食蛋白レベルが尿クレアチニン排泄量におよぼす影響に関する研究

A Study on the Influence of the Dietary Protein Level upon the Urinary Creatinine Excretion

(昭和36年2月6日受理)

富田 義雄
(Yoshio Tomita)

The effects of ingested protein level on urinary creatinine excretion were examined in adult male subjects in a long-term test period. Results obtained were as follows:

1) Two human male subjects received the basal diet containing 2400 Cal. and 80 g. of protein daily for 20 days, and then the protein level was reduced to 20 g. for 16 days, successively 40 g. for 40 days or more. According to the protein deficit, urinary creatinine levels were significantly lowered by 7 to 12% in 20 g. protein level and by 13 to 17% in 40 g. protein level, compared with the value of the basal diet. The creatinine coefficient was also decreased. These findings were confirmed by rats, when the protein level was lowered to 5%.

2) In the case of high protein administration or qualitative variations of ingested protein, there were no changes on creatinine excretion in human adult subjects. In adult rats, creatinine level was slightly elevated when the dietary protein level was increased from 15 to 25%, but this increments were statistically insignificant.

3) As the free and phosphate creatine of rat muscle were found fairly constant independent of the quantity of the protein intake, the lowered level of creatinine excretion by protein restriction may not be attributed to spontaneous conversion of muscle creatine fraction to urinary creatinine as suggested by Borsook et al.

ま え が き

クレアチニンの尿中排泄量は一日全量としてみると同一個人で恒定しており、また単位体重当りの排泄量(クレアチニン係数)は個人差と無関係にほぼ一定値を示すことは古くから知られている事実である¹⁾。一方これと同時にクレアチニン窒素の供給源である蛋白質の摂取量を変えてもその排泄量には変化がなく、クレアチニン代謝と食蛋白との間に直接的な関係がみられないこともFolin以来幾多の研究者によって確かめられている²⁻⁵⁾。

こうした事実からFolinは尿クレアチニンを重要な内因性窒素代謝産物であるとし、蛋白質代謝を考える上の有力な指標となることを指摘した。その後クレアチニンの前駆物質が筋中クレアチンであり⁶⁻⁷⁾、クレアチン生成にはアルギニン、グリニンおよびメチオニンなどの関係することが明かにされてきたが⁸⁻¹⁵⁾、現在においても尿中クレアチニンが蛋白質代謝の主要な産物として生理学あるいは栄養学研究に果している役割はかわらない。

その後Borsook & Keighleyの“continuing metabolism”の学説があらわれ¹⁶⁾ ついで重窒素でラベルしたアミノ酸を用いたSchoenheimerらの一連の実験成績がでるにおよんで、体内蛋白代謝がいわゆる“dynamic equilibrium”を保っていること、しかも組織蛋白と食餌性起源窒素との置き替わりののはげしいことなどが明かとなった¹⁷⁾。このように蛋白代謝の考え方はFolin以来大きく変ったが、しかしクレアチニン排泄量の恒定性という事実自体についてはなんらの批判なく、ひろく信じられているのである。一方こうした恒定性の理由としてBorsookらは¹⁸⁾クレアチニンは筋クレアチンから非酵素的に生体内の生理的な物理化学的条件下で遊離するものであって、筋クレアチンの量は比較的食蛋白摂取量に影響されず安定したものであるから、これから由来するクレアチニンもまた一定値を示すものであらうとした。

ところでクレアチニン排泄量が一定であるという事実自体に対して問題がないわけではない。その一つはクレ

アチニン測定法の進歩の問題であり、その二つは実験期間の問題である。まず第一の点については光学的測定器械の進歩もさることながら Folin 法による尿クレアチニン測定法自体に問題があり、井上、小石¹⁹⁻²⁰⁾はこれを検討して Folin の改良法を考案してその測定精度を高めた。その結果尿中クレアチニン排泄量のわずかな変動を正確にとらえることが可能となった。また第二の点については Folin をはじめほとんどの研究者が、わずか数日間の観察で尿中クレアチニン排泄量の変動のないことを主張しているが、すでに小石²¹⁾はクレアチニン排泄量に日内変動のあることより生体の生理的条件に応じて変ると述べており、井上²²⁾はクレアチニン排泄レベルが食蛋白量に応じて変りうることを観察している。また Kinney ら²³⁾は蛋白欠乏症状の現われるようなきびしい低蛋白食餌によってクレアチニン代謝に変化がおきたと述べ、さらに Karambelkar ら²⁴⁾は植物性蛋白を動物性蛋白におきかえることによってクレアチニンが増加したという。すなわち従来恒定とだけ考えられていたクレアチニン代謝レベル自体が生体条件、ことに食蛋白レベルの如何によって変動しうるとすれば、その変動の様相を明かにすることは生理学的にも栄養学的にもきわめて有意義であるといわねばならない。

こうした観点に立って著者はすでに井上²⁰⁾が見出した正確なクレアチニン定量法を用い、長期間の厳密な実験条件下で、クレアチニン排泄量の恒定性について再検討を行なったのである。以下のべるようにまず食蛋白の量ないし質がどのようにクレアチニン排泄レベルに影響するかを成人男子の人体実験で検討し、低蛋白投与でクレアチニン排泄レベルが有意に低下することを観察した。そこでこの成績をさらに確認するために成熟白鼠を用いて試験を行なったのである。以下実験成績を人体試験に関する第一部と成熟白鼠に関する第二部とに分けて報告する。

第 1 部 成人男子についての実験

I 実験方法

研究室作業に従事する健康成人男子 3 名 (Y. N. 23 才 G. I. 35 才, H. K. 28 才) を被検者とし、1952 年 8 月末より 12 月初旬にいたる約 100 日間にわたり低蛋白食負荷試験を、また 1953 年 6 月中旬より 9 月初旬にいたる約 90 日間にわたり高蛋白食負荷試験あるいは蛋白食質を変えた食餌試験を行ない、食餌蛋白の量あるいは質がクレアチニン排泄レベルにおよぼす影響について観察した。

まずはじめに行なった低蛋白食負荷試験の食餌条件について述べると、被検者 2 名にあらかじめ熱量約 2400

表 1 実験食餌構成 (その 1 蛋白レベルの変化)

食 餌 組 成	熱 量 (Cal)	基準食		低蛋白食		高蛋白食	
				20g/日	40g/日	植物性	動物性
				2420	2470	2460	2830
				2420	2470	2460	2830
投 与 期 間	G. I. (35 才, 8)			21 日間	16 日間	42 日間	-
				21 日間	16 日間	50 日間	21 日間
				19 日間	16 日間	50 日間	21 日間

注 1) 以上のほか米を各食期を通じ主要蛋白源として使用した。

Cal, 蛋白質約 80 g (動物性 30%) で、その他の栄養素を十分量含む基準食を約 20 日間与え、ついで熱量一定のまま蛋白質のみを約 20g, さらに 40g のレベルとした低蛋白食を負荷した。引き続き高蛋白 (110~150 g) 食期に移したが、この際 1 名は植物性蛋白のみを、他の 1 名には動物性蛋白のみを負荷した (表 1 参照)。各食期は 20 g 低蛋白食期 16 日間, 40 g 低蛋白食期 42~50 日間, また高蛋白食期 21 日間である。なおこの場合、ほかに 1 名を対照として全期間摂取蛋白を、60~80 g の間に保った自由食餌を与えた。

つぎに第 2 の実験として蛋白の質を変えた際のクレアチニン排泄量を検討するため同じく前 2 名を被検者として蛋白摂取レベルはほぼ 60 g とし食蛋白の質を表のように植物性、動物性および動植混合の 3 種に区別して変化させた。ただしこの場合摂取蛋白 60 g のうち約 30 g を米蛋白で与えて一定とし、残りの 30 g 分について食質を変

表 2 実験食餌構成 (その 2 蛋白食質の変化)

食 餌 組 成	熱 量 (Cal)	植物性 (大豆)		豚 肉 全 卵 混 合		植物性 高蛋白
						高蛋白
						高蛋白
						高蛋白
投 与 期 間	Y. N. (24 才, 8)					-
						-
						-

注 1) 米蛋白摂取 30g は一定とし、約 30g 量をここに記した食品蛋白よりうるよう計画した。
2) 実験期間は 1953 年 7 月より 1 例では 70 日間、他例では 90 日間である。

えるように計画した。なお各食期はいずれも2～3週ないしそれ以上の長期である。以上の実験食の具体的事項は献立、調理法をあわせて別に報告した²⁾。なお成績の正確を期するため三回の食事時間を厳守し、献立は同一食期は同じとしたが水分摂取は自由とした。被検者は実験期間中研究室に宿泊し起床8時、就寝12時を守らせた。

以上2組の実験条件下におけるクレアチニン排泄量の変動を観察したが、あわせて尿素、アンモニア、尿酸などの尿窒素成分を測定し、さらに各食期ごとに尿窒素排泄の安定した時期をえらんで(5～10日間)食餌窒素、糞便窒素の分析を行ない窒素出納を検討した。分析に供した尿試料は午前8時を界とした一日全尿である。このほか体重計測、一般身体症状の異常の有無などについて絶えず注意をはらった。測定方法であるが、クレアチニンについては従来のFolin法を改良した井上・小石法²⁰⁾を用いその測定にはとくに注意した。尿中総窒素は半微量キールダール法、尿素およびアンモニアはFolinの通気法、尿酸はFolinの直接法によった。

Ⅱ 実験成績

1. 低蛋白食負荷による影響

被検者2名(Y. N. およびG. I.)について摂取蛋白量1日当り80gの基準レベルから20gおよび40gの低蛋白レベルにおとし、さらに110～150gの高蛋白レベルにあげた場合のクレアチニン排泄量、クレアチニン係数、

図1 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量との関係(その1)

注1) 熱発

2)区間は食質条件をひんばんに変えたため成績を省略した。

3) ←この期間の平均値を表3に示した。

表3 クレアチニン排泄レベルの変動

蛋白摂取量(g/日)		80	20	40	110～140
被検者	N	15	8	12	7
	I	16	8	14	7
体 重 (kg)	N	49.0	48.3	47.8	49.8
	I	50.2	48.7	48.1	49.1
N 出 納 (g/日)	N	+1.9	-1.0	+0.6	+1.0
	I	+1.1	-1.1	-0.1	+1.9
尿総窒素量(g/日)	N	9.2	2.6	4.2	14.7
	I	9.5	2.9	4.9	13.1
クレアチニン (g/日)	N	1.35	1.26	1.17	1.38
	I	1.38	1.22	1.14	1.26
クレアチニン係数 (mg/kg)	N	27.5	25.8	24.5	27.7
	I	27.5	25.0	23.7	25.6

注 各食期末期をえらんで、その期間の各1日平均値で示した。

体重および窒素出納について示すと図1および図2のようである。なお図の矢印で示した期間について窒素出納、総窒素排泄量、クレアチニン排泄量、クレアチニン係数および体重の各平均値を求めて表3に示した。また全期間60～80gの蛋白摂取をした対照(H. K.)について各月の平均を表4に示した。

まずクレアチニン排泄量が低蛋白食によってどのように影響されるかを図1について検討すると基準食期では総窒素排泄量とともに安定したほぼ一定値をとり経過する。蛋白レベルが20gに低下すると総窒素排泄量は漸減して約10日後に2.6g/日のレベルで安定して負の平衡を保つにいたるが一方クレアチニン排泄量の変化は総窒素排泄量ほど著明でなく、したがってはじめの数日間の値はFolinのいうように変化していないと見なすことができる。しかしその後徐々に段階的に低下して約10日後では1.26g/日の低い値になる。この値は基準食期の平均1.35g/日に比べ約7%の低下にすぎないが、図でみるようにクレアチニン排泄量の日間変動がきわめてわずかであるため両者の差は推計学的にも有意であり、低蛋白食によりクレアチニン排泄レベルが低

図2 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量との関係(その2)

- 注 1) 熱 発
2) 植物性高蛋白日間投与。
3) $\longleftrightarrow$ この期間の平均値を第表に示した。

下することは確かである。ついで蛋白レベルを倍量の40gに増すと約2週間後窒素出納は零平衡に改善されるが、クレアチニン排泄量は依然としてきわめて徐々に低下をつづけ(発熱時の異常高値を除く)、約1ヵ月後には平均1.17g/日となり基準食時に比べ約13%減の低レベルとなる。この関係は図2に示した他の一例についても全く同様であり、低蛋白食投与後約50日におけるクレアチニン排泄レベルは基準食時のその約17%減となっている。以上はクレアチニン排泄量の全一日量についてみたのであるが、クレアチニン係数としても全く同一の変化が証明される。なわち図1、2でみるように低蛋白食期では体重の減少がみられるが、これはクレアチニン排泄量(一日量)の低下に比べてその程度が比較的に軽いためにクレアチニン係数も低蛋白投与で漸減することとなる。その低下度は表3のように基準食期の平均27.5に対し、両例とも20g低蛋白食末期で6~9%減、40g低蛋白食末期で10~14%減となり、その差はいずれも推計学的に有意であった。この事実はクレアチニン排泄量の低下が低蛋白食による形態的变化つまり筋肉量の減少によるものでなく、なんらかの機能的変化に帰因するものであることを物語る点で重要である。

つぎに低蛋白食より引続き高蛋白食に移した場合について検討する。図1は植物性のみで1日当り150gの高蛋白食を3週間与えた場合であるが、クレアチニン排泄量およびクレアチニン係数ともかなり速かに上昇し、末期には実験開始時の標準値とほぼ同じ値に回復する。これは図2の例で動物性約50%の高蛋白食(110~140g/日)を2週間与えた場合でも同様である。すなわち長期の低

蛋白食投与によって低下したクレアチニン排泄レベルも摂取蛋白量を増加して、体重回復と窒素源の体内蓄積の増加を計ると、ふたたび正常値に復することがわかる。ただこの場合排泄レベルは基準食期のレベルを上回ってはいない点が注目されるが、これについてはあとに述べる。

以上2例についての長期蛋白負荷試験を行なった結果、尿クレアチニン排泄レベルは摂取蛋白レベルに応じて変動し、ことに摂取蛋白量を制限することにより一定期間の後にはかなりの程度低下することを確認した。なお表4の対照例ではクレアチニン排泄量は夏低冬高の季節変動傾向をみるのみであって全体として安定した値を示しており、この事実は前2例の変動が摂取蛋白量に帰因するものであることを傍証するものであろう。

表4 クレアチニン排泄量の季節変化

(1952年)

	8月	9月	10月	11月	12月
日 数	19	29	31	18	6
体 重 (kg)	51.0	50.6	50.7	51.6	52.2
総窒素量 (g/日)	7.7	8.7	9.0	9.7	9.8
クレアチニン (g/日)	1.43	1.46	※※ 1.49	※ 1.48	※※ 1.52
クレアチニン係数 (mg/kg)	27.4	28.5	29.1	28.8	29.1

注 ※は5%, ※※は1%の危険率で、それぞれ8月値に対し有意差のあることを示す。

2. 高蛋白食負荷の影響

つぎに摂取蛋白レベルを正常値から高値に引上げた場合の成績について述べる。図3は蛋白量1日当り約60gの基準食を48日間与えたのち、つづいて摂取蛋白レベルを倍量の約120gとした際の成績である。なお前と同様矢印区間の各測定値の平均を表5に示した。

まず窒素出納をみると基準食期全般にわたりほぼ零平衡を維持しているが尿中総窒素排泄量は前半期の卵蛋白30g負荷時に低く、後半期の植物性蛋白負荷時にやや高い傾向がみられ、引続きさらに大豆蛋白60gを負荷した高蛋白食期に移ると蓄積窒素量は少なく、すみやかに負の平衡を維持したまま経過することが注目された。一方クレアチニン排泄量をみると食質変化による影響はみられず、高蛋白食期においてもほとんど変化なく、むしろ

図3 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量
との関係(その3)

表5 クレアチニン排泄量の変化
(被検者, G. I.)

	食 質	蛋 白 60g/日		蛋 白 120g/日
		全卵蛋白 30g	植物性 のみ	植物性 のみ
日 数 (日)		8	14	13
体 重 (kg)		52.9	52.4	52.2
窒 素 出 納 (g/日)		+ 0.3	- 0.2	- 0.5
尿 窒 素 分 画	総 N 量 (g/日)	6.7	7.7	13.3
	尿 素 N 量 (g/日)	4.9	6.5	11.6
	アミノ酸 N 量 (mg/日)	394	453	713
	尿酸 N 量 (mg/日)	134	154	198
	クレアチニン量 (g/日)	1.31	1.28	※※ 1.24
	クレアチニン係数 (mg/kg)	24.7	24.5	※※ 23.7

注 ※※は1%の危険率でいずれも基準食値(60g/日)に対して有意差のあることを示す。

末期にはわずかながら低下の傾向をすら認めた。この成績は尿クレアチニン排泄レベルは高蛋白負荷によっても正常レベル以上には容易に引上げえないことを示しており、摂取蛋白レベルとクレアチニン排泄レベルがつねに

は平行して変動するものではないことを物語っている。

前項では高蛋白負荷によってクレアチニン排泄量が上昇することを示したが、これは低蛋白食によって正常以下に低下したレベルを正常値に回復さすという意味での増加であってこの点は十分留意すべきである。これらの成績を併考すると、クレアチニン排泄レベルは蛋白制限によって比較的影響を受けやすいが反対に蛋白を過剰に負荷しても正常レベル以上に上昇させることは困難であるといえよう。

3. 摂取蛋白の質変化の影響

以上摂取蛋白レベルの変化による影響について検討したが最後に蛋白の摂取レベルは一定のままで食蛋白の質のみを変えた場合の成績(2例)について述べる。食質変化の条件はすでに述べたように被検者2名に全蛋白量60gのうち30gは米蛋白で一定とし、残り30gを大豆、豚肉、全卵あるいはこれら三種の混合物で置換え各食期を2週ないし4週間続けた。こうして3ヵ月以上にわたった実験例の1例を図4および表6にまとめて示した。なお他の1例はすでに図3で示したとおりである。

図4の成績で尿中排泄窒素レベルが食質に影響され大豆蛋白、豚肉蛋白負荷時にやや高く、全卵蛋白時に低い傾向を示し、そのため窒素出納は大豆、豚肉負荷で負の傾向、全卵で正傾向、また混合食でほぼ零出納を示して

図4 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量
との関係(その4)

表 6 クレアチニン排泄量の変化
(被検者 Y. N.)

	食 質 動物性 (%)	植物性	豚 肉	全 卵	混 合
		0	50	50	30
日 数 (日)		19	8	13	14
体 重 (kg)		50.0	48.5	48.5	48.0
窒 素 出 納 (g/日)		- 1.1	- 1.1	+ 0.2	+ 0.1
尿 窒 素 分 画	総 N 量(g/日)	8.5	7.7	7.0	7.0
	尿素 N 量(g/日)	7.2	6.3	5.4	5.5
	アンモニア N 量 (mg/日)	425	395	626	439
	尿酸 N 量 (mg/日)	198	197	120	181
	クレアチニン (g/日)	1.43	1.41	※※ 1.33	※※ 1.28
	クレアチニン係 数 (mg/kg)	28.5	29.1	※※ 27.4	※※ 26.6

注 ※※は 1% の危険率でいずれも他の食質値に対し有意の差のあることを示す。

いる。尿窒素分画のうち尿素は総窒素とよく平行し、アンモニア・尿酸は食質に応じた変化がみられるがクレアチニン排泄量は植物性および豚肉蛋白期の約30日間では変化がみられず、それ以後わずかに低下の傾向をたどり約90日後の実験終了時では約11%の減少を示すにいった。このクレアチニン排泄量の変化の様子はアンモニア・尿酸と異なり蛋白質食質変化と無関係に独自のペースで進むように思われる。たとえばこの例では全卵期の終りでは植物性蛋白期に比し約6%減となっている。一方前掲図3の例ではこの両食質の投与順を反対にして約50日間与えたがクレアチニン排泄レベルに変化がみられなかった。そこでクレアチニン排泄量はこの程度の蛋白質食質の変化には影響されないが実験食負荷が長期になると個体条件になんらかの不利な変動を招き、そのためクレアチニン排泄量の漸減傾向を示すと解されるのである。この点は後に考察することとし、ここでは食質変化で一定傾向の変動がみられなかった点を強調するにとどめる。

第2部 成熟白鼠についての実験

I 実験方法

体重270~395gの成熟雄白鼠25匹を用い、蛋白レベル15%の基準食を2週間与えて条件を一定とした後、表7に示したように熱量一定で蛋白レベル25%の高蛋白食(5匹)および5%の低蛋白食(10匹)を、さらに他の1群(10匹)には引続き蛋白レベル15%の基準食を与え

表 7 食 餌 組 成

(飼料 100g中%)

食 品	25%群	15%群	5%群	無蛋白食
脱 脂 粉 乳	19	11	4	0
カ ゼ イ ン	19	11	4	0
小 麦 粉	23	14	5	0
澱 粉	29	54	77	90
胡 麻 油	5	5	5	5
マツカラム塩	4	4	4	4
パンピタン末	1	1	1	1
熱 量 (Cal)	355	352	348	346
蛋 白 質 (g)	24.6	14.3	5.2	0.09
カ ロ リ ー 比 (%)	(27.7)	(16.3)	(6.0)	(0.1)

た。食餌の量ならびに水分摂取は自由とした。なお観察期間はいずれも120日間であるが5%群では最後の40日間無蛋白食を与えた。動物は1匹宛 metabolic cage で飼育し、連日採尿して2~3日分を一緒にして尿中総窒素排泄量、クレアチンおよびクレアチニン排泄量を測定した。また一定間隔を置いて5日間宛3回糞便をあつめこの窒素量を測り、また食餌消費量を連日求めて、これに実測食蛋白N濃度を乗じて摂取窒素量を算出し、窒素出納を明かとした。体重計測は2~3日ごとに行なった。なお実験末期に動物を屠殺して大腿筋中のクレアチン濃度、燐酸分画、蛋白濃度を測定した。尿中クレアチニンの測定は酸性下で加圧加熱してこれをクレアチニンに変える Folin の間接法によった。筋肉クレアチンは diacetyl 法²⁶⁾、燐酸分画は高橋法²⁷⁾によった。

II 実験成績

1. 摂取蛋白レベルとクレアチニン排泄量の変化

すでに述べたように人体試験で低蛋白食投与後その尿中クレアチニン排泄量が低下することを明かにしたが成熟白鼠ではどうであろうか。図5は15%蛋白の基準食を2週間与えたのち摂取蛋白を5%におとし(79日間)、さらに無蛋白食を40日間与えた10例の平均値について、その体重、窒素出納、尿中クレアチン・クレアチニン排泄量、クレアチニン係数の変動を図示したものである。またこの成績を5%低蛋白食期前半・後半の2期に分ち各数値について整理し表8に示した。

まず窒素出納の状態をみると摂取窒素レベルの減少に応じて尿窒素も低下するが窒素出納はわずかに正であり、5%低蛋白食全期を通じて平均約25mg/日の蓄積を

図5 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量との関係(その5)

表8 低蛋白食白鼠の窒素出納と
クレアチニン排泄量

測定項目		食蛋白レベル		5 %		0 %
		15 %	前半	後半		
平均体重 (g)		365	369	372	328	
摂取熱量(Cal/100g体重)		15.8	13.2	14.0	13.5	
窒素出納 (mg/日)	食	餌	398	130	139	15
		尿	194	53	53	28
		便その他	66	56	56	24
		出納	+138	+21	+50	-37
クチレンア排 置量 ニ ン・クレ ア	総 量 (mg/日)	クレアチニン	11.6	5.3	7.0	5.2
		クレアチン	2.8	1.8	2.0	2.0
		計	14.4	7.1	9.0	7.2
	係 数 (mg/kg)	クレアチニン	31.7	14.3	18.8	15.9
		クレアチン	7.5	4.8	5.4	6.2
		計	39.2	19.1	24.2	22.1

示す。一方クレアチニン排泄量をみると、その日間変動がかなり大で人体の場合ほど安定した経過はみられない。25%あるいは15%レベルの蛋白摂取では比較的安定な経過をとると対照的である。しかしこの場合も低蛋白レベルによる排泄レベルの低下ははっきり認めることができる。すなわち15%の準備期の平均11.6mg/日という排泄レベルは低蛋白負荷で比較的急速に低下し約30日後で2.7mg/日の低値となるが(前半平均5.3mg/日)、そ

の後やや上昇して後半の40日では7.0mg/日のレベルを示している。すなわち5%低蛋白食により正常値の約60%にまで低下するのであって、その差はもちろん有意であった。つぎにこのようにクレアチニン排泄レベルの低い状態でさらに無蛋白食を与えると、負の窒素出納を示し体重も著明に減少するに反し、クレアチニン排泄量は比較的影響を受けず平均して5.2mg/日の値を示し、5%低蛋白食時とほぼ同レベルに留まっている。この所見は5%低蛋白食期にみられた低クレアチニン排泄レベルがほぼ生理的限界に近い値であったためと解することができよう。

以上はクレアチニン排泄総量としての所見であるが、これをクレアチニン係数としてみた場合も全く同様のことがみられるのである。

なおクレアチンは体重1kg 当り約2.0mg 前後がつねに排泄されており、これは低蛋白食による影響をみなかった。

このようなクレアチニン排泄量の低下が摂取蛋白レベル低下によるものであって季節その他の因子によるものでないことは全期間を通じ15%蛋白食を与えた基準食群

表9 基準蛋白食白鼠の窒素出納と
クレアチニン排泄量

測定項目			食蛋白レベル			
			15 %			
			準備期	前期	中期	後期
平均体重 (g)			364	370	370	402
摂取熱量(Cal/100g体重)			16.5	12.1	13.1	15.0
窒素 出納 (mg/日)	食	餌	415	310	335	418
		尿	208	95	104	221
		便その他	66	66	66	82
		出納	+141	+149	+165	+115
クチ レン ア排 チニ ン・ クレ ア	総 量 (mg/日)	クレアチニン	10.9	10.3	10.8	11.5
		クレアチン	2.8	1.7	1.8	2.3
		計	13.7	12.0	12.6	13.8
	係 数 (mg/kg)	クレアチニン	29.9	27.7	29.3	28.5
		クレアチン	7.5	4.6	4.8	5.6
		計	37.4	32.3	34.1	34.1

図6 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量との関係(その6)

と比較すると明かである。すなわちこの15%群の成績では図6および表9に示したように平均して350mg/日前後の窒素を摂取して約140mg/日の窒素蓄積を示し、体重は後にやや増加の傾向がみられた。一方クレアチン

図7 蛋白摂取量とクレアチニン排泄量との関係(その7)

ン排泄は日々の変動も少なく安定しており表のごとく約11mg/日前後の高レベルを維持したのであり、クレアチン係数も28~30前後で正常値であった。またクレアチン排泄量も約2mg/日前後で前記とほぼ同一の値を示している。以上この2つの成績から明かなように低蛋白摂取で明かにクレアチニン排泄レベルの低下することが人体試験の場合同様証明されたわけである。しかもこの場合の低下度は人体試験の場合に比べてさらにいちじるしいことが観察された。

つぎに高蛋白摂取の影響を調べてみる。2週間の基準食投与後25%の高蛋白食を与えた際の成績を図7に示した。尿中総窒素排泄量は高蛋白食としても基準食期の値(245mg/日)と大差なく経過し、したがって摂取窒素

量の増加に応じて蓄積量が増えているが(約250mg/日)実験末期には尿中総窒素排泄が急激に増加し、正出納の程度がやや改善された。また一日平均約250mgにもおよぶ窒素蓄積があるにもかかわらず体重増加はみとめられず、かえって出納が零に近づいたときにはじめて体重増加の傾向がみられた。こうした事実に対する説明は困難であるが、ただ一つ考えられるのは実験が夏季に行なわれたという点であろう。体重増加と窒素出納の改善が

表10 高蛋白食白鼠の窒素出納とクレアチニン排泄量

測定項目		食蛋白レベル		25 %		
		15%	前期	中期	後期	
平均体重(g)		370	377	377	390	
摂取熱量(Cal, 100g体重)		16.1	11.2	12.4	14.0	
窒素出納(mg/日)	食	411	533	588	688	
	尿	245	225	240	441	
	便	66	70	70	93	
	その他	66	70	70	93	
出納		+100	+238	+278	+154	
クレアチニン排泄量(mg/日)	総	12.1	12.8	14.3	13.5	
	クレアチン	3.2	1.8	2.2	2.3	
	計	15.3	14.6	16.5	15.8	
	係数	32.3	34.2	37.9	34.7	
クレアチン排泄量(mg/kg)	クレアチン	8.6	4.8	5.6	5.9	
	計	40.9	39.0	43.5	40.6	

9月末の秋季にみられたことはこれを裏書きするものと考えられる。一方クレアチニン排泄量は高蛋白食期の中ほどでやや高くなる傾向がみられたが、実験の末期では元の値にかえっている。これを平均値で示したのが表10で基準食期 12.1 mg/日、高蛋白食期は全平均で約 13.5 mg/日とあまり変化がない。この差は推計学的にも無意であった。

すなわち正常な適量の蛋白摂取を行なってクレアチニン排泄レベルが正常に維持されている際には、さらに蛋白負荷を行なっても、そのレベルはあまり高くはならないのであって、これは人体に高蛋白負荷を行なった実験、すなわち摂取蛋白を 60g/日のレベルから 120g/日に増加した際にクレアチニン排泄レベルに変化はなかったという所見と一致しているのである。

さてここで以上の成績を一括して食蛋白レベルとクレ

図8 食蛋白レベルとクレアチニン排泄量

アチニン排泄レベルとの関係を検討してみよう。図8は

表 11 クレ ア チ ニ ン 係 数 の 変 化

					(mg kg)	
	準 備 期	前 期	中 期	後 期		
日 数 (日)	14	39	40	40		
5 % 群	11.8	4.7	6.0	6.0 ¹⁾	※※※※※	準 前 中 後
15 % 群	11.3	10.5	11.0	10.6	※※※※※	準 前 中 後
25 % 群	12.3	12.8	14.5	12.9	※※※※※	準 前 中 後

25%	5%	5%	5%	5%
15%	15%	15%	15%	15%
25%	25%	25%	25%	25%

注 1) この期間は無蛋白食を与えた。

2) ※は 1%, ※※は 5% の危険率で有意の差のあることを示す。

3) 変動要因の差の有意性の表わし方。

5%群について示すと、準備期に比し前・中・後期とも低く、その差はいずれも 1% の危険率で有意。後 3 者間には差の有意性はない。

前述の成績のうちクレアチニン一日全排泄量とクレアチニン係数と食蛋白レベルの関係を一括して図示したものである。クレアチニン排泄量は一日全量とした場合はもちろん、係数としてみた場合も一応食蛋白レベルの高さに応じた変化を示しているが、15%の正常レベルから5%に下げた場合の差に比べると、正常から25%に上げた差は少ないのである。この相互間の差についてさらに検討するため、例数を3例に揃え、便宜上119日間の観察期間を40日ごとに3期に区分し、そのクレアチニン係数について要因分析を行なった。その結果は表11に示すとおりである。まず経時変動では5%および0%低蛋白食によってのみ有意の低下をきたし、15%群はもちろん25%高蛋白食においても有意な経時変化はみられない。また群間変動では5%群がつねに他の群に比べて有意に低値を示し、25%群では中期の値のみ15%群との間に有意な高値を示すにすぎない。このことは低蛋白食によるクレアチニン排泄量の低下は必発であるが、高蛋白食によって必ずしも正常値以上となりえないことを証明するものである。ただここで注意すべきは、高蛋白食によってクレアチニン排泄レベルはやや高くなる傾向はみられたのであって、これが全く変動しないというのではない。低蛋白食による低下ほど著明ではなくとも高蛋白食の条件によってはある程度の上昇をみとめうる可能性は否定できない。

考 察

以上成人ならびに成熟白鼠について一定食餌を長期間にわたって投与し、食蛋白条件ごとにその摂取レベルがクレアチニン排泄量におよぼす影響について検討したのであるが、その結果低蛋白摂取でクレアチニン排泄量は低下するが、無蛋白食にしてもある一定量以下には減じないこと、さらに高蛋白食投与によってクレアチニン排泄量を正常レベル以上には挙げがたいこと、またクレアチニン排泄レベルを規定するのはその蛋白摂取レベルで

あって、質にはあまり関係のないことなどが明かとなった。

クレアチニン排泄量が蛋白摂取量に無関係に同一個人では一定量が排泄されることから Folin¹⁾ が蛋白代謝を内因性、外因性に分けたことはよく知られたことである。この Folin の学説の当否はさておいても、クレアチニン排泄量が食蛋白量の如何にかかわらず一定であるということは従来から広く信じられており、これに関する多くの研究成績のあることは前にものべたとおりである。さて従来の成績を詳細に検討するとその実験期間の短いことにまず気付くのであって、著者の成績からもみられるようにクレアチニン排泄量の変化は尿素とは対照的に非常にゆっくりと階段的にあらわれるものであるから、1~2週間程度の期間では差が目立たないということになる。このようにクレアチニン排泄量の変動はとくに人体の場合では短期間では著明でないが、著者が行ったように長期の実験でクレアチニン排泄量のレベルの差を検討してみるとすでに述べたように低蛋白食で明かに低くなり、これは推計学的にも有意の差として確かめられた。ことに白鼠実験では低蛋白食によるクレアチニン排泄レベルの低下は約40%にもおよびきわめて明白な成績がえられたのである。

つぎにそれではクレアチニン排泄レベルは摂取蛋白レベルに応じてつねに平行した変動を示すかということ、それはちがっている。

人体試験でもみたように高蛋白食レベルでクレアチニン排泄レベルを正常値以上に引上げることはできなかった。白鼠の実験でも同様であって、そうした傾向はみられたが、たしかな上昇とは認めがたかったのである。

さて低蛋白投与でこのようにクレアチニン排泄レベルが低下するのはどのような原因によるのであろうか。クレアチニン排泄の意義ないしはその機転については、単にその排泄レベルが一定であるという理由によって Folin はこれを体内蛋白代謝ことに原形質蛋白代謝と密接に関連した代謝産物であろうとの見解をとったが、そ

の後安定性同位元素を用いた Schoenheimer ら¹⁷⁾の一連の実験によって体内蛋白代謝を内因性および外因性に分ける Folin の考えが正しくないとされるようになった。

こうした線に沿ってクレアチニン排泄の意義が検討された結果、クレアチニンの生成については Borsook & Dubnoff の説が広く行なわれている¹⁸⁾。すなわち彼らによるとクレアチニンは体内、主として筋肉に存在するクレアチンおよび燐クレアチンから非酵素的に生成されるという。この場合前頁下段のような2つの生成反応が考えられるが、Borsook らはクレアチン自体からの生成(1式)より、燐クレアチンから38°Cの体温条件とpH 7.3の条件の下で spontaneously に生成される(2式)が数倍も早い速度であるという。この両反応で遊離されたクレアチニンはもはや生体には不必要な物質であり、速かに尿中に排泄されるのである。すなわちアルギニン、グリシン、メチオニンなどのアミノ酸からのクレアチン生成とは別にクレアチンからのクレアチニン生成は蛋白代謝と無関係であるという。そこで著者は実験末期に白鼠を殺して、その大腿筋中のクレアチン、燐クレアチンを測定しこの点の検討を試みた。表12はその成績である。5%低蛋白食群でその筋中のクレアチン、

表 12 食蛋白レベルと筋クレアチン分画
(mg %)

		5 %	15 %	25 %
例	数	8	8	8
筋蛋白濃度(g %)		20.0	19.6	19.5
クレアチン分画 (mg %)	総クレアチン	469	489	488
	燐クレアチン	133	141	148
	遊離型クレアチン	336	348	340

注 各レベル蛋白食期とも、約100日間飼育したのち殺した値。

燐クレアチン濃度はそれぞれ469 mg%, 133mg%であり、他の15%群、25%群に比べてくに著明な低下はみられなかった。成績の項でのべたようにこの場合5%群の尿中クレアチニン排泄量は15%群に比し約40%におよぶ低下を示しこれはクレアチニン係数としてもほぼ同様であったのであるから、クレアチニン生成が Borsook らの説のみによって行なわれるものとすればクレアチニン排泄量は筋肉中の燐クレアチン、クレアチン量の pattern である筈であり、5%低蛋白食群ではその筋中の燐クレアチン、クレアチン量は約40%程度減少していなければならぬことになる。また体内のクレアチンの turnover rate は1日に約2%程度であって安定した

ものであるというが¹⁸⁾、そうすれば筋中のクレアチン量が大きく変動しない限りクレアチニン排泄量にも大きな日間変動はみられない筈である。人体の場合や白鼠の15%、25%レベルではほぼ安定した排泄量を示したが、しかし5%の場合においては筋クレアチン量には変化がないにもかかわらずその排泄量は比較的大きな変動がみられたのであるから、この点から考えても Borsook らの説を全面的に受け入れることはできないであろう。

一方井上²²⁾は人体に低蛋白食を与えると、その基礎代謝量の低下と平行してクレアチニン排泄量もまた低下することから、クレアチニンは生体の機能とくに体内の代謝レベル全般と密接に関連した代謝産物であることを明かにしており、また小石²¹⁾は同じく人体でクレアチニン排泄量の日内変動を精細に追究して、尿中排泄窒素量がFolin の内因性窒素代謝レベルをあらわしていると考えられる低蛋白食条件下ではクレアチニン排泄の日内変動のパターンと総窒素排泄のパターンとがよく平行していることからクレアチニンが細胞機能と密接に関連するものであることを証明した。筆者の実験では、低食蛋白条件は人体の場合も白鼠の場合もいずれもきびしい制限であり、窒素出納は零平衡を維持しえたといえ、生態機能の全般的低下をまねいていることは疑えないところである。こうした機能低下自体がクレアチニン排泄レベルの低下に関係していると考えてよいであろう。正常食から高蛋白食に移した図3の例の場合、あるいは蛋白レベルは一定で食質のみを変化させた図4の例の場合のようにいずれも夏期に長期間にわたって一定実験食餌を負荷したため一般生理機能低下をきたしたと推定される場合においてもクレアチニン排泄量は低下傾向を示し、ことに図4の例ではこれが著明であった。これは低蛋白食条件でなくとも生理機能低下がクレアチニン排泄量に影響を与えると考えた場合はじめて説明のつく現象である。これに対して高蛋白食の場合においては、あらかじめ生理機能の低下によってクレアチニン排泄レベルが低下していた場合のみこれを正常値にもどすことができるが、しかし正常レベル以上に高めることはできない。

クレアチニン排泄が正常レベル以上となる場合は図1および図2に示したように発熱などにより生理機能の病的あるいは異常亢進がみられる時に限るのであって、単に過剰の食蛋白負荷でこれがみられないことは当然といえよう。

以上著者は長期にわたる人体ならびに成熟白鼠試験の結果、尿クレアチニン排泄レベルが必ずしもつねに固定した一定値を示すものでなく、食蛋白制限など生理機能低下を招く条件下においてはそのレベルを低下するものであることを証明したが、ただこのクレアチニン排泄レ

ベルに影響を与える生理機能の本態が何であるかについては以上の成績からのみで十分説明することはできない。すなわち低蛋白食レベルによって反映される端的な生理機能変化は蛋白代謝レベルそのものであるが、そうかといって筆者の成績だけではクレアチニン排泄レベルと蛋白代謝レベルとを直接結びつけて説明することはできない。筆者の成績からいえることはクレアチニン排泄量が Borsook らのいうように単なる体内燐クレアチン、クレアチンの量的パターンではなく、なんらかの生理機能がこれに関連しているであろうという点だけである。筋クレアチンをはじめ内分泌機能に関する研究の進歩が、クレアチニン排泄量の変動という不明確な問題を解決する鍵として重要な意味をもつものである。

要 約

成人男子を被検者として長期間低あるいは高蛋白食投与試験を行ない、食蛋白摂取量と尿中クレアチニン排泄レベルの関係を検討し、その結果を成熟白鼠を用いてさらに確かめつぎの成績をえた。

1) 低蛋白食負荷の場合成人男子 2 名に熱量 2400 Cal/日、蛋白質約 80/g 日の基準食投与後、熱量はそのままとし蛋白約 20g/日の低蛋白食を 16 日間、つづいて蛋白約 40g/日を 40 日間以上与えると、窒素出納は約 10 日間で零平衡に達するが、一方尿中クレアチニン排泄量は徐々に階段的に減じ、試験末期においては基準食時の値 1.35~1.38 g/日にくらべ約 13%ないし 17%低下した排泄レベルとなった。この場合クレアチニン係数としての低下は約 11%ないし約 14%であって、いずれも推計学的に有意であった。

つぎに成熟白鼠 10 匹に 15%蛋白の基準食を 2 週間与え、ついで 5%の低蛋白食を 79 日間、さらに無蛋白食を 40 日間投与すると、クレアチニン排泄量は 5%低蛋白食負荷で不安定に変動しながら減少し、基準食時の平均値 11.6 mg/日に比べて 40%あるいはそれ以上の低レベルとなり、これは単位体重当り排泄量としてみても同様であった。しかし一方同時に測定した単位重量当り筋クレアチン含量には、その遊離クレアチン量、燐クレアチン量分画をも含めて低蛋白食による影響がみられなかった。

2) 高蛋白負荷の場合、人体試験で蛋白 60g/日の基準食を 48 日間与え、クレアチニン排泄レベルが正常に維持されている際にさらに 60 g の蛋白を追加して高蛋白食としても、その尿中排泄レベルには著変がなかった。しかし低蛋白食投与でクレアチニン排泄量が低下している場合には高蛋白負荷で、すみやかに正常レベルにまで回復するがそれ以上に引き上げることは困難であった。

同様の所見は成熟白鼠でもみられ、15%蛋白の基準食 2 週間投与後、25%高蛋白食を与えると、若干クレアチニン排泄レベルは上昇したがその差は推計学的に無意であった。

3) 成人男子で食蛋白量の全量は 60g/日で一定にし、その半量 30 g だけを全卵、大豆、豚肉あるいはその混合物で置き換えて、食蛋白の質の変化とクレアチニン排泄量の変動の関係を観察したが、食質による影響は認められなかった。

4) 以上の成績から、尿中クレアチニン排泄量はかならずしも恒定の排泄レベルを示すものではなく、きびしい食蛋白制限などのように生理機能の変化をひきおこす条件にともなう変化しうるものである。したがって体内におけるクレアチニン生成にはなんらかのかたちで生体機能が密接に関連しており、これが単に筋クレアチンの量的パターンを現わすものにすぎないとする従来の見解は不十分であると推論された。

本研究にあたって御指導を賜った井上五郎教授をはじめ、種々御援助賜った小石秀夫助教授、新山喜昭講師に深謝する。

文 献

- 1) Folin, O. : *Am. J. Physiol.*, **13**, 45, 66, 117 (1905)
- 2) Harding, V. J. Gaebler, O. H. : *J. Biol. Chem.*, **54**, 597 (1922)
- 3) Hodgson, P., Lewis, H. B. : *Am. J. Physiol.*, **87**, 288 (1926)
- 4) Shaffer, P. A. : *ibid.*, **23**, (1908~09)
- 5) Klercker, K. O. : *Biochem. Z.*, **3**, 45 (1907)
- 6) Bloch, K., Schoenheimer, R. : *J. Biol. Chem.*, **131**, 111 (1939)
- 7) Bloch, K., Schoenheimer, R., Rittenberg, D. : *ibid.*, **138**, 155 (1941)
- 8) Bloch, K., Schoenheimer, R. : *ibid.*, **138**, 167 (1941)
- 9) Borsook, H., Dubnoff, J. W. : *ibid.*, **138**, 389 (1941)
- 10) Davenport, H. W., Fisher, R. B. : *Biochem. J.*, **32**, 262 (1938)
- 11) Borsook, H., Dubnoff, J. W. : *J. Biol. Chem.*, **132**, 595 (1940)
- 12) Borsook, H., Dubnoff, J. W. : *ibid.*, **134**, 635 (1940)
- 13) Steensholt, G. : *Acta. physiol. scandinav.*, **10**, 320 (1945)
- 14) Borsook, H., Dubnoff, J. W. : *J. Biol. Chem.*, **171**, 363 (1947)
- 15) Cohen, S. : *ibid.*, **201**, 93 (1953)
- 16) Borsook, H., Keighley, G. L. : *Proc. Royal Soc. (London)* **118**, 488 (1935)
- 17) Schoenheimer, R. : *"The Dynamic States of Body Constituents"* Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., (1942)
- 18) Borsook, H., Dubnoff, J. W. : *J. Biol. Chem.*, **168**, 493 (1947)

- 19) 小石秀夫: 生化学, **28**, 477, 706 (1956~7)
 20) 井上五郎: 小石秀夫, 新山喜昭: 医学と生物学 **41**, 1 (1956)
 21) 小石秀夫: 生化学, **29**, 85 (1957)
 22) 井上五郎: 日本生理誌, **16**, 216, 326 (1954)
 23) Friedmann, T. E., Kinney, V. M., Berryman, G. H., Henderson, C.R., Youmans, J. B.: *J. Nutrition*, **35**, 117 (1948)
 24) Karambelkar, P. V., Patwardhan, V. N., Sreenivasan, A.: *Indian J. Med. Research*, **40**, 89 (1952)
 25) 井上五郎 他6名: 阪市大家政紀要, **2**, 171 (1955)
 26) 井上五郎, 新山喜昭, 吉川一弥: 医学と生物学 **41**, 28 (1956)
 27) 高橋泰常: 生化学, **26**, 690 (1955)
 (大阪市立大学家政学部栄養生理教室)

種々蛋白摂取後の白鼠の門脈血中リジンとメチオニン濃度

食物蛋白の栄養価は必須アミノ酸パターンばかりでなく、その遊離及び腸管よりの吸収の程度と速度による。著者等は食物蛋白中の制限アミノ酸含量で、その生物学的利用率を正確に知る目的で、種々蛋白投与後の白鼠の門脈血中リジンとメチオニン濃度を微生物法で測定して検討した。

生後7週間、体重約100gの白鼠を用い、48時間絶食後、試験純蛋白(小麦グルテン、ツエイン、大豆蛋白、カゼイン及びラクトアルブミン)5%と炭水化物5%の液状試料5ccを体重100g当り投与した。大豆粉(非加熱、加熱及び過熱処理)の場合はこれのみの10%液を用いた。対照はコンスターチ5%液を用いた。投与後30, 60, 120, 及び180分後に門脈血を採取してリジンとメチオニン濃度を測定した。

その結果、門脈血中リジンとメチオニン濃度の上昇の程度と時間は、種々蛋白源で大きく異なり、また、これらアミノ酸のピークは常に30分以前で、それ以後、濃度

は徐々に低下し、180分まで対照レベルにもどった。更に、両アミノ酸のピークレベルとその持続時間は何れも蛋白中の濃度と密接な相互関係はなかった。

次に、非加熱、加熱及び過熱処理した大豆粉の実験では、門脈血中のリジンとメチオニンレベルは大豆蛋白中の含量ばかりでなく、消化速度と吸収に影響された。

大豆蛋白と種々炭水化物で投与した場合、門脈血中のリジンとメチオニン濃度はそれぞれ異なり、ラクトース、フラクトース及び蔗糖は澱粉とデキストロースにおけるよりもリジンレベルは高くなり、また、澱粉、ラクトースとフラクトースは蔗糖とデキストロースにおけるよりもメチオニンレベルは上昇した。

Guggenheim, K., Halevy, S., and Friedmann, N.: Levels of lysine and methionine in portal blood of rats following protein feeding.

Arch. Biochem. Biophys., **91**, 6 (1960)

(田 村)

小麦粒内におけるSH基の分布

まえに Barnett らは動物組織中のたんぱくSH基の組織化学的検出法として、2, 2'-ジヒドロキシ-6, 6'-ジナフチル・ジスルフィド(DDD)がその特異性の点ですぐれていることを報告したが、ここではそれを小麦粒に応用している。2%トリクロル酢酸のアルコール溶液で固定した小麦切片をDDDの緩衝溶液で処理し、これをモノアゾ化するとSH基と反応した部位は紫色になる。この方法によれば、小麦では胚芽、糊粉層にSH基の分布が多いことが認められ、低等級の小麦粉がSH含

量が多いのは、これらの組織の混在によるものであることを確めた。

Histochemical Characterization of Wheat and Wheat Products. V. Sulfhydryl Groups: Their Localization in the Wheat Kernel.

by Y. Pomeranz and J. A. Shellenberger:

Cereal Chemistry **38** (2) 133~140 (1961)

(安 永)