安定同位元素 ^{13}C および ^{15}N を用いた人体に おけるアミノ酸代謝の動的様相の研究

Vernon R. YOUNG

Dynamics of Human Whole Body Amino Acid Metabolism: Use of Stable Isotope Probes and Relevance to Nutritional Requirements

*Professor of Nutritional Biochemistry, Department of Nutrition and Food Science
Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.*

1. 序 論

人体のたん白栄養において窒素と不可欠アミノ酸必要量をより正しく定めるためには、身体全体としてたん白質・アミノ酸代謝が統合されている機構や本質をより深く理解することが必要である。近年、遺伝子発現、組織・臓器たん白質の合成とそれに続く分解等に関する分子レベル、細胞レベルでの所見は、ある範囲においては非常に詳細に、明らかにされてきたが、分子レベル、細胞下レベルおよび臓器レベルに特有な代謝過程が正常動物の栄養状態維持にどのように関連しているかについては今後の精力的な探究に待たねばならない。たん白質・アミノ酸栄養の知識を現在のむしろ経験的、ときにはほとんどナイーブとも思える状態からさらに先に進めなければ、上記の関係をはっきりさせることはむずかしいであろう。そのため、ここ数年間われわれは、身体全体のたん白質・アミノ酸代謝機構のより完全な様相を明らかにするとともに、これがさまざまな栄養状態および病的状態によってどのように影響されるかを明らかにしようと考え研究を行ってきた。

この招待講演においては、成人における体たん白質・アミノ酸代謝の生理をより深く追究するために、最近 MIT およびその他の研究室と協同で行なわれた仕事について述べることにしよう。われわれの目的は宿主の栄養状態や生理的状态がいろいろに変化する際、窒素代謝の調節 (N-エコノミー) がどのようになされるかを調べることであった。

ところで、われわれの研究は多くの研究 (者) に刺激され発展したのであるが、そのうち 2~3 の特記すべき

研究をまずあげておきたい。それらのものとしては初めジャマイカで、ついでロンドンで行なわれた Waterlow らの研究、スコットランドおよび米国で行なわれた Munro の研究、ガテマラと MIT における Scrimshaw らの草分けの研究があり、これらはいずれも以下に述べる問題に対して私に非常に興味を呼びおこしたのである。さらに、カリフォルニア大学バークレー分校の Calloway と Margen、徳島大学の井上らによって得られた精細な出納試験の結果や栄養上重要な所見はまた、人体たん白代謝の様相をさらに解明したいという私の願望を大いに鼓舞したのである。私は、これからお話しすることがたん白栄養状態を決定したり、さらには食事窒素やアミノ酸の必要量を決定したりする際に役立つことを願っているのである。

2. 安定同位元素法を用いることの利点

人体のたん白質・アミノ酸栄養に関する現在の知識の大半は窒素出納法による研究からえられたものである。しかしながら、体成分の代謝回転に関する Schoenheimer の古典的研究以来、体たん白の大部分は常に合成と分解を繰り返していることが広く認められるようになった。こうしたわけで、たん白質・アミノ酸代謝における同化と異化のバランスによって細胞や臓器たん白の含量、ひいてはたん白質の栄養必要量が規定されることになる。さらに、たん白の合成や分解、個々のアミノ酸の代謝等は種々の要因により影響され、また特別の調節機構によって調節されている。また、細胞は複雑な生化学的機構をもち、特定の環境条件に最もよく適合するため、生成するたん白質の量やタイプを変える能力をもっている。したがって、臓器たん白の合成および分解量が広い範囲にわたって変動した場合でも、身体の窒素平衡

Fig. 1. Schematic of the major pathways of disposal of dietary amino acids (N).

は維持される。すなわち窒素出納の算定はたん白質・アミノ酸栄養の研究において有用ではあるが、それによって体内におけるたん白質・アミノ酸代謝状態を詳細に知ることはできず、これは単にたん白合成速度と分解速度の正味のバランスを表わすにすぎないのである。

アミノ酸代謝の主要経路としては、1)たん白の合成と分解、2)核酸、可欠アミノ酸およびクレアチンのような種々の含窒素化合物の生成、および3)アミノ酸の分解の3経路がある (Fig. 1)。これら三つの主要代謝反応は、それぞれの組織の特性、食事因子あるいは宿主の栄養状態等に応じて、あるときは平行し、あるときは逆方向に進行する。それゆえ種々の栄養状態下にある健康人や疾患時にどのようにして身体全体として窒素やアミノ酸代謝の恒常性が維持されているかということをもよりよく理解するために、われわれは Waterlow らが提唱し、改良した同位元素トレーサー法を用いてきた。この研究によってゆくゆくは健康人や病人のたん白質、アミノ酸必要量がより適切に決定できることを目的としているのである。

個体全体の窒素・アミノ酸代謝の動的様相を探究するためには、同位元素で標識した化合物を用いるトレーサー法によらねばならない。最も広く用いられている標識としては放射性同位元素の ^3H と ^{14}C がある。しかしながら、これら放射性同位元素をすべての人体実験や臨床研究に用いることは倫理的配慮から厳重な規制がしかれており、したがって ^2H 、 ^{13}C 、 ^{15}N および ^{18}O のような非放射性トレーサーを幼児、小児、妊娠可能な年齢層の婦人および健康成人におけるたん白質・アミノ酸代謝の研究に用いることはとくに魅力的な手段なのである。

生物学的に重要なSの安定性同位元素は50年も以前に Aston により発見され、当時としては新しい質量分析計の記載もなされてはいるが、人での研究を含め、代謝研究における安定性同位元素の利用が急速に増してきたのはここ10年間のことである。AstonがSの安定性

同位元素を発見してから5年以内にC、O、NおよびHの重同位体が順次発見された。その後間もなく、Schoenheimer らは ^{15}N 標識化合物を用い、正常動物における身体全体のたん白代謝回転ならびにアミノ酸代謝の研究を行なった。これらの動物実験は、人におけるたん白質・アミノ酸代謝の動的様相がどうなっているかという興味ある研究の発端となったのである。安定同位元素とその標識化合物の生産が増え、入手しやすくなったことにより、ガスマス分析法という生体サンプル中の同位元素の便利かつ実用的な測定技術の進歩と相まって、正常人体におけるアミノ酸・たん白質代謝上の興味ある未解決の諸問題の探究がいまや可能となったのである。

3. 安定同位元素を用いる研究手法

人体のたん白質・アミノ酸代謝を研究する場合、種々の方法や標識が用いられうるであろう。しかしながら、われわれの研究においては以前用いられた同位元素1回投与法 (パルスラベル法) につきまとういくつかの難点を避けるため、Waterlow らにより詳細に研究された同位元素持続注入法をもつて使用することにした。トレーサー持続注入法には、Picou and Taylor-Roberts のモデルのように窒素代謝終末産物中のアイソトープ測定を行なう方法と、標識アミノ酸ないしはアミノ酸前駆体を投与した後の血漿中の同位元素 (^{15}N あるいは ^{13}C) の増量を測定した。後者の方法を用いる場合、呼吸 CO_2 中の ^{13}C の測定、あるいは尿中尿素または他の代謝産物ないし排泄物中の ^{15}N の測定を組み合わせ行なうと、体全体のアミノ酸の流れ (flux) をアミノ酸のたん白質へのとり込みおよびたん白質からのアミノ酸の放出、アミノ酸の中間代謝産物あるいは終末産物への転換等の経路 (成分) 別に決定することができる。

同位元素持続注入法を用い、血漿や排泄産物中の安定同位元素が増量してゆく速度を測定する際にはわれわれは一つの代謝プールを想定し、このプールからたん白合成あるいは酸化的分解のためにアミノ酸が消失していくのだという見地に立って体窒素代謝を見ているのである (Fig. 2)。一方、代謝プールへの窒素 (あるいはアミノ酸) の供給はおもに食事あるいは細胞・組織たん白質の分解またはその両者によっている。これらのアミノ酸や窒素の動きは特別に標識した不可欠 (必須) アミノ酸を投与したのち、血漿中の遊離アミノ酸により標識アミノ酸がどれほど希釈されたか、また呼吸あるいは尿中窒素成分 (尿素、アンモニアあるいは総窒素) 中へどれほどの ^{13}C や ^{15}N が排泄されたかを測定することにより定量的に知りうる。たとえば以前 Golden and Waterlow が ^{14}C -ロイシンを用いて行なったと同じ実験を ^{13}C -ロ

Fig. 2. General model of whole body amino acid metabolism as studied by the application of a continuous, stable isotope infusion approach.

The author's studies have involved use of ^{15}N -glycine, α - ^{15}N lysine and $1\text{-}^{13}\text{C}$ -leucine as well as other tracers, as indicated in the text.

イシンを用いて行ない、血漿ロイシンの流れ (flux) とそのおもな代謝経路 (ロイシンの酸化速度、体たん白質への取込み速度、ならびにたん白質分解と食事に由来する代謝プールへのロイシンの流入速度) の大きさを測定する際に、われわれが用いた特別のモデルを Fig. 3 に示した。これはある種の確率論的分析法であり、また全過程の結果を測ってはいないが、種々の中間代謝プールやこれらプールの関係する交換反応については測定していない。このモデルをわれわれはバリン、リジンの代謝研究に用いてきたし、最近ではスレオニン代謝の研究で用いている。われわれはまたこの方法をグリニンやアラニンのような可欠アミノ酸の代謝研究においても用いたが、この際には新たに (*de novo*) 合成された可欠アミノ酸が身体全体のアミノ酸の flux にどの程度関与するかということ調べなければならない。このためには標識可欠アミノ酸と同時に $^{14}\text{COOH}$ をもつ標識ロイシンあるいはリジンのような不可欠アミノ酸を持続注入するのである。Fig. 4 に示したように、この方法によってたん白分解により遊離し、血漿中へ流入した可欠アミノ酸量を測定することができる。試験アミノ酸の外因性摂取量が既知であるならば、新たに作られたアミノ酸分子の合成速度が算定できる。このようにして以下に述べるように、さまざまな栄養状態における種々の可欠および不可欠アミノ酸代謝の様相を比較研究することができる。これらのモデルやこれを適用する際に用いられた仮定の詳細については、Waterlow らにより十分検討がなされたし、また最近われわれも検討を行なった。

4. 安定同位元素標識の応用例

1) 食事たん白質およびエネルギー摂取量の変化に対するアミノ酸代謝の反応 生体に対するアミノ酸供給の程度やこれらアミノ酸からポリペプチドが合成される際、さらにはこれらペプチドが分解される際の種々の段階に必要な高エネルギー中間体 (ATP と GTP) の利用性の大小は細胞のたん白質、アミノ酸代謝状態に影響を与える。それゆえ、体窒素代謝が食事性のたん白質やエネルギー摂取量の変化に非常に敏感であるということは驚くにあたらない。たとえば、窒素出納はたん白質摂取量が減少するにつれて正の程度を減じ、必要量以下の摂取量になると負となるのである。また食たん白質摂取レベルが一定の場合には窒素出納は食事エネルギー量やそのエネルギー源の種類に影響される。成人においてたん白質やエネルギー摂取量を変えた場合、窒素出納がどのように変動するかについてはすでに引用した井上らの研究がある。

たん白質やエネルギー摂取レベルを種々変えた際みられる窒素出納の変化や食事性窒素の蓄積効率の変動の原因となっている身体全体の代謝機構を追究するためにわれわれは安定同位元素を用い実験を行ってきた。たとえば、 $1\text{-}^{13}\text{C}$ -ロイシンと $\alpha\text{-}^{15}\text{N}$ -リジンの同時持続注入法を用い、食たん白質摂取量を変えると身体全体のロイシンおよびリジン代謝がどのように変化するかを青年について調べた。この実験では卵たん白質摂取レベルを 1.5, 0.6 および 0.1 g/kg/日としたが、このうち 0.6 g/kg/日の摂取レベルは健康な青年の平均維持必要量であり、摂取量を 1.5 g/kg あるいは 0.1 g/kg にしたときのロイシンおよびリジン代謝の変化を評価するための基準たん白質摂取レベルとして選んだ。たん白質摂取量を下げると身体全体のロイシンとリジンの flux は減少した (Fig. 5)。もっとも実際の flux の絶対量はロイシンよりもリジンのほうが低く、高たん白質摂取時においてはとくに低値を示した。

このようにたん白質摂取量を変動させた際のロイシン flux の代謝経路別の要素 (ロイシンの酸化、代謝プールから体たん白質への転入および体たん白質分解による放出) の変化をまとめて Fig. 6 に示した。これによると、ロイシンの酸化速度および体たん白質への取込みはたん白質摂取量の変化と平行して変動している。必要量レベル (0.6 g/kg) から十分高いレベル (1.5 g/kg) まで食たん白質を増加させた場合の吸収後の状態 (空腹状態) における代謝をみると、ロイシンの体たん白質への取込みは増加しており、その増量は flux の増量と等しかった。摂食状態ではロイシンの酸化は非常に増大し、また組織たん白質へのロイシンの取込み速度も増加した。一方、たん白質摂取量を 0.6 g/kg から 0.1 g/kg レベルに

Fig. 3. Model of whole body leucine metabolism studied using a continuous infusion of 1-¹³C-leucine.

An isotopic steady-state in the plasma leucine pool and in expired CO₂ can be rapidly achieved using priming doses of ¹³C-leucine and sodium bicarbonate-¹³C, as described by Matthews *et al.*

Fig. 4. Model used to estimate whole body flux and *de novo* synthesis of a dispensable amino acid, such as alanine or glycine.

減少させると、ロイシンの酸化速度は少ししか低下しないが、体たん白質への取込みおよび体たん白質からの遊離は著明に減少した。

これらの所見は、幼若ラットが成長に要する量以上にあるいは成熟ラットが維持量以上に過剰の必須アミノ酸を摂取すると、このアミノ酸の酸化速度が上昇するという観察と一致するものである。食たん白質摂取量を変えた際身体全体のロイシン代謝および窒素出納にみられる適応反応の機序は一つでないことをもわれわれの所見は示唆している。さらに、これらの適応機序は宿主の総窒素およびアミノ酸必要量と関係することは明白で、十分あるいは過剰量のたん白質を摂取した際みられるロイシン代謝の主要な変化は、ロイシン分解の著明な増加であり、とくに摂食状態において著しい。ところが、維持レベル以下 (0.1 g/kg) から維持レベル (0.6 g/kg) の範囲でたん白質摂取量を変化させると、おもに体たん白代謝回転の減少と関連のあるロイシン代謝の変化 (体たん白質への転入と体たん白質からの遊離の減少) がもたら

Fig. 5. Comparison of whole body fluxes of leucine and lysine in young men, studied while in the fed and fasted (post-absorptive) states for three levels of protein intake.

Drawn from data of Motil *et al.*

されるのである。

このような食事によりひきこされる身体全体のロイシン動態の変化は、宿主のエネルギー状態やエネルギー摂取レベルにより修飾される。そこでわれわれは、エネルギー摂取量が必要量以上のときに窒素出納が改善される根拠についても検討を加えた。その実験において、われわれは食たん白質レベルを 0.6 g/kg/日とし、種々のエネルギー源の過剰摂取に対する身体全体のロイシンとリジンの代謝反応を調べた。維持エネルギー摂取量として平均 44 kcal/kg/日を用いたが、これは健康な成人男子の適正エネルギー摂取量に相当するものである。また過剰レベルは維持必要量の 25% 増しとした。

Table 1 に示したように、窒素出納は過剰の食事エネルギー摂取により改善され、その程度は炭水化物過剰食でやや大であった。さらに、過剰エネルギー投与による身体全体のロイシン動態の変化は小さいものではある

Fig. 6. Rates of leucine oxidation, incorporation into body proteins and its release by protein breakdown for young men studied in the fed and fasted states after receiving an adequate or usual (1.5 g/kg/day), a marginal or requirement (0.6 g/kg/day), or a minimal or low (0.1 g/kg/day) level of protein intake.

Drawn from data of Motil *et al.*

が、これを用いて正味のロイシン蓄積量(たん白質に取り込まれたロイシンからたん白質分解により遊離したロイシンを差し引いたもの)を算定すると、このパラメーターはエネルギー過剰投与時の摂食状態で高値を示した(Table 1)。そのうえ、付加エネルギー源として比較的高炭水化物食を用いたときのほうが脂質を用いたときよりも正味のロイシン蓄積量は大きく変わった。それゆえ、過剰のエネルギー摂取時にみられ窒素出納の改善はアミノ酸酸化、体たん白質へのアミノ酸の取込みおよび遊離等個々にみれば小さな変化にすぎないが、これがより集まり総合された結果もたらされたものである。

これらの種々の所見から、ロイシン代謝の主要経路はたん白質およびエネルギーの摂取レベルにより影響されることが明らかである。そのうえ、これらの経路はさまざまな栄養状態において身体全体のロイシンの恒常性をもたしめるように、統合的に反応しているのである。

種々の食事条件下においてどのようにして体窒素節約の機構が維持されているかを考えるうえで、可欠アミノ酸代謝の反応もまた重要である。そこでわれわれは既述のモデルを用い研究を行なった結果、維持レベル以下の食たん白質摂取時にはグリシン flux と新しく合成され

Table 1. Nitrogen balance and whole body leucine kinetics in young adult men receiving a maintenance and excess level of dietary energy.^{a)}

Measure	Energy intake	
	Maintenance	Excess
N Balance ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$)	-20 ± 3	$+2 \pm 2$
Leucine Kinetics ^{b)}		
Post-absorptive state:		
Flux	94 ± 3	94 ± 3
Oxidation	16 ± 2	16 ± 2
Retention	-12 ± 2	-11 ± 2
Fed state:		
Flux	102 ± 2	101 ± 3
Oxidation	18 ± 2	12 ± 3
Retention	22 ± 3	27 ± 3

^{a)} Summarized from Motil *et al.*

^{b)} Values are expressed as $\mu\text{mole} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$. Mean $\pm$ SEM for 12 subjects.

たグリシン量が減少することを健康青年および高齢者で見いだした (Fig. 7)。この変化とは対照的に、アラニンの合成速度はたん白質摂取量を十分なレベルからほとんど無たん白食に近いレベルにまで制限しても減少しなかった。それどころか Fig. 8 に示したように、アラニン合成は低たん白摂取時に明らかに高く、さらに食事を摂るとアラニン生成は増大したが、これは多分主要なアラニン生成素材である炭水化物を摂取したことによるものであろう。

身体全体のグルコース代謝、窒素代謝におけるアラニン代謝の重要性を考えれば (Fig. 9)、種々の食事条件下におけるアラニン代謝についてさらに研究することが望ましい。そこで、われわれは吸収後の状態 (空腹状態) にある青年のアラニンおよびグリシン代謝を別に研究し、また静脈内へのグルコース注入に対する反応を調べた。この研究においても上述のモデルを適用し、¹⁵N あるいは ³H 標識アミノ酸を静脈内に持続注入する方法が用いられた。体たん白質分解速度を算定するため ¹⁻¹⁴C-ロイシンあるいは ¹⁻¹⁴C-グリシンを、それぞれ ¹⁵N-標識アラニンあるいはグリシンと同時に注入し、これら可欠アミノ酸のそれぞれの *de novo* 合成速度を算定した。Table 2 にまとめたように、吸収終了後の空腹状態では新しいアラニンとグリシンの合成量はそれらアミノ酸の身体全体の flux の約 60~70% であった。

グルコースを 4 mg/kg/分の速度で静脈内に注入する

Fig. 7. Whole body glycine flux and rate of *de novo* glycine synthesis in young adult and elderly men adapted to diets providing a generous (1.5 g protein/kg/day) or low protein (0.4 g protein/kg/day) intakes.

Drawn from Gersovitz *et al.*

Fig. 8. Rate of whole body *de novo* alanine synthesis in young men, studied in the post-absorptive states, after receiving for 7 days diets that supplied the various levels of protein indicated.

Unpublished data of Yang *et al.*

と、明らかに過血糖と血漿インスリン値の上昇を招き (Fig. 10)、アラニン flux は有意に増加するが、グリシン flux は変化しなかった。そしてアラニン flux の増加はまったく新しいアラニン分子合成速度の亢進によるものであった (Fig. 11)。アラニン合成の平均増加量は 101 $\mu\text{mole/kg/hr}$ であり、もしこれがまったくグルコースに由来するものとするれば、注入したグルコースの 50 μmoles が余分にアラニンに転換したことになる。またこれはグルコースを 4 mg/kg/min の速度で注入したときのグルコース消失量増加分の 7% にあたる。

これらの所見から、過血糖状態は循環血中インスリンの中等度の増加をきたし、これが骨格筋ならびにおそらく腸のような他の組織におけるアラニンの合成をたかめ、ひいては放出を増大させるものと推測される。ストレスや疾病時のように協調的な代謝調節が変化した状態

Fig. 9. A schematic of possible associations between alanine, glucose and nitrogen metabolism in intact man, with an indication of the roles played by skeletal muscles and the liver in these interrelationships.

Table 2. Alanine and glycine fluxes and *de novo* synthesis rates in post-absorptive young men.^{a)}

	Alanine	Glycine
Flux:	381 ± 26 ^{b)}	240 ± 22
From Protein		
Breakdown	104 ± 4 (28 ± 3)	96 ± 12 (40 ± 3)
<i>De novo</i> synthesis	277 ± 29 (72 ± 3)	144 ± 13 (60 ± 3)

^{a)} From Robert.

^{b)} Mean ± SEM; $\mu\text{mole kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Numbers in parenthesis are percent of flux.

で、もし上述のようなことが起こるとすれば、アラニン合成速度の増大は筋肉窒素を消耗することになり、またアラニン由来の窒素が肝で代謝されて尿素に変換されるならば、それによって身体全体としては窒素の消耗を招くことになるであろう。Fig. 12 はこの推測を模式的に示したものである。

外傷や敗血症で典型的にみられる過血糖は、血漿からのグルコース消失速度の増加を伴っており、これはストレス条件下でみられる体窒素消耗やたん白質必要量の増加の原因としておそらく重要であろう。もしこの仮説が正しければ、アラニン生成量を減らすような治療法によって、このような望ましくない状況におかれている患者の窒素出納状態を改善することができよう。

これらの知見については別のところで詳細に論述したが、ストレスによる体窒素損失の原因としてアラニン代謝が関係しているかもしれないというわれわれの仮説を

Fig. 10. Change in plasma glucose and in insulin concentrations in post-absorptive young men during an intravenous infusion of glucose at $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

Unpublished MIT data of Robert *et al.*

Fig. 11. Fluxes of alanine and glycine and their rates of *de novo* synthesis before and after an intravenous infusion of $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ of glucose in young men.

Unpublished MIT data of Robert *et al.*

Fig. 12. A speculative outline of the metabolic relationships between alanine, glucose and urea metabolism in the normal state and during conditions of stress.

It is hypothesized that this latter condition, associated with increased glucose turnover and urea N output, is consequent to an enhanced alanine synthesis.

追究することにより、正常で健康な個人における体素素エコノミー維持機構に対し、病的状態がどのようなインパクトを与えているかということをもよりよく理解できよう。

2) 特定のたん白質の代謝 たん白栄養状態を生化学的に判定する際、とくに興味のある血漿たん白質はアルブミンである。このたん白質の分解速度は RISA (放射性ヨード標識アルブミン) を注射することにより比較的簡単に測定されてきた。一方、アルブミンの合成速度は 1963 年以降 ^{14}C -重炭酸塩あるいは ^{14}C -グアニジノアルギニンによるパルスラベル法により測定されるようになった。この場合、これら化合物のラベルは尿素およびアルブミンの両者にはいるのであるが、尿素の標識化の大きさはアルブミン合成の場である肝における尿素前駆体であるアルギニン・プールの尺度になると考えられる。われわれは最近この考え方を適用し、安定同位元素を用いて人におけるアルブミン合成量を算定しようとした。われわれの方法では、肝遊離アルギニンを ^{15}N でラベルするため ^{15}N -グリシンを 3 時間ごとに経口投与した。この方法により、アルブミン中に存在する結合アルギニンのグアニジン基の ^{15}N の増量経過を追跡し、また定常状態における尿中 ^{15}N -尿素を調べることで、肝臓の遊離アルギニン・プール中に存在する ^{15}N アルギニンの増量経過を知ることができる。Fig. 13 に示したように、 ^{15}N -グリシン投与により血清アルブミン中のアルギニンは漸次 ^{15}N で標識化される。またこの標識化の程度は、尿中尿素 ^{15}N のプラトーレベルを関係づける

Fig. 13. Enrichment of arginine in serum albumin and in urinary urea in an adult subject receiving oral doses, at 3 hr. Intervals, of ^{15}N -glycine. From Gersovitz *et al.*

Fig. 14. Rate of albumin synthesis in young adult and elderly men receiving a generous or low intake of dietary protein. Drawn from data of Gersovitz *et al.*

ことにより、アルブミン合成速度の尺度となりうる。

この方法を青年および高齢男子に適用し、アルブミンの合成率 (fractional synthesis) をみたが、二つの年齢層でほとんど差はなかった (Fig. 14)。しかし若年者におけるアルブミン合成は低たん白質摂取によって減少したのに反し、高齢者ではあまり影響を受けなかった。このことは若年者のみがたん白質・窒素・アミノ酸摂取量の増加に応じアルブミン合成を増加しうること、またアミノ酸摂取をふやしていってもある一定の設定点以上にはアルブミン合成は増加しないことを意味している。この結論を基にして考えると、高齢者の血清アルブミン濃度は設定点が低いために若年者よりも低値に維持されているであろう。このことから、若年者では食たん白を増すと血清アルブミン合成が増すのに、高齢者では増さな

Table 3. Rates of protein synthesis, expressed as amino acid incorporation, in young men receiving L-amino acid diets providing a generous or "requirement" intake of specific amino acids.

Amino acid	Intake level	
	Generous	"Requirement"
(μmole amino acid incorporated·kg ⁻¹ ·hr ⁻¹)		
Lysine	108±1 ^a (100)	49±5 (12)
Valine	99±6 (68)	46±2 (12)
Leucine	89±8 (79)	59±4 (12)

^a Mean±SEM for rate of incorporation into whole body protein of the amino acid indicated. Numbers in parentheses refer to the daily intake (mg·kg⁻¹·day⁻¹) of the specific amino acid.

Based on unpublished MIT work of Meguid and Meredith, and obtained using a constant intravenous infusion of the L-1-¹³C-amino acid.

い理由を説明できよう。少数の高齢者についての観察からえられたこの仮説は、多数の人々でさらに確かめられねばならない。そうすることにより、青年と高齢者でえられたアルブミン合成に関する代謝上、栄養上の重要な所見をより完全に評価することができるであろう。

3) 栄養必要量との関係 いままでいづつまで述べてきたわれわれの研究から、身体全体の特定アミノ酸あるいはたん白質代謝の動的な反応は、これを十分にとっている人とそうでない人とで異なっていることが示唆された。そこでわれわれは人のたん白質・アミノ酸必要量を推定することが可能となるかもしれないような方法で身体全体のアミノ酸動力学を調べようと試みた。

人のアミノ酸必要量の算定値の多くは窒素出納試験から得られたものであり、その限界については十分に認識されているところである。そこでわれわれの研究室では健康な青年の不可欠アミノ酸必要量の現行の数値を再評価する目的で、安定同位元素をトレーサーとして用い実験を行なった。最初に得られたいくつかの所見はわれわれを最も勇気づけるものであった。すなわち、第1にL-アミノ酸混合食を用い、この中のある一つの必須アミノ酸量を必要量レベルに下げた際には、その試験アミノ酸を豊富に摂取しているときに比べ身体全体のたん白合成速度はずっと低いことが青年被検者を用いて明らかとなった (Table 3)。さらに“必要量”レベルのアミノ酸混合食しか摂取していない場合には、たん白質を十分に摂取している人に比べたん白質へのアミノ酸の取込み速度は低かった。それゆえ、Table 3 にまとめた所見から、

Fig. 15. Lysine oxidation, determined with a primed constant intravenous infusion of L-1-¹³C-lysine in young men receiving an amino acid diet providing graded levels of lysine.

Preliminary MIT data of Meredith *et al.*

Fig. 16. Rate of incorporation of leucine into whole body proteins, as determined with a primed-constant intravenous infusion of L-1-¹³C-leucine in young men receiving graded intakes of leucine from an L-amino acid diet.

Preliminary MIT data of Meguid *et al.*

特定の不可欠アミノ酸必要量の現行の数値は身体全体のたん白代謝回転を“正常”状態に維持するためには不十分であるかもしれないことが示唆される。

第2に、われわれはたん白質栄養状態維持 (すなわちN平衡維持) を目安にして算定された必要量を中心に、ある特定のアミノ酸摂取量を増減させた際のアミノ酸の酸化速度と身体全体のたん白代謝回転とを測定した。リジン摂取量を段階的に変えて、青年におけるリジン酸化速度を調べた結果を Fig. 15 に、またロイシン摂取量を段階的に変えたときの身体全体のたん白質へのロイシン取込み速度の結果を Fig. 16 に示した。これらの予備的な成績から、反応曲線における変曲点はリジンでは約 30 mg/kg/日、ロイシンで 23 mg/kg/日であることがわかった。これらの変曲点がアミノ酸の必要量を反映しているかどうかは明らかではないが、健康成人でえられた身体全体のリジンとロイシン代謝の反応は幼若および成

熱ラットについて報告されている反応と類似していることは重要である。さらに、ラットにおけるこれらアミノ酸代謝の動的反応は特定の不可欠アミノ酸の食事必要量を算定するのに用いられてきたのである。つまり、健康な青年の身体全体のアミノ酸動態についてこれまでにわれわれが得た成績からすれば現行の成人のアミノ酸必要量の数値は低すぎるかもしれない、たん白栄養状態を良好に維持するために必要なアミノ酸摂取量は、アミノ酸摂取量の変化に対する身体全体のアミノ酸動態の変化から最もよく推定できることを示唆している。われわれのこの解釈はまったく仮のものであるけれども、今回のわれわれの成績は、現行の成人の不可欠アミノ酸必要量の栄養学的意義が不明確であるというわれわれのこれまでの主張が正しいことを裏付けるものである。われわれはこれらの研究を他のアミノ酸にまで拡張、また種々の食事条件における必要量を明らかにすることにより、この新しい研究手法を人のアミノ酸必要量の新しい算定方法として確立したいと思っている。

5. 要約と結論

この招待講演において、人の窒素ならびにアミノ酸代謝におけるいくつかの問題点を述べてきた。とくに安定同位元素を用い、たん白質・アミノ酸摂取量の変化に対する体たん白代謝の動的反応を追及したわれわれの最近の研究に重点をおいて話をした。これらの研究から、体窒素およびアミノ酸の恒常性維持の調節機構が、なんらかの未知の機序により、宿主の栄養必要量と関連しているという予想したことではあるが興味深い示唆が得られた。このことが事実とすれば、炭素 (^{13}C)、窒素 (^{15}N)、

水素 (^3H)、酸素 (^{18}O) 等の安全な安定同位元素を用いたトレーサー実験をもっと精力的に行なうことにより、種の病態生理学的状況下の人々のたん白質・アミノ酸必要量を決定し、さらにはたん白栄養状態を判定することができるであろう。

最後に、日本栄養・食糧学会総会において本講演の機会を与えていただいたことを非常に光栄に思うとともに、これが契機となって栄養学の研究者たちがこの新しい手法を用い、お互いに協力し合いながら、食事・必須栄養素および人の健康の間の相互関係をより明らかにされんことを期待するものである。

私の研究は多くの人々、とくにワシントン大学医学部(セントルイス)の Dennis M. Bier 博士および Dwight E. Matthews 博士との密接な協力のおかげであり、人体におけるたん白質・アミノ酸代謝の研究における私の考え方や方法論は彼らに負うところが大きい。また MIT その他における多くの同僚、現在および過去において私の研究を手伝った大学院生はこの研究で欠くことのできない役割を果たしてくれた。本人達もこのことは十分理解してくれていると思うが、私は彼らの助力に対し変わらざる感謝を捧げたい。

ここで述べた未発表の研究は、NIH 助成金 AM 15856, AG 01481, USDA 助成金 5901-0410-8-006X-0 の寛大な援助ならびにマサチューセッツ州ボストン市タフト大学 USDA Human Nutrition Center for Aging の共同助成金によるものである。

(訳：徳大・医・栄養生理 岸 恭一，山本孝史)