生物組織に於けるビタミンCの生成に就て (第II報)

Biosynthesis of *l*-Ascorbic Acid in Tissue (II)

ラッテ保生腸管内ビタミンCの生成とSH化合物の影響

Effect of SH compounds and SH Inhibitors on the
Formation of *l*-Ascorbic Acid in Intestine.

(昭和33年4月22日受理)

白 神 敬 子 板 倉 幸 枝 小 川 政 禧
(Keiko Shirakami) (Yukie Itakura) (Masayoshi Ogawa)

1) In the lumen of rat small intestine, D-glucurono lactone was converted to *l*-ascorbic acid, and this was promoted by the presence of SH compounds, such as glutathione (GSH) or cysteine, but inhibited by *P*-chloromercuri benzoate (PCMB), NaAsO₂, or CH₂ICOOH.

2) In the case of ascorbic acid formation from *d*-glucose, Robinson-ester, or Harden Young-ester neither of SH compounds nor their inhibitors were observed to have this effect.

3) Yet the biosynthesis of *l*-ascorbic acid from Cori-ester was conspicuously accelerated by oxidized glutathione (GSSG) or PCMB, and inhibited by GSH and cysteine.

4) These results suggest us that the phosphorylation of D-glucose to Cori-ester is the first and direct pathway of the biosynthesis of *l*-ascorbic acid from D-glucose in intestine.

I 緒 言

Smythe,¹⁾ King (1942), Isherwood,²⁾ Mapson (1954) 等による *d*-glucose よりビタミンCの生成は *d*-glucose oxidation(-4H) $\xrightarrow{\quad}$ *d*-glucurono γ -lactone $\xrightarrow{\quad}$ reduction

$\xrightarrow{(+2H)}$ *l*-gulonolactone $\xrightarrow{\quad}$ oxidation(-2H) $\xrightarrow{\quad}$ *l*-ascorbic

acid であろうとして居り、小川等³⁾ は、緑豆筋に添加した D-glucurono lactone よりビタミンCの生成はSH化合物により促進せられSH阻害剤により抑制せられるが、緑豆そのものよりのビタミンCの生成に対しては、SH化合物はこれを阻害しSH阻害剤は極めて顕著に促進する事を示した。本報中著者等は動物組織におけるビタミンCの生成とSH化合物並びにSH阻害剤の及ぼす影響につきて検索したが、Hassan,⁴⁾ Lehninger(1956)はラッテ肝浸出液に D-glucurono lactone を添加しこの際ビタミンCの生成を認め、又、他方ビタミンCを添加し置きこれが同時に分解せられる事を観察し前者が後者に勝る時、見掛けの上でのビタミンCの生成量が示されるとしたが著者等は氏らの示した様に肝浸出液に、D-glucurono lactone を添加したがビタミンCの生成は僅かで、本実験の目的には殆ど沿い難くラッテ小腸の

保生腸管を使用する事によつて容易にこの目的を達する事が出来た。然れ共従来小腸に関してビタミンCの生成に就いては、余り実験せられたものが見当たらないので本報中、これに就いて述べ度いと思う。

II 実験方法

約20時間絶食せしめた正常ラッテを頭部打撲、頸動脈切断により致死せしめ、直ちに小腸を採り Tyrode 液にて内容を洗滌したる後、重量1g宛に切り、供試液0.5cc宛を容れた後(両端は木綿糸で縛る)37°Cの恒温水槽中において Tyrode 液中に浮遊せしめ連続して空気を注入しながら15分間蠕動せしめる。この際、小腸組織内に吸収せられた供試物は血行がないので腸管組織内に当然貯えられる筈である故、腸管標本を切開しその中の添加物及び分泌粘液を Tyrode 液で洗滌後、濾紙にて十分に水を吸い取り、秤量後 Roe⁵⁾ 法により生成せられたビタミンCを測定した。なお、保生腸管における D-glucurono lactone よりビタミンC生成の条件につき検討したが腸管内容液は0.5ccとなし、基質の終濃度0.002乃至0.004M, Sørensen 磷酸緩衝液 pH 6.0 附近(0.006M), 作用(蠕動)時間15分間、温度37°Cを適当と認めたので以下この条件の許において凡ての実験を

行つた。

III 実験成績並びに結果

以上述べた様にラッテ小腸保生腸管内では D-glucurono lactone からビタミンCの生成する事が明らかである故、本項ではこの際、glutathione, cysteine の如き SH 化合物、並びに PCMB (p-クロール安息香酸第二水銀), NaAsO₂, CH₂ICOOH の如き SH 阻害剤が及ぼす影響に就いて観察した。

1) D-glucurono lactone よりビタミンCの生成とSH並びにその阻害剤の及ぼす影響。

本項においては既に述べた様に基質として、D-glucurono lactone と共に還元型グルタチオン (GSH), cysteine-HCl, PCMB, NaAsO₂, CH₂ICOOH 等を加えたものを保生腸管内に容れ、対照にはこれ等の代りに H₂O を加えて腸管内容を 0.5cc とし既に述べた様な条

件下に処理し小腸のビタミンC量を測定したるに次の第1表の如き結果を得た。

即ち、小腸保生腸管内における D-glucurono lactone よりビタミンCの生成は GSH により顕著ではなかつたが cysteine は著明に促進し、PCMB, NaAsO₂, CH₂ICOOH は何れも強く阻害し、GSH と PCMB の共存においては寧ろ、後者による阻害の影響が強く、cysteine と PCMB との場合においては互いに拮抗相殺し、cysteine と NaAsO₂ または CH₂ICOOH の共存においては後者による阻害の影響が強く現われた。(但し第1表の実験における SH 並びにその阻害剤濃度は凡べて 0.002M) とした。

2) d-glucose, 葡萄糖-6-リン酸並びに果糖-1, 6-二リン酸よりビタミンCの生成とSH並びにSH阻害剤の影響。

同様にして d-glucose, glucose 6 リン酸並びに果糖 1,6 二リン酸につきビタミンCの生成に及ぼす GSH, cysteine

第 1 表 D-glucurono lactone (d-g-l) (終濃度 0.004M) よりビタミンCの生成と SH 及び SH 阻害剤の及ぼす影響

体 重	基 質 d-g-l	GSH	cysteine -HCl	PCMB	NaAsO ₂	CH ₂ ICOOH	ビタミンC測定値 (mg %)			
							還元型	酸化型	総 量	同比率 (%)
250 (g)	- (対照)	—	—	—	—	—	7.2	3.6	10.8	69.2
	+ (対照)	—	—	—	—	—	10.8	4.8	15.6	100.0
	+	0.002 M	—	—	—	—	4.4	11.2	15.6	100.0
	+	—	0.002 M	—	—	—	16.0	6.4	22.4	143.6
	+	—	—	0.002 M	—	—	5.8	6.4	11.2	71.8
214 (g)	- (対照)	—	—	—	—	—	9.2	4.0	13.2	71.0
	+ (対照)	—	—	—	—	—	12.4	6.0	18.4	100.0
	+	—	0.002 M	0.002 M	—	—	16.4	3.6	20.0	107.6
	+	—	0.002 M	—	0.002 M	—	8.8	6.0	14.8	80.4
	+	—	—	—	0.002 M	—	7.8	6.8	13.6	73.9
210 (g)	- (対照)	—	—	—	—	—	5.6	5.2	10.8	58.6
	+ (対照)	—	—	—	—	—	15.6	2.8	18.4	100.0
	+	0.002 M	—	0.002 M	—	—	11.6	1.2	12.8	69.5
	+	—	0.002 M	—	—	0.002 M	6.8	4.8	10.8	58.6
	+	—	—	—	—	0.002 M	2.8	6.8	9.6	52.1

第 2 表 d-glucose (終濃度 0.004M) よりビタミンCの生成と SH 及びその阻害剤の及ぼす影響

体 重	基 質 d-glucose	GSH	cysteine -HCl	PCMB	NaAsO ₂	ビタミンC測定値 (mg %)			
						還元型	酸化型	総 量	同比率(%)
250 (g)	- (対照)	—	—	—	—	20.4	2.0	22.4	59.5
	+ (対照)	—	—	—	—	27.6	10.0	37.6	100.0
	+	0.002 M	—	—	—	32.0	3.6	35.6	94.6
	+	—	0.002 M	—	—	21.2	4.8	26.0	69.1
	+	—	—	0.002 M	—	20.0	4.4	24.4	64.8
	+	—	—	—	0.002 M	18.4	8.8	27.2	72.3
	+	—	—	—	—	—	—	—	—

第3表 glucose 6 磷酸 (G-6-P) (終濃度 0.002M) よりビタミンCの生成と SH 及 SH 阻害剤の影響 (供試ラッテ体重 230g, 190g, 270g の3頭(♂)に於ける平均値)

基質 G-6-P	GSH	GSSG	PCMB	NaAsO ₂	ビタミンC測定値 (mg %)			
					還元型	酸化型	総量	同比率(%)
— (対照)	—	—	—	—	11.1	5.7	16.8	91.3
— (対照)	—	—	—	—	11.6	6.8	18.4	100.0
+	0.002 M	—	—	—	10.5	4.8	15.3	81.3
+	—	0.002 M	—	—	12.7	4.1	16.8	91.3
+	—	—	0.002 M	—	12.4	5.3	17.7	96.1
+	—	—	—	0.002 M	20.8	4.1	24.9	135.3

第4表 果糖 1,6 二磷酸 ((F-1-6-P) (終濃度 0.002M) よりビタミンCの生成と SH 及 SH 阻害剤の影響 (供試ラッテ体重 206, 200, 253, 250, 231, 283, 178(g) の7頭(♂)に於ける平均値)。

基質 F-1-6-P	GSH	cysteine -HCl	GSSG	PCMB	ビタミンC測定値 (mg %)			
					還元型	酸化型	総量	同比率(%)
— (対照)	—	—	—	—	14.4	4.7	19.1	96.4
— (対照)	—	—	—	—	15.0	4.8	19.8	100.0
+	0.002 M	—	—	—	15.4	6.2	21.6	109.0
+	—	0.002 M	—	—	14.2	5.3	19.5	98.4
+	—	—	0.002 M	—	14.6	4.9	19.5	98.4
+	—	—	—	0.002 M	13.8	4.8	18.6	93.9

及び SH 阻害剤の影響を観察し上の第2, 第3, 第4の各表に示す様な結果を得た。

即ち, 保生腸管内に d-glucose, 葡萄糖 6 磷酸, 果糖 1,6 二磷酸を添加したものは何れもビタミンCの生成を認めたが, GSH, cysteine の如き SH 化合物の添加においても, また PCMB, NaAsO₂ の如き SH 阻害剤の添加においても殆ど類似の傾向を示して, 前項における D-glucurono lactone の場合の様な判然とした結果を与えなかつた。

3) 葡萄糖 1 磷酸よりビタミンCの生成と SH 並びに SH 阻害剤の影響。

抑々小腸における d-glucose の吸収に当り, 先ずその磷酸エステル化が行われるであろうが, SH 化合物はこれを促進するに拘わらず d-glucose より d-glucurono lactone 生成における脱水素反応 (-4H) に対しては寧ろ妨害する可能性が考えられ, またこれを促進するであろう所の SH 阻害剤は d-glucose の磷酸エステル化を妨害する事実が知られて居るので, これ等の影響を考慮して著者等は葡萄糖-1 磷酸を基質として同様の実験を試み次の第5表の如き結果を得た。

第5表の示す所によれば葡萄糖 1 磷酸よりビタミンCの生成に当り, 少数を除き大部分の実験において GSH, cysteine 等の SH 化合物はこれを阻害し, GSSG, NaAsO₂, PCMB 等の SH 阻害剤はこれを促進する傾向が

顕著であつた。従つてさき小川等³⁾の行つた植物発芽時におけるビタミンCの生成が SH 基の添加により阻害せられまた SH 阻害剤の添加により著明な促進をみた事は発芽組織中, 葡萄糖 1 磷酸の存在を想像せしめる。また少く共, 小腸における葡萄糖の吸収時にはその磷酸エステル化が考えられるが, これとは別に糖の磷酸エステル化がビタミンC生成の前提となるか否かは此処に結論し難い。而しながら d-glucose からビタミンC生成の第一歩の段階である D-glucurono lactone の生成が脱水素 (-4H) によるものである事は SH 基により阻害せられ, SS 基により促進せられる事の可能性を裏付ける。従つて小腸組織において葡萄糖 1 磷酸からビタミンCの生成が SH 阻害剤により極めて顕著に促進せられた事は先ず葡萄糖の磷酸エステル化に次いで葡萄糖 1 磷酸から D-glucurono lactone の生成が直接の経路であろうと想像する。

IV 総括並びに考察

ラッテ小腸の保生腸管を用いて動物組織におけるビタミンCの生成と SH 化合物並びにその阻害剤の及ぼす影響につき検討した処を総括すれば次の如くなる。

1) ラッテ小腸保生腸管において D-glucurono lactone, 葡萄糖-1 磷酸から著しくビタミンCの生成せられる事を認めた。

第 5 表 葡萄・1- 磷酸 (G-1-P) (終濃度 0.002M) よりビタミン C の生成と SH 及その阻害剤の影響

体 重	基 質 G-1-P	GSH	cysteine -HCl	GSSG	PCMB	NaAsO ₂	ビ タ ミ ン C 測定値 (mg %)			
							還元型	酸化型	総 量	同比率 (%)
245 (g) ♀	- (対照)	—	—	—	—	—	7.2	4.4	11.6	53.7
	+ (対照)	—	—	—	—	—	17.6	4.0	21.6	100.0
	+	0.002 M	—	—	—	—	11.2	8.8	20.0	92.5
	+	—	—	—	0.002 M	—	15.6	8.0	23.0	106.5
	+	—	—	—	—	0.002 M	23.6	6.0	29.6	137.0
190 (g) ♀	- (対照)	—	—	—	—	—	9.6	2.0	11.6	74.3
	+ (対照)	—	—	—	—	—	10.8	4.8	15.6	100.0
	+	0.002 M	—	—	—	—	8.0	3.6	11.6	74.3
	+	—	0.002 M	—	—	—	9.6	4.8	14.4	92.3
	+	—	—	0.002 M	—	—	13.6	4.8	18.4	118.0
281 (g) ♀	- (対照)	—	—	—	—	—	16.4	5.2	21.6	83.0
	+ (対照)	—	—	—	—	—	20.4	6.0	26.0	100.0
	+	0.002 M	—	—	—	—	20.8	3.6	24.4	93.8
	+	—	—	0.002 M	—	—	24.4	6.8	31.2	120.0
	+	—	—	—	0.0002 M	—	26.8	7.2	34.0	130.7

2) この際、GSH, cysteine の如き SH 化合物はこれを促進したが PCMB, NaAsO₂, CH₂ICOOH の如き SH 阻害剤はこれを抑制した。

3) 葡萄糖, 葡萄糖-6- 磷酸, 果糖-1,6- 二磷酸等らビタミン C の生成に当り SH 化合物並びに SH 阻害剤は何れもこれを抑制し判然たる結果を与えなかつた。

4) 葡萄糖-1- 磷酸からビタミン C の生成は SH 基によつて妨害せられ SH 阻害剤によつて顕著に促進せられこの点判然たる結果を与えた。

5) 斯様な事実は生物組織中ビタミン C の生成に当つては先ず葡萄糖は、葡萄糖-1- 磷酸にエステル化せられ次で脱水素により D-glucurono lactone を生ずる経路のある事を示唆するものと想像する。

終りに臨み予備実験において石川幸子, 内藤美治, 増田明子, 宮地和代諸姉の御協力に負う所が多いので茲に深謝する次第である。

参 考 文 献

- 1) Smythe, King: *J. Biol. Chem.* 142, 529 (1942)
- 2) Isherwood, Mapson: *Biochem. J.* 56, 1 (1954)
- 3) 小川他: 同時報告 (本誌)
- 4) Hassan, Lehninger: *J. Boil. Chem.* 223, 123 (1956)
- 5) *Method of Vitamin Assay 2nd Edition* (1951)
(椋山女子大学家政学部食物学教室)

小麦フレークと全粉乳と砂糖との混合飼料の栄養価試験

小麦フレーク, 全粉乳, 砂糖の混合飼料 (A) と全粉乳だけの飼料 (B) とフライド・ベイコン, 乾燥全卵, コーヒーを含む飼料 (C) を成長期のラットに与え, 一般の朝食の栄養価を比較した。その結果は, 飼料 A, C 共に良好であり, 特に C が優れている。併し病理学的には C は脂肪肝となり, B は血中蛋白質量, ヘモグロビンが低下する。一方 A は何らの異常も認められなかつた。次

に平均生存日数を比較すると A が最も優れ C がこれに次いでいる。また飼料 A にミネラル, ビタミンを添加すると何れの場合でも生存日数は増加するが, ビタミンよりもミネラルを添加した場合に生存日数は最大となる。

G. H. Reussner, Jr., R. Thiessen, Jr.: *Food Res.*, 23, 244 (1958)

(五十嵐脩)