ラット尿より分離した食欲抑制物質 (FMS-1A) について

高橋 佳代子, 小池 五郎

女子栄養大学生理学研究室

Anorexigenic Substance (FMS-1A) Extracted from Rat Urine

Kayoko TAKAHASHI, Goro KOIKE

Laboratory of Nutritional Physiology, Kagawa Nutrition College,
Sakado, Saitama, Japan

Anorexigenic activity of FMS-1A extracted from rat urine by the method of Stevenson *et al.* was examined. The significant reduction in body weight and anorexigenic effect on food and water intake were followed by the intraperitoneal injection of FMS-1A into rats. It was demonstrated that FMS-1A was a substance related to protein, and its anorexigenic activity remained after standing at room temperature for 10 days. Then the collected rat urine was concentrated by ultrafiltration method and fractionated. A fraction having molecular weight more than 5,000 also showed the anorexigenic activity. This result suggests that anorexigenic substance is present in normal rat urine, but it gets no activity by treatment of alcohol and/or benzoic acid. (Received February 17, 1977)

1964年に Stevenson らは、ラットの尿より Fat-Mobilizing-Substance (FMS) を分離し、その作用を調べた¹⁾²⁾。すなわちラット尿にアルコールと安息香酸を加え、pH 5.3 に調整すると沈殿が生成する。この沈殿物をまず水で抽出 (FMS-1B)、次に水に不溶の部分を 0.5% 炭酸ナトリウム溶液で抽出 (FMS-1A) し、それぞれラット腹腔内に注射 (6~12 mg/100 g B.W.) したところ FMS-1B では脂肪動員作用がみられ、一方、FMS-1A には食欲抑制作用のあることが明らかにされた。ウシ下垂体後葉 powder, vasopressin を投与した場合も食欲は抑制されるが、FMS-1A はこれらとは異なる物質であり、その生体内での origin は不明であると Lichton らは述べている³⁾。

そこで FMS に関する報告^{1)~6)}を検討し、ラットの尿より FMS-1A を分離、その食欲抑制作用について調べたのでその結果を報告する。

実験および結果

1. FMS-1A の抽出

ラット数匹をメタボリックケージで飼育し、尿を集め Stevenson らの方法¹⁾に従って FMS-1A を分離した (Fig. 1)。FMS-1A の排泄量は、Table 1 に示すようにラット 1 匹につき 1 日あたり 4~16 mg (乾燥重量) であり、Lichton らの報告 (2~15 mg)³⁾ と同じような結

果を得た。

また FMS-1A のたん白質量を Lowry 法で測定したところ、ほぼ乾燥重量に等しいことがわかった。

尿にアルコールを加えて沈殿を生成する際のアルコール濃度について検討した結果を Fig. 2 に示した。粗 FMS-1A を分離する際、アルコール終末濃度はおよそ 70% 以上必要であった。

2. 食欲抑制作用について

Wistar 系雄ラット (体重 150~500 g) を水、固型飼料を自由に摂取させて飼育し、体重、摂食量、摂水量を毎日測定した。飼育室は室温 23±1°C、湿度 50~60% にコントロールし、明暗のサイクルは 12 時間とした。ラットは飼育室が暗くなるとすぐに飼料を食べ始め、活発に動きまわる。室内が明るくなると飼料の摂取をやめ、明るい間はほとんど食べていない。

飼育室が暗くなる 1 時間前に、FMS-1A、FMS-1B、水または 0.5% 炭酸ナトリウム溶液をラット腹腔内に注射した。腹腔内に投与するにあたって各溶液はメンブランフィルター (ミリポアフィルター孔径 0.30 μm) でろ過除菌して用いた。注射後 24 時間の摂食量、摂水量をそれぞれ注射前の平均摂取量に対するパーセントとして表わすと、Table 2 に示すように、FMS-1A (6 mg/100 g B.W.) を投与したラットでは体重が減少し、摂食量、摂水量がともに低下した。

Fig. 3 に体重変化と摂食量の一例を示した。FMS-1A

を注射後24時間強い食欲抑制効果がみられ、その後徐々に回復して3～4日後には摂食量は投与前のレベルにもどった。

Fig. 1. Procedure for the preparation of FMS-1A and FMS-1B from urine.

Table 1. Yields of FMS-1A from rat urine.

Diet	Total urine volume (ml)	Collection ¹⁾ periods (days)	Yield	
			Dry wt (mg/rat/day)	Protein (mg/rat/day)
Stock diet	210	25	15.6	14.0
Stock diet	650	45	—	16.0
Casein 18%	660	36	—	13.0
Fasting	380	33	4.8	6.4

¹⁾ The total number of days.

Table 2. Effect of intraperitoneal injection of FMS-1A from rat urine on body weight, food intake and water intake.

Injection	Dosage (mg/100 g BW)	No. of rat	Body weight gain (g)	Food intake ¹⁾ (%)	Water intake ¹⁾ (%)
Distilled water		5	3±3.2	102±9.4	94±17
0.5% Na ₂ CO ₃		5	1±2.5	95±12	99±28
FMS-1A	6	6	-10±5.4*	44±14*	58±26*
FMS-1B	6	6	0.3±3.3	92±6.8	100±11

¹⁾ Intake (%) = $\frac{\text{Daily intake after injection}}{\text{Average daily intake before injection}} \times 100$.

* $p < 0.01$, compared with distilled water.

3. FMS-1A の安定性

Table 1 で FMS-1A の乾燥重量とたん白質量とがほぼ等しいことを示したが、FMS-1A の活性がたん白質あるいはそれに関連の深い物質にあると仮定するとその安定性が問題になる。そこで、Fig. 1 に示した方法によってラット尿から抽出した FMS-1A (Alkaline extract)

Fig. 2. The interrelation between the yields of FMS-1A from urine and the final concentration of alcohol. FMS-1A was extracted from each 100 ml of pooled rat urine samples by the method of Stevenson.

Fig. 3. Changes of body weight and food intake after intraperitoneal injection of FMS-1A (6 mg/100 g BW).

Table 3. Effect of intraperitoneal injection of FMS-1A or fractionated urine on food intake.

Injection	Dosage Protein (mg/100 g BW)	No. of rat	Food intake ¹⁾ (%)
FMS-1A Frozen for 3 weeks	6	3	49±8
FMS-1A Refrigerated for 3 weeks	6	1	70
FMS-1A Left in room temp. for 10 days	6	4	67±7
Fractionated urine M.W. > 5,000	12	3	27±9

¹⁾ Food intake (%)

$$= \frac{\text{Daily food intake after injection}}{\text{Average daily food intake before injection}} \times 100.$$

を三つに分け、それぞれ3週間凍結保存、3週間冷蔵保存、10日間室温に放置した後、ラット腹腔内に注射して食欲抑制効果の有無を調べた。結果を Table 3 に示したが、FMS-1A の食欲抑制作用は3週間凍結、3週間冷蔵後ばかりでなく、室温に10日間放置後にも消失しないことが見いだされた。

4. 濃縮した尿の食欲抑制作用

食欲を低下させる作用をもつ物質が尿中の排泄物そのものであるのか、あるいはアルコール、安息香酸等の処理によって活性を得たものであるのかを明らかにするため、ラットの尿を限外ろ過法で濃縮し、ラット腹腔内に投与した。結果は Table 3 に示すように、分子量 5,000 の膜（ダイヤフィルター G-05T）を用いて濃縮した尿には FMS-1A と同様の食欲抑制効果が認められた。

考 察

Stevenson らの方法に従ってラット尿より FMS-1A を分離し、これをラット腹腔内に注射したところ、体重減少、摂食量および摂水量の低下が観察された。食欲抑制作用は注射後 24 時間強く、その後徐々に回復した。これらの所見は Stevenson らの観察した結果²⁾と同様であった。

Table 1 に示すように、FMS-1A の乾燥重量とたん白質量とはほぼ等しいことがわかった。一方その食欲抑制作用は室温に 10 日間放置した後にも失われなかった (Table 3)。FMS-1A の安定性については、37°C 6 時間加熱あるいは 100°C 10 分間加熱によってもその作用が失われなかったと Beaton らは報告している⁷⁾。この

ように FMS-1A はたん白質またはそれに関連のある物質であろうと予想されるが、食欲抑制作用をもつ部分は比較的安全性が高いといえる。

これまで FMS-1A は尿にアルコールと安息香酸を加えて沈でん分離されていたため、食欲抑制作用をもつ物質はこれらの処理によって活性を得た可能性も考えられる。そこでわれわれはラット尿をそのまま限外ろ過法で濃縮し、濃縮した尿をラット腹腔内に注射して食欲抑制の有無を調べた。Table 3 に示したように、ラット尿の分子量 5,000 以上の画分に食欲抑制効果がみられた。この結果から食欲抑制作用をもつ物質はアルコール、安息香酸等の処理によって活性を得たものではなく、ラットの正常尿中に排泄されたものであることが明らかになった。

一般に、ラット腎臓のたん白質再吸収率は 96~98% であり、ラット尿中には 30~120 mg% のたん白質が排泄されているといわれる⁸⁾。尿成分のうちたん白質以外のものは分子量が小さく、限外ろ過法で用いた分子量 5,000 の膜を通過してしまうと考えられる。

われわれはすでに限外ろ過法を用いて FMS-1A を分画し、分子量 2 万~5 万および 5 万以上の画分に食欲抑制作用のあったことを報告した⁹⁾。Stevenson らは FMS-1A を加水分解した後、アミノ酸と糖の存在を確認している¹⁰⁾。また Lichten らの報告によれば FMS-1A を限外ろ過法で分画したところ分子量 3 万~5 万の画分が最も強く食欲を抑制したという¹¹⁾。

以上、われわれの実験結果および他の研究報告を参考にして考えると、ラットの食欲を抑制する物質は尿中に排泄されたたん白質の一部またはそれに結合した物質ではないかと思われる。

FMS-1A の構造、その作用のしくみについてはいまだ明らかにされていないが、生体の食物摂取のコントロール機構と関わりがあるかなど興味深い問題と考えられる。

要 約

1) Stevenson らの方法に従って、ラット尿より FMS-1A を分離した。

2) FMS-1A をラット腹腔内に注射したところ、体重が減少し、摂食量および摂水量が低下した。

3) FMS-1A はたん白質あるいはそれに関連のある物質であろうと予想されるが、その食欲抑制効果は抽出後室温に10日間放置した後にも失われず、比較的安全性の高い物質であることが認められた。

4) 尿にアルコールと安息香酸を加えて FMS-1A を沈殿させるのではなく、限外ろ過法を用いてラットの尿を濃縮したところ、分子量 5,000 の膜で濃縮された画分

に FMS-1A と同様な食欲抑制効果がみられた。

この結果より、食欲抑制作用をもつ物質はアルコールや安息香酸等の処理により活性を得たものではないことが明らかになった。

文 献

- 1) Beaton, J.R., Szlavko, A.J. and Stevenson, J.A.F.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, **42**, 647 (1964)
- 2) Beaton, J.R., Szlavko, A.J., Box, B.M. and Stevenson, J.A.F.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, **42**, 657 (1964)
- 3) Mukaida, C.S. and Lichton, I.J.: *J. Nutr.*, **101**, 767 (1970)
- 4) Weil, R. and Stetten, D.: *J. Biol. Chem.*, **668**, 129 (1947)
- 5) Chalmers, T.M., Kekwick, A., Pawan, G.L.S. and Smith, I.: *Lancet*, **1**, 886 (1958)
- 6) Stevenson, J.A.F., Box, B.M. and Szlavko, A.J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **115**, 424 (1964)
- 7) Beaton, J.R. and Uehara, P.S.: *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, **47**, 291 (1969)
- 8) 吉村寿人, 緒方維弘編: 生理学大系 IV-2, p. 422 (1972) 医学書院
- 9) 高橋佳代子, 小池五郎: 第30回日本栄養・食糧学会総会 (1976) (仙台)
- 10) Belbeck, L.W., Steffens, A.B., Squires, B.P. and Stevenson, J.A.F.: *Fed. Proc.*, **29**, 658 (1970)
- 11) Lee, Y.W. and Lichton, I.J.: *J. Nutr.*, **103**, 1616 (1973)

(昭和52年 2 月17日受理)