502-511.
6. Ken KARASAWA, Noriko SATOH, Toshio HONGO, Yasuhito NAKAGAWA, Morio SETAKA and Shoshichi NOJIMA: Specific binding of antibodies to platelet-activating factor (PAF) as demonstrated by thin-layer chromatography/immunostaining. *Lipids*, **26** (1991) 1122-1125.
7. Ken KARASAWA, Noriko SATOH, Toshio HONGO, Yasuhito NAKAGAWA, Morio SETAKA and Shoshichi NOJIMA: Radioimmunoassay for platelet-activating factor (PAF). *Lipids*, **26** (1991) 1126-1129.

参考文献

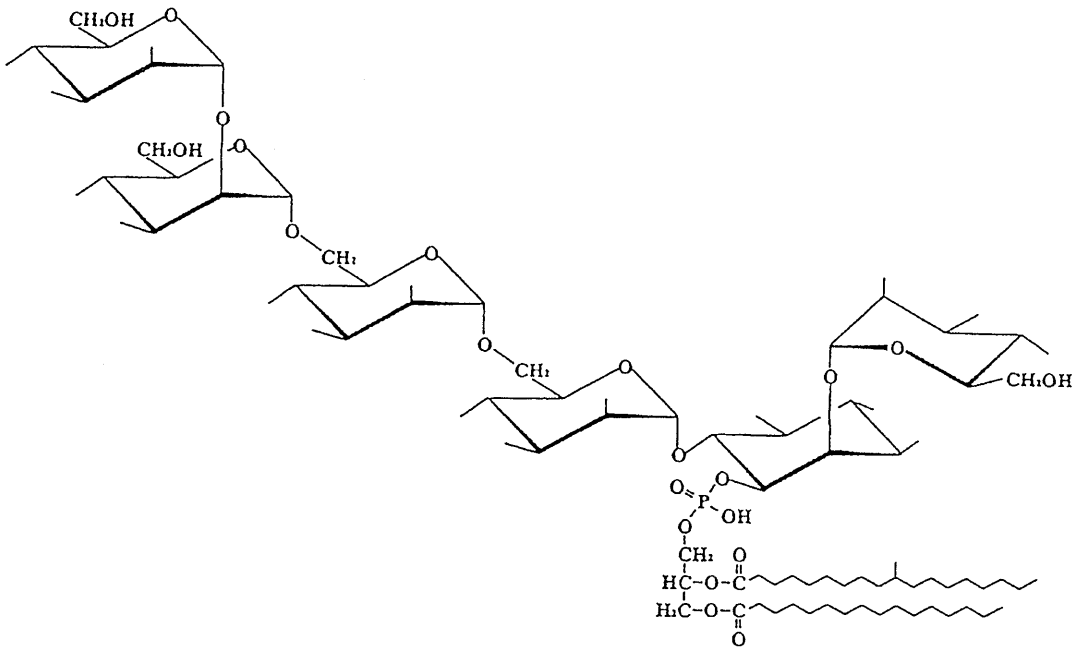


図1 ホスファチジルイノシトールペンタマンノシド (PIPM)

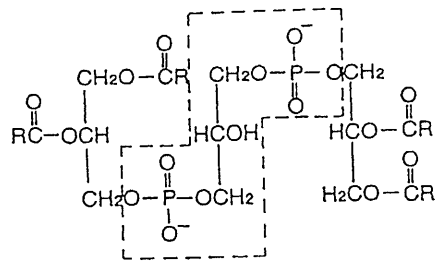


図2 カルジオリピン抗原のエピトープ

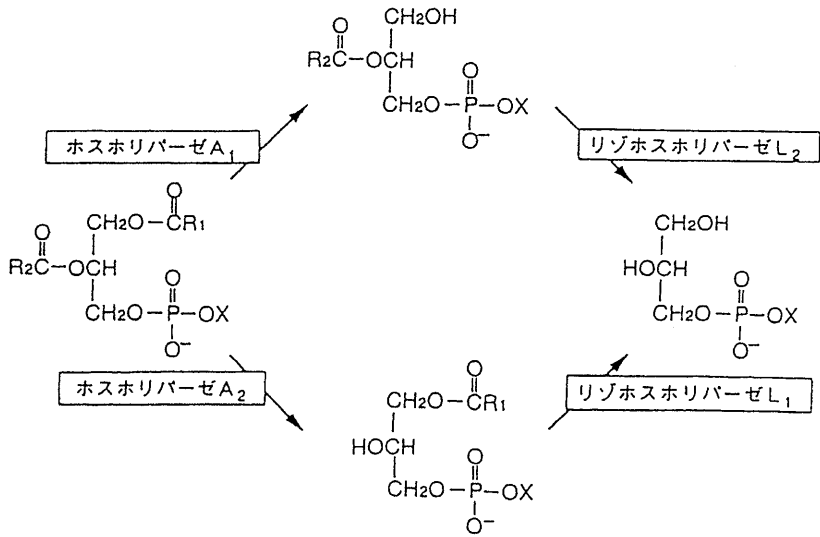
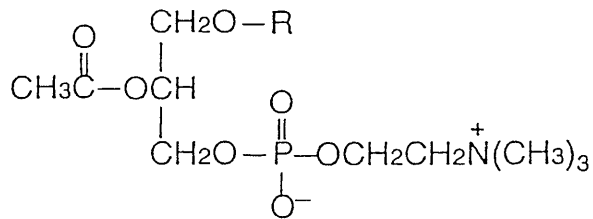


図3 リン脂質脱アシル化酵素



R: C₁₆₀またはC₁₈₀

図4 血小板活性化因子

表 1 大腸菌膜リン脂質脱アシル化酵素

酵素	細胞内局在性	基質特異性	位置特異性	Ca ⁺⁺ 要求性	分子量
DR-ホスホリパーゼ A <i>pld A</i>	外 膜	グリセロリン脂質 リゾリン脂質 トリアシルグリセロール	A ₁ > A ₂ L ₁ , L ₂	+	30,000
DS-ホスホリパーゼ A	細胞質	ホスファチジルグリセロール		-	
リゾホスホリパーゼ L ₁ <i>pld C</i>	ペリプラズム	リゾリン脂質 モノアシルグリセロール	L ₁ > L ₂	-	39,500
リゾホスホリパーゼ L ₂ <i>pld B</i>	内 膜	リゾリン脂質	L ₁ < L ₂	-	39,000

医学博士佐々木和夫氏の「中枢神経系
の統合機能」に対する授賞審査要旨

佐々木和夫氏の研究は、脳組織の発生する電気的ならびに磁気的な信号を指標にして、脳の統合的な活動の仕組みを解明することを旨としたものである。特に、ネコとサルにおいて小脳と大脳連合野との間に結合路のあることを見出し、サルの前頭連合野に随意運動を抑制する中枢を発見してその存在を脳磁計を用いて人においても確認し、さらに、人の前頭知的シータ波を脳磁計を用いて記録し、その発生源の分布を明らかにする等の顕著な成果を挙げた。

佐々木和夫氏は昭和三〇年から三十七年まで、京都大学生理学教室において故大谷卓造教授の薫陶を受け、脊髄運動神経細胞の膜の適応現象がシナプス活動により変化することを見出した。また中脳の動眼運動神経細胞からの細胞内誘導を初めて行った。昭和三八年から三年間オーストラリア、キャンベラに赴き、エックルス教授の下で小脳皮質の神経回路網の解析を行い、エックルス、リナス、佐々木の連名で多数の論文を発表し世界の注目を集めた。昭和四三年から一年半ドイツ、マックスプランク脳研究所のハスラー教授に招か