リゾチームの生理効果に関する研究 (1)

Studies on the Physiological Action of Lysozyme (1)

動物に対するリゾチーム投与試験

Effects of lysozyme administration on animals

(昭和 42 年 2 月 20 日 受理)

祐川 金次郎 菊池 俊彦 繁田 晴美
(Kinziro Sukegawa) (Toshihiko Kikuchi) (Harumi Handa)

The physiological effect of lysozyme was examined. Lysozyme does not catalyze casein decomposition in vitro. On feeding rabbits and rats with the trial infant formula, containing 130 mg percent of lysozyme (Px), the following results were observed.

1) Lysozyme content in human milk was determined as 3-10 mg percent. Cow's milk contains only 0.03-0.17 mg percent. Lysozyme content of cow's milk is about 1/100 of human milk.

2) Lysozyme content in blood serum and feces, especially in feces, was increased when fed rabbits with the Px.

3) Nitrogen distributions in feces of rabbits were determined by the use of Dowex-50 W ion exchange resin. Low molecular weight N-compounds in feces were increased by infant formula, Snow Brand Neomilk PF (PF), feeding compared with Oriental diet feeding. No significant difference in N-distribution in feces was observed between Px and PF feedings.

4) On feeding rats with either Px or PF, the pH of feces was decreased and the count of *Lactobacillus bifidus* was increased. This tendency was especially remarkable with the Px feeding. Changing the feed to Oriental diet, pH of feces was again increased and the count of *Lactobacillus bifidus* was decreased.

1922年 Flaming によって発見命名されたリゾチームは、溶菌性酵素として、近年は多数の研究対象となってきた。すなわち、その性質を明らかにすること、体液中の分布、化学的性質および薬理的效果、その作用機構、生理的および病理的条件による変化、医薬効果、生理活性に関する研究が行なわれている。その結果、この酵素は、抗菌作用、抗ウイルス作用、広義の免疫作用、血液凝固作用および止血作用、消炎作用、牛乳の消化作用などのあることが認められ、とくに小児科領域においては、リゾチームの臨床的応用は非常に興味ある成績を与えている。すなわち、新生児および生後1ヵ月以内の乳児で抗菌および抗ウイルス性の先天的な防禦機構に対して、母体からうけついできた抗体とともに良好な影響を与えている。

リゾチームは白色、無臭の甘味をもつ結晶性の粉末で¹⁾、分子量は約 15,000、129個のアミノ酸が鎖状に結合した塩基性タンパク質で、その構造も決定されてい

る²⁾。自然界には卵白をはじめとして、ヒトや動物の涙液、唾液、血液、乳汁などの体液や各臓器のほか、植物、細菌などに広く分布している。しかし牛乳にはほとんど存在しない³⁾⁴⁾。

リゾチームがとくに注目される性質は酵素作用をもつことで、グラム陽性菌の菌壁を構成しているムコポリサッカライドに作用して、低分子量の窒素を含んだ糖類に分解することである⁵⁾。このムコポリサッカライドが分解されてできた含窒素糖類がビフィダス菌の増殖因子であることも知られている⁶⁾。このような酵素作用をもちながら動物の体内で酵素によって分解されずに、体液や重要な臓器に存在していることはなんらかの生理的意義をもっていることが予想される。最近では乳児栄養とくに人工栄養児におけるリゾチームの効果についての報告もいくつか発表されている^{7)~10)}。

母乳栄養児の腸内には嫌気性乳酸菌のビフィダス菌が圧倒的に多く、また糞便中にも多量のリゾチームが存在

しているが、人工栄養児の腸内には大腸菌が圧倒的に多く、リゾチームも母乳栄養児に比較しては極めて少ない^{9)~11)}。母乳栄養児では母乳中のリゾチームが分解されずに腸まで達していること¹¹⁾、また唾液や腸内にリゾチームが存在していることは、有害細菌やウイルスの経口的侵入に対して、その増殖を防ぐ効果があると考えられている⁹⁾¹¹⁾。

著者らは、上述のような生理作用をもち、しかも人乳中に極めて多く含有され、牛乳中にはほとんど含まれていないことが、母乳栄養児と人工栄養児の発育上、とくに病気に対する抵抗性の問題と関連があるのではないかと考え、人工栄養児にリゾチームを利用すべく、まず家兎およびネズミにリゾチーム添加粉乳を投与してその効果を検討した。

実験方法

1. 実験対象

a. 飼料

1) 固型飼料：家兎およびネズミの固型飼料としては、オリエンタルの家兎およびネズミ用を自由に摂取させた。

2) 対照粉乳：雪印ネオミルク PF (以下 PF と略す) を、家兎の場合には 30% 溶液として 2~4 回/日、1 回 20~50ml をカテーテルを用いて胃内に投入した。ネズミの場合には水で練って自由に摂取させた。

3) 試験粉乳：雪印ネオミルク PF にリゾチームを 130mg/100g 添加したものである (以下 Px と略す)。上記同様に投与した。

なお、家兎は生後 2 カ月および 1 年のものであり、ネズミは生後 20 日のものを用いた。

b. 実験期間

家兎に対しては、それぞれの試料を 7~10 日間投与後採血、採便して実験に用いた。

ネズミの場合には、9 匹を 3 群に分け、各飼料を各群に交互に 1 週間ずつ投与、6~7 日目に採便して各群の 3 匹分を混合、菌叢の測定を行なった。

飼料の種類および投与方法 (各 1 週間投与)

A 群	オリエンタル	Px	PF	オリエンタル
B 群	Px	PF	オリエンタル	オリエンタル
C 群	PF	オリエンタル	Px	オリエンタル

2. 測定方法

a. リゾチーム

人乳、牛乳、血清および糞便中のリゾチーム含量は、リゾチーム活性標準曲線から求めた (図 1)。

図 1. Lysozyme 濃度の標準曲線

M. Lysodeikticus 150mg/100ml, M/15 phosphate buffer pH 6.24, 37°C, 20min. 反応

1) リゾチーム活性標準曲線

精製リゾチーム (エーザイ社) を 0.1~1.0 μg/ml になるように Sørensen buffer (M/15 KH₂PO₄ 4.3:1 M/15 Na₂HPO₄, pH 6.24) に溶解した。

基質液としては *M. Lysodeikticus*¹²⁾ を約 150 mg/100ml Sørensen buffer に懸濁させ、Coleman spectrophotometer 540 mμ で透過率が約 10% になるように buffer を加えて調整する。

リゾチーム活性曲線の作成は、各濃度のリゾチーム溶液 3 ml を試験管に採り、37°C 温浴中で加温、これに 37°C に保持した *M. Lysodeikticus* 懸濁液 3 ml を加えて、20 分間反応後、Coleman spectrophotometer 540 mμ で蒸留水に対して E を測定。同様の操作で buffer と *M. Lysodeikticus* 懸濁液を各 3 ml 混合したものについてブランク試験を行ない E₀ を求めた。得られた E₀, E からリゾチーム活性曲線を作成した。リゾチーム濃度 0.1~0.8 μg/ml の範囲では E₀-E と直線関係が得られる。

2) 乳汁、血清、糞便中のリゾチーム

人乳中のリゾチーム含量は、つぎのようにして測定した⁴⁾¹⁰⁾。

人乳
↓
0.5% NaCl 溶液を等量混合
↓
pH 4.6, 1 時間放置, 2,000 rpm. 10 分間
↓
ろ過, 東洋濾紙 No. 5B 除タンパク
↓
1 ml に 0.5% NaCl 溶液を加えて 100ml とする
また牛乳中のリゾチーム含量については、
牛乳 5 ml + 5 ml 0.5% NaCl
↓
2,000 rpm. 10 分間, 脂肪分離除去

↓
pH 4.6, 37°C 10分間保持
↓
2,000 rpm. 10分間, 除タンパク
↓
濾過 東洋濾紙 No. 5B

上記のようにして得られた濾液を 0.5% NaCl 溶液で適度に希釈し, その 3 ml を測定に用いた。

血清の場合には, 血清 0.1ml を 0.5% NaCl 溶液で 10ml に希釈してその 3 ml を用いた。

また糞便中のリゾチーム含量は, 試料 2~5 g を 0.5% NaCl 100ml に懸濁させ, pH 4.6 にして除タンパクした濾液を使用した。

以上のように調製した試料 3 ml と *M. Lysodeikticus* 懸濁液 3 ml を 37°C, 20分間反応させて, 蒸留水に対して E 値を測定。同様に試料と基質液各 3 ml を混合して直ちに E_0 を求め, $E_0 - E$ からリゾチーム含量を活性標準曲線から求めた。

3) *M. Lysodeikticus* の調製¹²⁾

M. Lysodeikticus (ATCC 4698) を保存培地に接種後 37°C, 24 時間培養する。培養した菌株は氷室に保存し 2 週間ごとに新規の保存培地に移植し培養した。

保存培地 (Waksman Collection No.19培地)

ペプトン	0.5%
塩化ナトリウム	0.5
酵母エキス	0.1
寒 天	2.0
蒸 留 水	適量
全 量	100%

NaOH 液を用いて pH 7.2 に調整し滅菌する。

培地 50ml に保存培養菌種を接種し, 30°C, 48 時間振盪培養する。得られた前培養液を滅菌培地 100ml を入れたエルレンマイヤーフラスコに 2% 量接種し, 30°C, 72時間振盪培養する。培養終了後, 全菌体を遠心分離 (0°C, 5,000 rpm. 5分間), 分離菌体を約 100ml の蒸留水で 3 回洗浄遠心分離した。得られた菌体に約 8 ml の蒸留水を加え, よく攪拌して均一な懸濁液を作り, これにアセトン約 80ml をよく攪拌しながら滴下して遠心分離する (0°C, 3,000 rpm. 10分間)。上澄液はすて, 菌体に約 8 ml のアセトンを加えて攪拌してからさらにアセトン約 80ml を攪拌しながら滴下する。遠心分離後, 上澄液を除く。この操作を 2 回くりかえした。最後にアセトン菌体は凍結真空乾燥した。

菌体捕集培地組成

ペプトン	0.5%
塩化ナトリウム	0.5
肉エキス	0.3
酵母エキス	0.1

蒸 留 水	適 量
全 量	100%

NaOH 液を用いて pH 7.2 に調整する。

b. 糞便中の窒素化合物の分布¹³⁾¹⁴⁾

糞便 20 g 前後に蒸留水を加えてホモブレンダーでよく混和して 100ml とし, 濾紙 No. 2 で濾過。濾液 10~20 ml を Dowex-50W, X-16, 12, 8, 4, 2 の各カラム (0.9×18cm) に流速 0.5ml/分 の条件で流下, 水洗液の流速も 0.5ml/分とし, 試料および洗液を約 80ml 回収, これを 100ml にメスアップした。流出液中の窒素を定量して未吸着の窒素量を求め, これから各カラムに対する吸着窒素量を算出し, 糞便中の N-化合物の分布を測定した。

c. 糞便中の細菌数および菌叢

無菌的に 0.5~1.0 g の試料を採取し, 4.5~9ml の滅菌生理食塩水を加えて滅菌した乳鉢中で磨砕し, 10倍希釈液とし, 順次希釈して使用した。

1) 好気性生菌数

肝臓培地を用い, 常法により平板とし, 37°C, 24 時間培養後, 発生した全集落を測定した。

2) 嫌気性生菌数

肝臓培地平板に希釈液 0.1ml をコンラージ棒で塗抹, 黄リン燃焼法による嫌気状態で 37°C, 72時間培養し, 発生した全集落を測定した。

3) ビフィダス菌数

根岸培地平板を用い, 嫌気性生菌数と同様の方法で培養し, 発生した白色光沢を有する集落数を測定した。まぎらわしい集落については染色, 検鏡を行ない, その形態を観察してのち測定した。

4) 大腸菌群数

デオキシコレート培地 (栄研) を用い, 常法によって平板とし, 37°C, 24 時間培養, 発生した赤色集落を測定した。

d. pH の測定

少量の試料を採取し, これに 9 倍量の滅菌生理食塩水を加えて乳鉢で磨砕, pH 試験紙で測定した。

結果および考察

1. 乳汁中のリゾチーム含量

ヒトおよびその他の動物の乳汁中のリゾチーム含量については, 諸外国での測定結果が多く報告されている⁹⁾ ¹⁵⁾。著者らは日本人乳および牛乳について, 少数例ではあるが測定した結果は表 1 のようであった。

人乳についての諸外国の報告値は, 個体差がきわめて大きく, 常乳 3~300mg/100ml, 初乳 9~102mg/100ml で, その平均値はそれぞれ 39mg, 46mg/100 ml であ

表 1. 人乳および牛乳中のリゾチーム含量

人 乳 mg/100ml	牛 乳 mg/100ml
分娩後 0 日 10.73	0.062
" 8 3.91	0.130
" 14 6.35	0.135
" 15 3.41	0.062
" 23 11.35	0.112
" 30 10.77	0.070
" 43 1.43	0.172
" 70 4.52	0.087
" 73 8.63	0.035
" 96 5.12	0.062

る³⁾¹⁵⁾。これらの値と比較した場合には、著者らの結果は一般に低かった。

一方牛乳については、人乳に比較してきわめて少ないと報告されている³⁾¹⁾。われわれの結果でも、0.035～0.172mg/100ml、人乳の約 1/100 以下であった。

2. 血清および糞便中のリゾチーム含量

家兎血清中のリゾチーム濃度は、図2に示したように固型飼料投与時では、12例の測定結果は約 1mg/100ml であった。これらの家兎に PF を与えた場合には、5 例中 2 例に若干の増加が認められた。なお用いた PF には *M. Lysodeikticus* を溶菌する物質が 1～7mg/100g 程度含有されていた。この物質が果してリゾチームか否かは不明である。一方、リゾチームを添加した試験粉乳 (Px) を投与した家兎では、増加の割合はそれぞれ異なっていたが、全例とも増加した。

また糞便中のリゾチーム含量については図3に示したが、Px 投与によって増加していることが認められる。

ヒトの場合には、少量ではあるが早産児や新生児の涙液中にリゾチームが含有され、月がたつにつれて、その授乳の種類には無関係に増大するが、早産児の唾液中に

図 2. Lysozyme 添加粉乳 (Px) および PF 投与による家兎血清中の Lysozyme 含量の変動 (7～10日間投与)

図 3. Px および PF 投与による家兎糞便中の Lysozyme 含量の変動 (7～10日間投与)

はほとんど含まれない。しかし授乳によって増大し、とくに母乳の授乳によって著明に増加することも知られている。一方、血清中のリゾチーム値は、年令によって大差がなく、毎日生理的な変化を示すが、乳児の方が一般に高く、とくに母乳栄養児の方が高値を示すという。これはおそらく人乳中にリゾチームが多量に存在するためであると考えられている。

3. 糞便中の窒素化合物の分布

Dowex-50W H型樹脂によって、固型飼料、PF および Px 投与家兎糞便中の N-分布の篩分別を行なった結果を図4に示した。

Dowex-50 樹脂に吸着される N-化合物の形態は、Dowex-50W を形成するジビニールベンゼン (DVB) の含量によって異なり、つぎのように N-化合物の篩分別ができる¹³⁾¹⁴⁾。

DVB 16% : アミノ酸, 低分子 N-化合物

12 : オリゴペプチド

8 : オリゴペプチド

4 : ペプトン, その他のペプチド

2 : プロテオース

家兎糞便中の N-化合物の分布については、家兎に固型飼料を投与した場合には、アミノ酸および低分子 N-化合物含量が少なく、樹脂に吸着されないような高分子の非タンパク態 N-化合物およびタンパク態の N-化合物が多く排泄されている。一方 PF 投与の場合には、糞便中にはタンパク態 N-化合物の排泄は全くなく、非タンパク態 N-化合物の排泄が若干ある程度で、その他はすべて低分子 N-化合物であった。さらにリゾチームを添加した試験粉乳 (Px) 投与においては、PF 投与の場合と大体同様の傾向を示す N-化合物の分布状態であった。

リゾチームは図5に示したように、in vitro においてはカゼインに対しては直接分解作用を示さないし、また

図 4. Px および PF 投与家兔糞便中の N-化合物の分布 (Dowex-50W による分割)

図 5. Lysozyme の casein 分解力 (Dowex-50W による N-化合物の分布)

Casein solution 1%, Lysozyme, Trypsin は Casein の 1/100 濃度
M/15 phosphate buffer, pH 6.2, 38°C 6 hrs. 反応

あらかじめリゾチームを作用させた後トリプシンで分解した場合にも、トリプシン単独に作用させたとときとの分解産物にはほとんど差が認められないので、in vitro におけるカゼイン分解の酵素作用はまったくないものと考えられる。しかし、in vivo においては、リゾチームの物理化学的特性が乳汁タンパク質に対して、消化吸収機構に関連した作用を示す多くの実験事実がある。例えば牛乳タンパク質に作用して微細な凝固物を形成させるために、消化、吸収がよくなることも考えられているが、ヒトと家兎では消化機構も異なるので、かならずしも好結果が得られるとはかぎらない。

4. 腸内菌叢の変動

ネズミに対して、固形飼料、PF および Px をそれぞれ 1 週間間隔に投与

図 6. 投与飼料によるネズミ糞便中の pH および菌叢の変動

栄 養 と 食 糧

表 2. 投与飼料によるネズミ糞便中の pH および菌叢の変動

投与飼料の種類		pH	好 気 性 菌 /g	嫌 気 性 菌 /g	ビフゝダス菌 /g	大 腸 菌 群 /g	B/A ×100	C/A ×100
グループ A								
実験開始時			∞	3.3×10^9	2.6×10^9	1.5×10^5	79	0
オリエンタル	4 日後	6.8	∞	3.8×10^9	2.8×10^9	6.2×10^5	74	0
	5 //	7.2	1.1×10^{10}	2.7×10^9	1.8×10^9	1.6×10^6	67	0
Px	6 //	4.8	2.6×10^{10}	1.5×10^{10}	1.6×10^{10}	1.0×10^4 以下	100	0
	7 //	5.6	9.2×10^9	1.6×10^{10}	2.3×10^{10}	4.7×10^5	100	0
PF	6 //	4.8	1.9×10^{10}	1.7×10^{10}	1.6×10^{11}	2.0×10^4 以下	94	0
オリエンタル	1 //	7.0	9.2×10^9	1.9×10^9	2.3×10^9	8.5×10^5	100	0
	7 //	7.0	2.3×10^9	3.3×10^9	1.3×10^9	2.0×10^5	39	0
	8 //	7.0	2.9×10^9	4.6×10^9	2.1×10^9	9.0×10^4	46	0
グループ B								
実験開始時			∞	7.5×10^8	7.5×10^8	8.8×10^5	100	0
Px	4 日後	5.8	∞	2.2×10^{10}	4.0×10^{10}	6.4×10^5	100	0
	5 //	5.8	1.7×10^{10}	5.0×10^{10}	5.0×10^{10}	4.5×10^4	100	0
PF	6 //	5.0	1.0×10^{11}	3.1×10^{10}	3.6×10^{10}	5.5×10^6	100	0
	7 //	4.4	3.4×10^{10}	9.9×10^9	1.2×10^{10}	1.0×10^5 以下	100	0
オリエンタル	6 //	7.0	1.1×10^{10}	2.8×10^9	2.2×10^9	9.1×10^5	79	0
	7 //	6.6	5.7×10^{10}	2.2×10^{10}	1.4×10^{10}	2.1×10^6	64	1
	13 //	7.0	1.1×10^9	1.2×10^{10}	7.4×10^9	1.0×10^6	61	0
	14 //	7.0	7.9×10^9	1.0×10^9	7.1×10^8	1.0×10^6	71	0
グループ C								
実験開始時			∞	6.9×10^9	4.9×10^9	9.7×10^4	71	0
PF	4 日後	5.0	∞	2.0×10^{10}	1.3×10^{10}	5.8×10^5	65	0
	5 //	5.4	1.2×10^{10}	3.0×10^{10}	2.9×10^{10}	2.5×10^4	97	0
オリエンタル	6 //	7.0	6.9×10^9	2.3×10^9	1.8×10^9	2.6×10^5	78	0
	7 //	7.2	4.4×10^{10}	1.7×10^9	9.5×10^8	1.5×10^7	56	0
Px	6 //	5.0	3.9×10^{10}	1.1×10^{10}	1.2×10^{10}	1.5×10^5	100	0
オリエンタル	1 //	7.2	3.9×10^{10}	1.6×10^{10}	1.4×10^{10}	2.0×10^7	88	0
	7 //	6.4	5.0×10^9	6.0×10^8	5.5×10^8	3.5×10^6	92	0
	8 //	7.0	2.7×10^{10}	7.9×10^8	7.7×10^8	4.0×10^6	97	0

して、その糞便について菌叢を測定した結果は、表 2 および図 6 に示した。

ネズミ糞便中のリゾチーム含量は測定しなかったのでリゾチーム含量とビフィダス菌数との関係は不明であったが、A, B, C 群とも Px または PF を投与すると pH の低下、ビフィダス菌の増殖が認められた。とくに Px 投与でこの傾向が明らかであった。Px または PF 投与を中止してオリエンタル固型飼料を投与すると、再び pH は上昇し、ビフィダス菌も減少した。ヒト天然栄養児の場合には腸内に嫌気性乳酸菌のビフィダス菌が圧倒的に多く、また糞便中にも多量のリゾチームが存在している。

要 約

リゾチームの生理効果を検討した。リゾチームはカゼインに対して in vitro では分解作用を示さない。

リゾチームを 130 mg/100 g 添加した育児用試験粉乳を家兎およびネズミに投与し、つぎのような結果を得た。

1. 牛乳中には 0.03~0.17mg/100g, 人乳では 3~10 mg/100g のリゾチームが含まれ、牛乳では人乳の約 1/100 程度であった。

2. 家兎にリゾチーム添加試験粉乳を投与した場合には、血清および糞便中のリゾチーム含量が増加した。とくに糞便中に多い。

3. 家兔糞便中の N-化合物の分布を Dowex-50W イオン交換樹脂で測定した結果、オリエンタル飼料と育児用粉乳を投与した場合はその分布が異なり、育児用粉乳投与によって糞便中には低分子 N-化合物が多くなった。しかしリゾチーム添加試験粉乳と無添加粉乳の間では明らかな差異は認められなかった。

4. リゾチーム添加育児用粉乳および無添加粉乳投与によって、ネズミ糞便中の pH は低下、ビフィダス菌は増加した。とくに試験粉乳投与ではこの傾向が明らかであった。さらに再びオリエンタル飼料を投与すると pH は上昇し、ビフィダス菌も減少した。

文 献

- 1) Abraham, P. E.: *Nature*, **140**, 24 (1937)
- 2) Jolles, P. and Lauregui-Adell, J.: *Atti. II, Symp. Intern. Lisoizima*, 1 (1961)
- 3) Chandan, R. C. and Shahani, M. K.: *Nature*, **204**, 76 (1964)
- 4) Shahani, M. K. et al.: *Intern. Dairy Cong.*, (1962), Sec. VIII, 1, 285
- 5) Meyer, K. et al.: *J. Biol. Chem.*, **113**, 479

- (1936)
- 6) Salton, J. R. M. and Ghuyssen, M. J.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **45**, 355 (1960)
- 7) Mule, F.: *Atti. I. Symp. Intern. Lisoizima* (1959)
- 8) Ferlazzo, A. and Lombardo, G.: *Atti. II. Symp. Intern. Lisoizima*, 7 (1961)
- 9) Rossi, R.: *Atti. II. Symp. Intern. Lisoizima*, 7 (1961)
- 10) Buccellato, G.: *Atti. II. Symp. Intern. Lisoizima*, 7 (1961)
- 11) Poli, G. and Holeknecht, E.: *Min. Pidiat.*, **3**, 386 (1951)
- 12) Litwack, G.: *Proceeding, Society of Experimental Biochemistry and Medicine*, **89**, 401 (1955)
- 13) 祐川, 西川, 末永: 雪印乳業技術研究所報告, No. 65 (1962)
- 14) 祐川, 西川, 末永: 雪印乳業技術研究所報告, No. 67 (1963)
- 15) Jolles, P. and Jolles, J.: *Nature*, **192**, 1187 (1961)
- 16) Smoleis, A. N. and Hartsell, S. E.: *J. Bact.*, **58**, 731 (1949)

(雪印乳業株式会社技術研究所)

ヒトの胎児の肝臓におけるフェニールアラニンからチロシンへの転換

ヒトの胎児 5 体 (体重 440~566 g) について、死後直ちに次の処理を行なった。10ml のグルコース等張液に溶かした $25\mu\text{C}$ の DL-フェニールアラニン-3- C^{14} (0.05mC/mg) を、へその血管を通して肝臓に直接注入しさらに 5ml の等張液で血管内の放射性物質を肝臓へ洗い込んだ。注入して 1 時間ののちに約 1 g の肝臓を採取し、ピクリン酸で脱たんぱくし、イオン交換樹脂カラム法でアミノ酸を分析した。カラムからの溶出液の一部を液体シンチレーションカウンターの 2ml flow cell に流し、各アミノ酸の放射能を調べたところ、Phe の他に

Tyr のピークにも放射能が計量され、その他のアミノ酸では放射能は測定にかかってこなかった。Tyr の一部はさらに異化されたり、たんぱく質へ取り込まれたりするため、Phe から Tyr へ転換した量は計算できなかったが、以上の結果は、ヒトの肝臓で Phe から Tyr への転換が行なわれていることをしめしている。(表 1)

Phenylalanine Conversion to Tyrosine by the Human Fetal Liver.

by Ryan W. L., Orr W.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **113** (3), 684~686 (1966) (堀井)