無たん白食飼育時の筋肉核酸含量の経時的变化

筋肉の核酸代謝と食飼条件との関連 (第3報)

斎 藤 洋 子, 神 立 誠

東京大学農学部農芸化学科

The Effect of Diet on Nucleic Acid Metabolism in Skeletal Muscle

Part 3 : Effect of Protein Free Diet on the Amounts of Nucleic Acids in Rat Skeletal Muscle

Yoko Saito, Makoto Kandatsu

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 24 (1), 8~11 (1972)

Adult rats were fed on a protein free diet for 0, 2, 4, 8, 16 and 30 days. The amounts of ribonucleic acid, deoxyribonucleic acid and nitrogen were determined in skeletal muscle and liver.

During the experimental period, the total amount of deoxyribonucleic acid in muscle remained constant. The amounts of ribonucleic acid and nitrogen in muscle were gradually decreased, and the change in the amount of ribonucleic acid of muscle was followed by the change in the amount of nitrogen. But in liver, the amounts of RNA and nitrogen were markedly decreased in the initial period and then tended to level off.

(Received August 19, 1971)

たん白質および必須アミノ酸が欠乏すると筋肉 RNA 量の減少することは Mandel¹⁾ から Allison²⁾ により明らかにされているが、その減少経過についての報告はほとんどなく³⁾、肝臓 RNA 量の減少経過⁴⁾ と同様であるか否かは不明である。たん白質欠乏時には筋肉のような主要でない器官の犠牲によって主要器官にたん白質合成が集中されるとの Garrow の仮説⁵⁾ および絶食時の筋肉 RNA の減少経過⁶⁾ から、無たん白食飼育時の量の減少経過は筋肉と肝臓とで異なることが予想される。

本報ではこの点を検討するため、成熟白ネズミを30日間無たん白食飼育し、経時的に筋肉および肝臓の核酸量およびたん白質量を測定した。

実 験

1. 供試動物および飼育法

体重 350 g 前後の Wistar 系雄成熟白ネズミを Table 1 に示した対照飼料で10日間予備飼育後、1区3頭ずつ6区に分け、それぞれ無たん白飼料で0, 2, 4, 8, 16お

Table 1. Composition of diets

Ingredient	Control	Protein-free
Starch	65%	85%
Casein	20	0
Soybean oil	5	5
Cellulose powder*	5	5
Salt mixture**	4	4
Vitamin mixture***	1	1

* Powder of filter paper (30 to 100 mesh) manufactured by Toyo Roshi Company, Ltd., Tokyo.

** Salt IV of Hegsted et al.⁷⁾

*** Composition described previously.⁸⁾

および30日間飼育した。無たん白飼料は対照飼料のカゼイン20%を澱粉に置きかえたものである。飼料1日給与量は体表面積1m² 当り1,600 kcal とし、1日1回給与した。

2. 臓器の採取および核酸の定量

所定期間飼育したネズミをエーテル麻酔下で頸動脈よ

り放血して殺し、筋肉は左右の後肢から脂肪をできるだけ除いて採取した。また肝臓は生理的食塩水で灌流して血液をできるだけ除いてから採取した。採取した筋肉および肝臓は秤量してから凍結し、 -20°C に保存した。

核酸は先に報告⁹⁾したとおり Schmidt-Thannhauser 法により抽出、定量した。窒素量はケルダール法により定量した。

結 果

無たん白食飼育により体重および筋肉重量は Table 2 および Fig. 1 に示したとおり少しずつ減少して30日間で約25%減少した。肝臓重量は生理的食塩水で灌流したために水分含量が一定しないので真の値を示しているかどうか問題があるかも知れないが参考のために示すと、Fig. 1 にみられるように筋肉と同様少しずつ減少して30日間で約37%減少していた。

Table 2. Body weight of rats fed protein free diet for 0, 2, 4, 8, 16 and 30 days.

Days on diet	0	2	4	8	16	30
Initial body weight	378 $\pm$ 29.0*	366 $\pm$ 32.2	372 $\pm$ 19.0	362 $\pm$ 24.1	355 $\pm$ 31.9	359 $\pm$ 30.0
Final body weight	378 $\pm$ 29.0	360 $\pm$ 32.6	368 $\pm$ 23.3	343 $\pm$ 27.0	308 $\pm$ 36.8	271 $\pm$ 46.2
% Decrease**	0.00	1.78	0.94	5.26	13.8	24.4

* Mean $\pm$ standard deviation of 3 rats/group

** $\frac{\text{Initial body weight} - \text{final body weight}}{\text{Initial body weight}} \times 100$

Table 3. Amounts of nucleic acids and nitrogen in skeletal muscle and liver of rats fed protein free diet for 0, 2, 4, 8, 16 and 30 days.

Days on diet		0	2	4	8	16	30
Muscle	DNA-P($\mu\text{g/g}$ wet weight)	55.0 $\pm$ 10.2*	60.5 $\pm$ 4.0	57.1 $\pm$ 0.4	70.8 $\pm$ 5.0	70.8 $\pm$ 4.8	75.2 $\pm$ 3.8
	DNA-P (μg in total leg muscle/100g initial body weight)	222 $\pm$ 12	223 $\pm$ 10	228 $\pm$ 2	241 $\pm$ 7	240 $\pm$ 14	224 $\pm$ 5
	RNA-P($\mu\text{g/g}$ wet weight)	124 $\pm$ 4	111 $\pm$ 6	105 $\pm$ 3	103 $\pm$ 5	102 $\pm$ 5	94.5 $\pm$ 3.2
	RNA-P/DNA-P	2.27 $\pm$ 0.32	1.83 $\pm$ 0.06	1.84 $\pm$ 0.05	1.46 $\pm$ 0.08	1.44 $\pm$ 0.07	1.26 $\pm$ 0.09
	N (mg/g wet weight)	34.6 $\pm$ 0.7	34.5 $\pm$ 0.4	43.5 $\pm$ 0.5	34.7 $\pm$ 0.7	34.6 $\pm$ 0.7	34.4 $\pm$ 0.4
	N/DNA-P	631 $\pm$ 134	573 $\pm$ 39	604 $\pm$ 13	492 $\pm$ 43	489 $\pm$ 25	458 $\pm$ 28
	μg RNA-P/mg N	3.52 $\pm$ 0.18	3.21 $\pm$ 0.15	3.05 $\pm$ 0.12	3.03 $\pm$ 0.22	2.93 $\pm$ 0.12	2.75 $\pm$ 0.11
Liver	DNA-P($\mu\text{g/g}$ wet weight)	234 $\pm$ 31	283 $\pm$ 8	269 $\pm$ 15	285 $\pm$ 5	313 $\pm$ 43	326 $\pm$ 5
	DNA-P (μg in total liver/100g initial body weight)	814 $\pm$ 14	801 $\pm$ 69	794 $\pm$ 51	823 $\pm$ 46	772 $\pm$ 21	752 $\pm$ 24
	RNA-P($\mu\text{g/g}$ wet weight)	813 $\pm$ 12	676 $\pm$ 82	635 $\pm$ 74	697 $\pm$ 76	711 $\pm$ 76	727 $\pm$ 38
	RNA-P/DNA-P	3.35 $\pm$ 0.06	2.39 $\pm$ 0.24	2.35 $\pm$ 0.15	2.42 $\pm$ 0.10	2.28 $\pm$ 0.12	2.24 $\pm$ 0.14
	N (mg/g wet weight)	31.7 $\pm$ 0.6	29.4 $\pm$ 1.9	26.0 $\pm$ 3.0	25.6 $\pm$ 0.9	24.9 $\pm$ 2.8	23.6 $\pm$ 0.5
	N/DA-P	131 $\pm$ 2.0	104 $\pm$ 4.0	96.6 $\pm$ 5.1	90.0 $\pm$ 3.6	79.9 $\pm$ 5.5	72.6 $\pm$ 2.5
	μg RNA-P/mg N	25.6 $\pm$ 0.8	22.8 $\pm$ 1.4	24.4 $\pm$ 0.3	27.2 $\pm$ 1.6	28.5 $\pm$ 0.5	30.8 $\pm$ 2.3

* Mean $\pm$ standard deviation of 3 rats/group

Fig. 1. Weight of skeletal muscle and liver of rats fed protein free diet for 0, 2, 8, 16 and 30 days.

Each point is the mean of 3 rats. The vertical line indicates a standard deviation.

Muscle ———, Liver

核酸量および全窒素量の変化は Table 3 に示したとおりである。筋肉および肝臓の初体重 100g 当り DNA 全量は無たん白食飼育により増減しないことが認められ、前報⁹⁾ および一般にいわれているように、DNA が組織成分の絶対量の変化を表わす際に基準として利用し得ることが再確認された。

筋肉の単位重量当りの RNA 量は少しずつ減少し、一方、DNA 量は少しずつ増加する結果、RNA-P/DNA-P は絶食の場合と同様に無たん白食飼育初期の減少量は大きく 8 日間で約 27% であったが、8 日以降の減少量は小さくなり、30 日間で約 44% 減少した。この減少経過は Allison の結果と一致していた。肝臓の単位重量当りの値は生理的食塩水で灌流しているため厳密には比較できないかも知れないが、RNA 量は初期 2 日間で約 10% 減少したが、2 日以降はほとんど変化しなかった。また RNA-P/DNA-P も初期 2 日間で約 30% 減少したが、その後はほぼ一定であった。この結果は Munro¹⁰⁾, Kosterlitz¹¹⁾, Thomson¹²⁾ の短期間の観察結果と一致していた。

単位重量当りの全窒素量は筋肉では無たん白食飼育による変化はみられず、組織の全窒素量の減少は重量の減少と並行していた。しかし肝臓では少しずつ減少していくように認められた。RNA-P/全窒素は筋肉では少しずつ減少し、RNA 量の減少が全窒素量の減少に先行することが認められたが、肝臓では初期 2 日間に 11% 減少したのみで、2 日以降は少しずつ増加し 30 日間で 0 日より 21% 増加していた。

考 察

筋肉の RNA 量および全窒素量の無たん白食飼育による変化を調べた結果 (Fig. 2 参照) RNA 量、全窒素量共に無たん白食飼育時にはほぼ一次反応型で減少するのであろうと推測される。また明らかに RNA 量の減少は全窒素量の減少に先行することが認められ、これは RNA がたん白質より食餌たん白質の影響を受け易いことを示していると考えられる。さらに無たん白食飼育 8 日前後で RNA 量および全窒素量の減少する速度が異なるように見受けられ (Fig. 2) この変化は肝臓のそれらの変化と類似しているので、筋肉にもたん白質欠乏により速やかに減少する易動性のたん白質および RNA が肝臓に存在するそれらの割合で存在しているものと推察される。さらにこのことを繰り返して観察してみると^{13) 14)}、ここでみられたような無たん白食飼育 8 日前後での速度の相違は認められなかった。しかしながら本実験においては組織重量の変化がばらついていることなどから、個体差あるいは他の操作上の誤差によるのではないかと考えられる。

Fig. 2. Logarithm of total percentage changes in amounts of ribonucleic acid and nitrogen in skeletal muscle of rats fed protein free diet for 0, 2, 4, 8, 16 and 30 days. Each point is the mean of 3 rats. The vertical line indicates a standard deviation. RNA-P ·——·, Nitrogen ×·····×

無たん白食飼育時の筋肉 RNA 量の減少経過は Table 3 および Fig. 2 にみられるように肝臓のそれと異なり無たん白食期間を通じて少しずつ減少している。この結果および Young らのリボゾーム中のポリゾームの割合がたん白質欠乏により減少するとの結果^{15) 16)} から、筋肉ではたん白質欠乏時にたん白質合成の場が少しずつ減少することによってたん白質合成能が低下していると考えられ、この現象は Garrow の仮説⁹⁾を側面より支持するものであろう。

要 約

成熟白ネズミを 0, 2, 4, 8, 16 および 30 日間無たん白食飼育し、後肢筋および肝臓の RNA 量、DNA 量および全窒素量を測定した。

筋肉の DNA 量は肝臓の場合と同様、無たん白飼育により変化しなかった。RNA 量は肝臓では初期に急減したのみで、その後はほぼ一定であったが、筋肉では無たん白食飼育期間中少しずつ減少し続けた。筋肉の RNA 量の減少は全窒素量の減少より速く、先行することが認められた。

文 献

- 1) Mandel, P., Jacob, M. and Mandel, L.: *Compt. rend. soc. biol.*, **143**, 536 (1949)
- 2) Allison, J. B., Wannemacher, R. W. Jr., Banks, W. L. Jr., and Wunner, W. H.: *J. Nutr.*, **84**, 383 (1964)
- 3) Allison, J. B. and Wannemacher, R. W. Jr.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **16**, 445 (1965)
- 4) Garrow, J. S.: *J. Clin. Invest.*, **38**, 1241 (1959)
- 5) Munro, H. N.: *Proc. Nutr. Soc.*, **19**, 55 (1960)
- 6) 斎藤洋子, 神立 誠: *栄養と食糧*, **24**, 211 (1971)
- 7) Hegsted, D. M., Mills, R. C., Elvehjem, C. A. and Hart, E. B.: *J. Biol. Chem.*, **138**, 495 (1941)

- 8) 斎藤洋子, 神立 誠: 農化, 45, 398 (1971)
- 9) 神立 誠, 斎藤洋子: 農化, 42, 479 (1968)
- 10) Munro, H. N., Naismith, D. J. and Wikramanayake, T. W.: *Biochem. J.*, 54, 198 (1953)
- 11) Kosterlitz, H. W.: *J. Physiol.*, 106, 194 (1947)
- 12) Thomson, R. Y., Heagy, F. C., Hutchison, W. C. and Davidson, J. N.: *Biochem. J.*, 53, 460 (1953)
- 13) 斎藤洋子, 神立 誠: 投稿準備中
- 14) 斎藤洋子, 神立 誠: 投稿準備中
- 15) Young, V. R., Chen, S. C. and Macdonald, J.: *Biochem. J.*, 106, 913 (1968)
- 16) Young, V. R. and Alexis, S. O.: *J. Nutr.*, 96, 255 (1968)

(昭和46年8月19日受理)