L-メチオニンの静脈内注入がめん羊のメチオニン およびシスチンの代謝回転率に及ぼす影響

小林亮英・牧野憲二・小川キミエ

農林水産省草地試験場家畜部，栃木県西那須野町 329-27

(1978. 5. 22 受付)

アイソトープ希釈法によって物質の代謝プールへの entry rate (以下代謝回転率と記す)を測定する方法が、反芻家畜の脂肪酸¹⁾、グルコース^{1,2)}、ケトン体¹⁾あるいは尿素³⁾などの代謝の研究に適用されてきた。代謝回転率はこれらの物質の、動物の全身における合成量または利用量とみなし得るためである。しかし、この方法を必須アミノ酸に適用して、代謝回転率を測定した報告はごく少ない。必須アミノ酸の場合には、体蛋白質の分解によるアミノ酸の出現が、代謝回転率の大部分を占めると考えられる。この部分は比較的安定しているため、外因性アミノ酸の増減と代謝回転率の増減とが近似的に同じ値を示す可能性がある。この点を確かめるため、子めん羊の血管内へメチオニンを注入して、メチオニン代謝回転率の変化を調べた。また、メチオニンを注入すると、シスチンの生合成が増加することが予想される⁴⁾。そこでシスチンについても代謝回転率を測定し、メチオニンからの転換量を調べた。

材料および方法

供試動物： 去勢雄子めん羊3頭 (A, B およびCとする)を用い、120 kcal/kg^{0.75}を基準としてアルファルファ成形成乾草 (可消化粗蛋白質 15%, 可消化養分総量 52%)を与えた。給与時刻は1日1回 19時として、採食に伴う代謝変化が日中は生じないようにした。このような給与方法を40日間続けたのち、アイソトープ希釈法によってメチオニンとシスチンの代謝回転率を測定した。実験前日に、各動物の両側頸静脈にポリエチレンカテーテルを挿入した。

アイソトープ希釈法： 午前7時から700分間にわたって、¹⁴C(methyl)-L-メチオニンおよび³⁵S-L-シスチンを片側頸静脈から連続的に注入した。注入量は各々8μCi/hrである。注入開始150分後から、反対側頸静脈より12回にわたって血液を採取して、アミノ酸の分析に供した。また、上記のトレーサーの注入開始300分後からは、異なる量のL-メチオニン (表1)をめん羊AおよびBの血管内に注入し、メチオニンとシスチンの代謝に及ぼす影響を調べた。めん羊Cは対照 (無注入)とした。

分析および計算： 血液サンプルは採取後ただちに冷却し、血漿を分離して除蛋白を行ない、内部標準物質としてノルロイシンを加えた。これらの試料の各アミノ酸濃度を、アミノ酸自動分析計 (日本電子・5AH)によって測定した。この測定時にメチオニンとシスチンのフラクションを採取し、液体シンチレーションカウンター (Tri Carb 2003)を用いて各々の放射活性を測定した。これら両アミノ酸の比放射能 (プラトー到達後)でアイソトープ注入量を除して、各々の代謝回転率を求めた。

結果および考察

L-メチオニンの注入を開始すると、めん羊AおよびBの血漿メチオニン濃度はしだいに上昇し、330分後には表1に示したような値になった。同様に、シスチン濃度にも上昇がみられた。その他のアミノ酸については、L-メチオニン注入による明らかな濃度変化は観察されなかった。めん羊Cのメチオニンとシスチンにおける濃度と比放射能とを、他の2頭のL-メチオニン注入前と注入

Effect of Intravenous Infusion of L-Methionine on the Entry Rate of Methionine and Cystine in Sheep: Ryōei KOBAYASHI, Kenji MAKINO and Kimie OGAWA (Animal Science Division, National Grassland Research Institute, Nishinasuno, Tochigi-ken 329-27)

Table 1. Effect of continuous intravenous infusion of L-methionine on the entry rate and concentration in plasma of methionine and cystine.

Sheep	Body weight (kg)	L-Met infusion rate (mg/hr)	Entry rate (mg/hr)		Conc. in plasma (mg/l)	
			Met	Cys	Met	Cys
A	26.9	—	88.2	27.6	0.88	1.42
		99.4	205.0	42.8	5.52*	2.62*
B	23.4	—	101.8	29.8	0.82	1.71
		49.7	162.0	37.5	3.21*	2.67*
C	21.9	—	82.7	35.1	1.36	3.36

* Observed at 330 min after L-Met infusion.

中とに相当する時間帯に分けて比較したところ、何ら時間帯による差異はみられなかった。このことから、採食12時間後から24時間後にかけて、アミノ酸代謝は比較的安定していたと考えられる。

トレーサの注入開始から約240分経過すると、メチオニンおよびシスチンの比放射能はプラトーに達した。のちにL-メチオニンを注入すると、メチオニンでは約30分、また、シスチンでは約300分後に比放射能が新たなプラトーに達した。これらの比放射能から求めた代謝回転率を表1に示した。L-メチオニン注入によるメチオニン代謝回転率の増加は、めん羊A、Bともに注入量の約120%に相当している。体内で生合成される物質、例えばグルコースの場合には、外因性グルコースの増加によって、内因性グルコースの代謝回転率が低下することが観察されている²⁾。しかし、必須アミノ酸であるメチオニンにおいては、そのような現象は起らないようである。体内の遊離アミノ酸は、比放射能を異にするいくつかのコンパートメントに分けることができる。頸静脈血漿中メチオニンの比放射能を用いた場合は、代謝回転率の増加から外因性メチオニン量を推定すると、実際よりも過大な値が得られる傾向があることが示された。しかし頸動脈血漿中のアミノ酸の比放射能は、頸静脈血漿中のそれに比べて高いといわれている⁵⁾ので、これを用いて外因性アミノ酸量を推定すれば、より実際に近い値が得られる可能性がある。

めん羊ではシスチンが制限アミノ酸となりやすい⁶⁾ので、メチオニンからシスチンへの転換が多いことが予想

された。L-メチオニン注入によるシスチン代謝回転率の増加は、めん羊A、Bともに注入量の19%に相当する結果となった。一方、WILLIAMS and LENG⁴⁾はめん羊の第4胃内にDL-メチオニンを注入し、注入量の60%に相当するシスチン代謝回転率の増加を観察している。シスチンの先駆物質であるメチオニンを血管内へ注入すると、消化管内へ注入した場合に比べて、シスチンの生合成が著しく少ないことがヒトで示され⁷⁾、めん羊でも予想されている⁸⁾。本実験で、WILLIAMS and LENG⁴⁾の成績に比べて小さな値が得られたのは、このことが主因と思われる。

文 献

- 1) ANNISON, E. F., R. E. BROWN, R. A. LENG, D. B. LINDSAY and C. E. WEST, *Biochem. J.*, **104**: 135-147. 1967.
- 2) JUDSON, G. J. and R. A. LENG, *Br. J. Nutr.*, **29**: 159-174. 1973.
- 3) NOLAN, J. V. and R. A. LENG, *Br. J. Nutr.*, **24**: 905-915. 1970.
- 4) WILLIAMS, A. J. and R. A. LENG, *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, **9**: 326-330. 1972.
- 5) REILLY, P. E. B. and E. J. H. FORD, *Br. J. Nutr.*, **26**: 249-263. 1971.
- 6) HOGAN, J. P., *J. Dairy Sci.*, **58**: 1164-1177. 1975.
- 7) STEGINK, L. D. and L. D. BESTEN, *Science*, **178**: 514-516. 1972.
- 8) TAO, R. C., J. M. ASPLUND and L. C. KAPPEL, *J. Nutr.*, **104**: 1646-1656. 1974.