アミノ酸の補足と蛋白代謝に関する研究 (第5報) Studies on Amino Acid Supplementation and Protein Metabolism (5)

リジンインバランスとリジン代謝中間体の尿中排泄について
Lysine Imbalance and Urinary Excretion of Lysine Intermediates

(昭和 36 年 11 月 13 日 受 理)

田 村 敦
(Atsushi Tamura)

To examine the influence of lysine imbalance on urinary excretion of lysine metabolites and liver xanthine oxidase activity in young rats, lysine imbalance in rats was observed by 8% casein diet supplemented with 1, 2, 3 or 4% L-lysine hydrochloride. During the feeding for 14 days, whole urine of each rat was collected daily, and at the end of the feeding, the blood serum and liver were taken for the analysis.

The growth of rats and efficiency of feed utilization were significantly increased by the addition of 10% lysine, while the more addition of it gradually decreased the growth rate and liver xanthine oxidase activity.

The amount of urinary excretion of lysine, α -amino adipic acid and glutamic acid were gradually increased in proportion to the supplemented lysine, and it was suggested that the urinary α -amino adipic acid, an unusual amino acid in normal urine, was a criterion to the grade of development of lysine imbalance.

緒 言

アミノ酸インバランスは低蛋白飼料に多量のアンバランスなアミノ酸組成の蛋白を加えたり、比較的少量の単一あるいは二種のアミノ酸を添加して起させることができる¹⁾。著者はさきに²⁾、カゼイン飼料に過剰のリジンを添加した場合、このインバランス食白鼠の尿中に、リジン、グルタミン酸排泄増加の傾向とともに、正常尿ではほとんど認められない α -アミノアジピン酸の顕著な排泄を認めた。したがって、これらアミノ酸の尿中排泄とリジンインバランスあるいは過剰のリジン摂取との関係をさらに詳細に知るために本実験を行なった。同時に、これらリジンインバランス食白鼠の生長および肝 xanthine oxidase 活性も併せ検討した。

実 験 方 法

1) 実験動物および飼育方法

Wistar 系同腹雄白鼠、体重約 100g のもの 23 匹を用い、5 群に分け、すなわち、カゼイン 8% 飼料を対照とし、これにさらに L-リジン HCl 1, 2, 3 および 4% 添加したインバランス飼料 (第 1 表) を調製し与えた。白

鼠は 1 匹宛メタボリックケージに入れ、飼料を自由摂取させた。期間中摂取飼料量と体重増加量を測定した。また、各群ごとに第 1, 5, 9 および 14 日目の 24 時間尿を採取し、プールした。飼育 2 週間後に心臓採血で殺して

第 1 表 飼 料 組 成

組 成	I	II	III	IV	V
カ ゼ イ ン	8%	8%	8%	8%	8%
L-リジン HCl	-	1	2	3	4
デ キ ス ト リ ン	40	40	40	40	40
蔗 糖	42	41	40	39	38
コ ー ン オ イ ル	5	5	5	5	5
マ ッ カ ラ ム 塩*	4	4	4	4	4
ビ タ ミ ン 混 合**	1	1	1	1	1

* No. 185

** 総合ビタミン剤 (パンビタン末) 20%, 塩化コリン 10%, デキストリン 70%

肝を採取した。

2) 飼料効率と窒素効率

飼料効率は体重 1g 増加に要した摂取飼料量で、窒素効率は摂取窒素 1g 当たりの体重増加量で表わした。

3) 尿中全窒素と離遊 α -アミノ態窒素の測定

第2表 リジンインバランス飼料の飼料効率とN効率

群	匹数と性	平均初体重 g	平均体重増加 g/14日	平均摂取飼料 g/14日	平均摂取N g/14日	平均飼料効率	平均N効率
I カゼイン8%	4 ♂	97.3	41.8	208.8	2.51	5.00	16.65
II + リジン1%	5 ♂	98.6	50.2	221.0	2.99	4.40	16.79
III + " 2%	5 ♂	95.2	44.0	213.0	3.22	4.84	13.66
IV + " 3%	5 ♂	94.4	34.2	189.0	3.14	5.53	10.89
V + " 4%	4 ♂	100.3	33.8	196.3	3.55	5.81	9.52

第3表 リジンインバランス食白鼠の肝 xanthine oxidase 活性

群	匹数と性	平均終体重 g	平均生肝重量 g	肝 xanthine oxidase $\mu\text{l, O}_2/\text{hr.}$		
				平均肝 g 当たり	平均体重 100 g 当たり	平均活性比
I カゼイン8%	4 ♂	139.1	5.8	41.4	172.6	100
II + リジン1%	5 ♂	148.8	5.9	39.6	157.0	91
III + " 2%	5 ♂	139.2	6.5	31.0	144.8	84
IV + " 3%	5 ♂	128.6	5.4	20.3	85.2	49
V + " 4%	4 ♂	134.1	5.6	19.3	80.6	47

全窒素はセミマイクロエルダール法で、 α -アミノ態窒素は加銅法³⁾によりそれぞれ測定した。

4) 肝 xanthine oxidase 活性および尿中遊離アミノ酸の測定

肝 xanthine oxidase 活性はさきに検討した検圧法⁴⁾で測定した。尿中遊離リジン、 α -アミノアジピン酸およびグルタミン酸は前報⁵⁾で検討した高電圧濾紙電気泳動法で測定した。

第1図 リジンインバランス食白鼠の体重増加

実験結果

1) リジンインバランス食白鼠の生長と肝 xanthine oxidase 活性

結果は第2, 3表および第1図に示すように、生長および飼料効率はリジン1%添加群が最もよく、窒素効率

および肝 xanthine oxidase 活性は対照群とリジン1%添加群が最もよかったが、両群の間には差がなかった。リジン2%以上添加群ではリジン添加量に比例して効率および肝酵素活性は低下した。

2) 尿中全窒素とアミノ酸排泄

結果は第2図に示すように、カゼイン飼料に対するリジン添加量に比例して、尿中全窒素が増加し、 α -アミノ態窒素も増加した。尿中リジンおよびグルタミン酸も添加リジン量に比例して排泄増加を示した。また、対照およびリジン1%添加群では観察できなかった α -アミノアジピン酸がリジン2%以上添加群において排泄され、順次排泄増加を認めた。リジン4%添加群で、これらアミノ酸排泄は顕著であり、しかも、第1日尿よりこれらの傾向は明らかに認められた。

考 察

カゼイン8%飼料は白鼠のアミノ酸必要量^{6,7)}よりみると、リジンは約40%不足していることになる。したがって、リジン1%添加群が対照群を上回る生長を示したものと考えられる。いっぽう、肝 xanthine oxidase 活性はリジン1%添加で増加しなかったが、Bavetta ら⁸⁾もリジン欠飼料に種々量のリジンを添加して肝 xanthine oxidase 活性を測定し、リジン0.5%レベルが最も高く、1%レベルは前者とほぼ同等であったと報告している。しかし、リジン1%添加群が対照群を上回る飼料効率や生長の良好なことより、リジン補足効果を示したものと考えられる。リジン2%以上は添加量に比例し

第2図 尿中遊離アミノ酸排泄

て、生長および肝 xanthine oxidase 活性が低下したが、これはリジン必要量以上の添加より生じたインバランス、または過剰の影響の現われと考えられる。

アミノ酸インバランス飼料を摂取した動物は摂取後ただちに余分のアミノ酸を急速に分解して、その結果として尿中窒素排泄が増加するが、同時に食物消費を急速に少なくして、低食物摂取により窒素利用の改善を試みようとする。したがって、Deshpande 等⁹⁾はこの変換期中の窒素代謝におよぼすアミノ酸インバランスの影響を研究することが大切と指摘している。本実験で、リジン添加量に比例して尿中全窒素と遊離アミノ態窒素の排泄が顕著に増加したが、これは過剰のリジンおよびそれに伴う catabolism の亢進したことの反映と考えられる。しかし、これらの排泄量は生長を低下させるほどの大量とは考えられない。

リジンは Borsook 等¹⁰⁾⁽¹¹⁾により、肝ホモジネイトで α -アミノアジピン酸を経てグルタミン酸になることが示され、この反応はさらに鼠で Rothstein 等¹²⁾により確認されている。Rothstein 等の scheme のリジン分解経路では可逆的に進行せず、食物リジンはリジン代謝中間体で代替できないこと¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾、さらに中間体のアミノアジピン酸と α -アミノ- ϵ -ヒドロキプロール酸はリジン antagonists として作用し、生長とヘモクロビンの形成を阻害する¹⁵⁾といわれている。また、鼠で最初に確認し得る α -アミノアジピン酸は anabolic reaction では直接利用されないが、ケト酸からグルタル酸を経て、

一部はグルタミン酸に代謝される。一般に代謝中間体は活性が強いから、産生されればただちにつぎの代謝過程に移る。したがって、適量のリジン摂取の場合には、これら中間体の尿中排泄はほとんど認められないが、過剰のリジンを摂取すれば中間体も多くなり、当然余分のものは尿中に排泄除去されるものと考えられる。このことは本実験において、生長の良好であったリジン 1% 添加群では尿中に α -アミノアジピン酸をほとんど認めなかったが、2% 以上ではリジン、 α -アミノアジピン酸およびグルタミン酸の顕著な排泄増加からも考えられる。また、これらの傾向は第1日尿より明らかに認められたことより、リ

ジンインバランスまたは過剰の障害を早期に知る一つの指標ともなうと考えられる。なお、グルタミン酸、 α -アミノアジピン酸およびリジンが代謝される時、アルギニンが増す¹⁶⁾といわれているが、本実験では特に尿中アルギニンの排泄増加は観察しなかった。

リジン過剰投与の場合、かなりのリジンが尿中に排泄されたが、摂取リジン量からみれば比較的僅少であった。宮崎等¹⁷⁾もリジン過剰投与で、排泄リジン量は摂取量の1%を超えないと報告していることより、摂取した過剰のリジンの大部分は酸化的に代謝分解されるものと考えられる。過剰のリジンの代謝におよぼす影響についてはさらに検討を要するものと思われる。

要 約

リジン添加によるリジンインバランスあるいは過剰が白鼠の生長、肝 xanthine oxidase 活性ならびにリジン代謝中間体の尿中排泄におよぼす影響を検討した。

その結果、生長期の白鼠にはカゼイン8%飼料にリジン1%添加で生長は良好であったが、それ以上の添加は生長が低下し、肝 xanthine oxidase 活性も低下することを認めた。同時に、リジン添加量に比例して、尿中リジン、グルタミン酸の排泄が増加し、さらに、2%以上の添加群で正常尿ではほとんど認められない α -アミノアジピン酸の排泄が顕著となるのを認めた。

終わりに臨み、御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜

わった国立栄養研究所栄養化学部長田村盈之輔博士に厚く感謝いたします。また、必須アミノ酸研究会研究費の補助を受けた。併せて感謝いたします。要旨は第14回栄養食糧学会総会シンポジウム（昭和35年5月）で発表した。

本研究は、国立栄養研究所栄養化学部在職中に行なった。

文 献

- 1) Morrison, M. A., Harper, A. E.: *J. Nutr.* **71**, 296 (1960)
- 2) 田村 敦: 本誌, **13**, 334 (1961)
- 3) Pope, C. G., Stevens, M. F.: *Biochem. J.*, **33**, 1070 (1939)
- 4) 田村 敦: 栄養学雑誌, **19**, 3 (1961)
- 5) 田村 敦: 本誌, **14**, 491 (1962)
- 6) Cuthbertson, W. F. J.: *Proc. Nutr. Soc.*, **16**, 70 (1957)
- 7) Harper, A. E.: *J. Nutr.*, **67**, 109 (1959)

- 8) Bavetta, L. A., Narrod, S. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**, 289 (1957)
- 9) Deshpande, P. D., Harper, A. E., Elvehjem, C. A.: *J. Biol. Chem.*, **230**, 335 (1959)
- 10) Borsook, H., Deasy, C. L., Haagen-Smit, A., J., Keighley, G., Lowy, P. H.: *J. Biol. Chem.*, **173**, 423 (1948)
- 11) Borsook, H., et al.: *J. Biol. Chem.*, **176**, 1383, 1395 (1948)
- 12) Rothstein, M., Miller, L. L.: *J. Biol. Chem.*, **206**, 243 (1954)
- 13) Stevens, C. M., Ellman, P. B.: *J. Biol. Chem.*, **182**, 75 (1950)
- 14) Geiger, E., Dunn, H. J.: *J. Biol. Chem.*, **178**, 877 (1949)
- 15) Pagé, E., Gingras, R., Gaudry, R.: *Can. J. Research*, **E**, **27**, 364 (1949)
- 16) Dubnoff, J. W., Borsook, H.: *J. Biol. Chem.*, **173**, 425 (1948)
- 17) 宮崎, 早川, 星野, 平, 蛇沢, 杉村, 桜井: 本誌 **13**, 179 (1960)

(大日本製薬中央研究所)

チアミン・ピロリン酸エステルヒドロキエチル誘導体の天然における存在、酵素的生成および生化学的意義について

1. ヒドロキシ・エチル・チアミン-PPを微生物(*E. Coli*)から、ペーパークロマトグラフィーおよびビオオートグラフィーによって分離した。

また小麦胚種のカルボキシラーゼの存在の下にチアミン-PPとピルビン酸塩またはアセトアルデヒドから酵素的に合成した。(ピルビン酸の代りに α ケト酪酸を用いるとヒドロキシ・プロピル・チアミン-PPが得られた。)

2. 以上の2つの方法で得られるこの化合物の精製法がのべてある。

3. この化合物は

- a) 小麦胚種のカルボキシラーゼのコエンチムとしてチアミンの代りに働く。
- b) 他の基質なしに小麦胚種のカルボキシラーゼとともに incubate するとチアミン-PPを生ず

る。

- c) この化合物の1-ヒドロキエチル基を C^{14} で標識したものは小麦胚種のカルボキシラーゼにより酵素的に利用され放射性のアセトインを生ずる。

これらの結果から本化合物の生化学的意義を活性アルデヒドと関連して論議してある。

The Natural Occurrence, Enzymatic Formation, and Biochemical Significance of a Hyaroxyethyl Derivative of Thiamine Pyrophosphate.

by G. L. Carlson and G. M. Brown

J. Biol. Chem., **236**, 2099~2108 (1961)

(岡)