総 説

N^{ϵ} -メチルヒスチジン(3-メチルヒスチジン)による骨格筋 ミオフィブリルタンパク質の分解速度の測定法の 確立とその応用[†]

西 澤 直 行

岩手大学農学部農芸化学科

Development and Its Application of a Method to Estimate Catabolic Rate of Myofibrillar Proteins by Measuring Urinary Excretion of N^{ϵ} -Methylhistidine

Naoyuki NISHIZAWA

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka, 020

人間の栄養や家畜の生産性を問わず、タンパク質の必要量を明らかにすることは、栄養学の基本的な問題である。食餌タンパク質の最低必要量の算定は、動物にタンパク質を含まない食餌を与えたときに、体内から失われるタンパク質の量を不可避損失窒素量として表わし、これを補うに必要にして十分な量とすることを基本としている¹⁾。しかし、その妥当性については従来から批判がだされており、これに代わる評価法が求められているのが現状である。

生命維持のための生体の生理的基本現象として、からだの組織、臓器タンパク質が常に不断の合成、分解、すなわち代謝回転をくりかえしていることは周知の事実である。タンパク質栄養の研究になぜタンパク質の代謝回転の研究が必要なのであろうか。

骨格筋(以下単に筋肉と略す)のタンパク質はからだ全体のタンパク質のおよそ45%を占めており、そのほぼ65%にものぼる筋原線維タンパク質の代謝量(合成量、分解量)や、それが食餌条件によってどのような影響を受けるのかを明らかにすることは、タンパク質の必要量を決定するうえできわめて重要な問題である。本論文で解説する研究は、この問題を N^{ϵ} -メチルヒスチジン法と

いう新しい手法によって解決しようとしたものである。

Schoenheimer²⁾の一連の研究によって初めて、組織、臓器タンパク質は不断の合成と分解をくりかえされており、窒素平衡状態にある動物では合成速度、分解速度は比較的高いが、両者は正確に釣り合っていることを示した。Schoenheimerらは、これらの実験結果から、筋肉組織は代謝活性は低いが、体タンパク質に占める大きさからその代謝量が大きいことを示唆した。

タンパク質の代謝量を明らかにすることは、タンパク質の合成量と分解量を明らかにすることと同義であるが、Schoenheimerの研究以来、同位元素を用いて代謝回転速度(代謝回転率, fractional turnover rate: 分率合成速度, fractional synthetic rate; 分率分解速度, fractional catabolic rate。それぞれ、これ以後単に合成速度、分解速度と略して用いる)を求めることが行なわれている。しかし、タンパク質の合成速度、分解速度を放射性炭素や重窒素などの同位体を用いる方法ではアミノ酸の再利用の問題を避けられない。すなわち、生体内でいったん標識されたタンパク質はアミノ酸にまで分解されるが、そこで生成した標識アミノ酸の相当量が細胞内、組織内でタンパク質の合成に再び利用される。そのため、どうしても分解速度を低く評価することになる。その対策として、再利用の少ないアミノ酸、たとえばアルギナーゼの活性が高いため肝臓ならば再利用される機会が少ない【 D -アミノ- ^{14}C]アルギニン³⁾、筋肉であればすみやかに炭酸ガスとなるため再利用の少ないと

[†]本総説は昭和57年度本学会奨励賞の受賞の対象となったものである。

思われる $[1-^{14}\text{C}]$ グルタミン酸⁴⁵⁾ をトレーサーに用いる方法,あるいは,一定の時間を置いたり⁶⁾, 連続して標識アミノ酸を与え続ける方法⁷⁾⁻⁹⁾ が考えられている。また,核種の異なる標識アミノ酸を投与する二重標識法¹⁰⁾¹¹⁾, およびその改良法¹²⁾ が考えられているが再利用の問題を完全に解決しているわけではない。とくに,食餌条件が変わった場合,アミノ酸の再利用率も変動することが知られている⁶⁾。したがって,より正確な測定方法の開発が強く望まれている。

筋肉は,からだ全体の過半量を占め,しかも以前考えられていたよりははるかに活発に代謝している組織である。したがって,動物のからだ全体のタンパク質,アミノ酸の代謝における筋肉の役割はきわめて大きいといえる。とりわけ,筋原線維タンパク質のほぼ 80% にもなるミオシン,アクチンの合成量,分解量を明らかにすることは重要な意味をもつこととなる。

1967 年, Asatoor ら¹³⁾ および Johnson ら¹⁴⁾ は, N-メチルヒスチジン (3-メチルヒスチジン: 以下 MeHis と略す) (図 1) が筋肉のミオシン, アクチンの構成アミノ酸であることを報告した。Asatoor ら¹³⁾ は, 絶食にしたにもかかわらず, ウサギの尿には MeHis が排泄されていることから, 尿中の MeHis は食餌などの外因性の起源のものではなく, 内因性の由来であることを示した。すなわち, $[^{14}\text{C}]$ ヒスチジン, または $[\text{メチル-}^{14}\text{C}]$ メチオニンを腹腔内に注射して尿に排泄される MeHis の比放射能を測定して, ヒスチジンおよびメチオニンのメチル基が MeHis の前駆体であることを確かめた。また, ウサギの臓器, 組織タンパク質の MeHis 含量は, 横紋筋が最も高いことや, アクチンには 60,000 g 当たり 1 g 以上の MeHis を含むが, ミオシンには少量しか検出されないことを示した。これらの結果から, 尿へ排泄される MeHis の量を測定することによって筋肉のアクチンの分解速度が求められることを示唆した。

1970 年, Young ら¹⁵⁾ は, $[^3\text{H}]$ MeHis を, ラットの筋肉から調製したアミノアシルリガーゼの存在下で tRNA と作用させたが, MeHis は tRNA と結合しないこと, また $[\text{メチル-}^{14}\text{C}]$ MeHis を経口投与, あるいは静脈注射してその放射能の 99~100% が尿に回収されるが, 呼吸には検出されないことを示した¹⁶⁾。Long ら¹⁷⁾ は, このアミノ酸が人間においても代謝されることもなく分解されることのないことを示した。

その後, 筋原線維構成タンパク質における MeHis の含量に関して, ミオシン, アクチン分子に 1 分子ずつ含まれること¹³⁾¹⁴⁾¹⁸⁾⁻²⁰⁾, トロポミオシン¹⁸⁾, トロポニン²¹⁾²²⁾, ギルコプラズムタンパク質¹⁸⁾, 胎児ミオシンおよび心筋ミオシン, 赤色筋には MeHis は含まれていないことが示されている²³⁾⁻²⁷⁾。

図 1. N-メチルヒスチジンの合成と放出³⁰⁾

筋肉細胞における MeHis の合成については, ミオシン, アクチンのポリペプチド鎖の翻訳後にメチオニンのメチル基がヒスチジンに導入されることによって行なわれることが明らかになっている²⁸⁾²⁹⁾。

これらの実験結果は, 体内で筋原線維タンパク質の分解によって生じた MeHis は, 分解されることもなく尿へ定量的に排泄されることを示しており, MeHis が筋肉のミオシンとアクチンに局在していることをあわせ考えると, 尿へ排泄される MeHis の量が筋肉のミオシン, アクチンの分解速度を求めるための指標として有用であることを示している (図 1)³⁰⁾。

本論文では, 尿へ排泄される MeHis 量から筋肉タンパク質の分解速度, 合成速度を求める方法 (以下 MeHis 法と略す) とその応用について, ラットを用いた研究を中心に概説する。尿の MeHis 量から求められるのは筋肉のミオシン-アクチンプール (筋原線維タンパク質) の分解速度であるが, 論文では単に筋肉タンパク質と略称して用いることとする。

1. MeHis の尿への排泄量からどのようにして筋肉タンパク質の分解速度, 合成速度が求められるか

1) MeHis 法の妥当性の前提 MeHis 法が有効であるためには, すでに述べた MeHis に関する生化学的知見とともに, 次の条件が必要となる。(1) 筋肉のミオシン, アクチンが一定の寿命をもたず一定の割合で分解していること, (2) 両者が同じ速さで分解していること, (3) 食餌条件などによってミオシン, アクチンの MeHis 含量が変動しないこと, (4) からだ全体の MeHis 量の大部分が筋肉に存在していることである。(1) についてはいくつかの研究によって支持されている⁴⁾³¹⁾⁻³⁵⁾。ミオシン, アクチンがほとんど同じ速さで分解していることはすでに報告されている¹²⁾。(3) については, ラットにタンパク質を含まない食餌を与えたラット筋肉のアクチンの MeHis 含量が, 18% タンパク質食餌を与えたラットのものとは変わらないことが示されている³⁶⁾。(4) については, 以下に述べる 2) で示すことにする。

2) ラット臓器, 組織タンパク質中の MeHis の存在

表 1. ラットの組織、臓器タンパク質中の MeHis 含量

組 織 または 臓 器	組	織	MeHis 含量		からだの総 MeHis 量 に占める組 織割合 ^b (%)
	新 鮮 重 (g/体重100 g)	タンパク質 含 量 (mg/ 新鮮重 g)	タンパク質 1 g 中 (μg)	組織当たりの含量 ^a (mg/体重 100 g 当 たりの新鮮重)	
脳	0.736±0.028*	95.8±1.7	19±4	0.0013±0.0003	0.02
拳 丸	0.786±0.058	74.1±1.0	23±5	0.0013±0.0004	0.02
脾 臓	0.160±0.007	129 ±3	167±9	0.0035±0.0003	0.07
腎 臓	0.629±0.014	167 ±2	39±5	0.0041±0.0007	0.08
肝 臓	2.70 ±0.13	196 ±7	9±2	0.0052±0.0011	0.11
肺	0.537±0.026	115 ±5	116±7	0.0077±0.0004	0.16
心 臓	0.384±0.006	154 ±2	152±5	0.0090±0.0003	0.19
胃	0.483±0.015	76.2±2.8	261±16	0.0096±0.0008	0.20
小 腸	2.34 ±0.18	82.6±3.5	211±16	0.0402±0.0030	0.86
皮膚, 毛	26.5 ±1.0			0.393 ±0.054	8.45
筋 肉	40.0 ±0.9	164 ±5	519±10	3.49 ±0.12	75.1
そ の 他 ^c	14.1 ±0.7				
合 計 ^d	89.3			3.96	
からだの総 MeHis 量 ^e				4.65	
回 収 率 ^f				85.1	

* 体重 203~249 g のラット 6 頭の平均値±標準誤差

^a (g 新鮮重/体重 100 g) × (タンパク質含量 ÷ 1,000) × (MeHis μg/g タンパク質 ÷ 1,000)^b a ÷ e^c 骨, 尾および脂肪組織^d 組織当たりの MeHis 合計量^e ラットのからだ全体のホモジネートの総 MeHis 量 (mg/体重 100 g)^f d ÷ e

量 ラットの臓器および組織を, 5% 過塩素酸でホモジナイズして, 生じた沈殿物から核酸, 脂質を除いてタンパク質を分離した。分離した臓器, 組織タンパク質の MeHis 含量を測定した結果, からだ全体の MeHis 量の 75% が筋肉に存在することが明らかになった (表 1)³⁷⁾。しかし, 実験上どうしても回収しえなかった筋肉量を考慮するとからだ全体の MeHis 量の 90% 以上は筋肉に存在することになる (75+15)。このことは, MeHis 法の妥当性を支持しうる結果を示している。しかし, 同時に筋肉組織以外にも, とくに, 皮膚と消化管組織に合わせてほぼ 10% が分布していることが明らかになった。

3) 尿へ排泄される MeHis 量より筋肉タンパク質の分解速度, 合成速度の算出方法 からだ全体の MeHis 量の大部分が筋肉に存在して, かつその量が明らかになっておれば, 次式に従って分解速度を算出することができる。また, 算出された分解速度から合成速度を求める方法も検討し考案した。

$$\text{分解速度 (\%/日)} = \frac{E}{(p + p_0)/2} \times 100$$

p_0 と p は, それぞれ 0 時および 24 時における筋肉の MeHis 量である。すなわち, 0 時, 24 時における体重から算出される。

求められた分解速度 (K_d) から合成速度が, 次式のように算出される³⁸⁾。

$$\text{合成速度 (\%/日)} = \left[\frac{K_d(p - p_0 e^{-K_d})}{1 - e^{-K_d}} \right] \div \frac{p + p_0}{2} \times 100$$

このように, 毎日あるいは一定間隔ごとの尿への MeHis 排泄量の測定と体重から算出した筋肉の

MeHis 量から分解速度を求めることができる。同時に合成速度も算出することができる。分解、合成速度は1日に何%が分解され、合成されるかで表わされる。

4) 尿への MeHis 排泄量に対する皮膚、消化管組織の影響すでに述べたように、からだ全体に含まれる MeHis 量のほぼ 10% は皮膚と消化管組織に存在することが明らかになった。このことは、これらの組織の MeHis を含むタンパク質の代謝がより活発であるならば、これらの組織タンパク質の分解によって放出される MeHis の量を無視できないことを示しており、皮膚や消化管タンパク質の代謝がにわかに注目されることとなった。そのため、これらの組織の尿中 MeHis 排泄量に対する寄与率を調べた。

ラットに [メチル-³H] メチオニンを投与して、MeHis の比放射能の経時的変化より、筋肉、皮膚、消化管の MeHis の代謝回転速度を測定した。その結果、これらの組織の中では消化管のタンパク質が最も活発に代謝しており、その代謝回転速度は 7.3%/日、代謝半減期にすると 9 日であった。また、皮膚のタンパク質は 1 日に 5% の割合 (代謝半減期 13 日) で分解していることが明らかとなった (図 2)³⁹⁾。このように、皮膚や消化管組織のタンパク質は比較的活発に代謝していることがわかる。しかし、筋肉ではメチオニンの再利用が高いために、その比放射能にはほとんど変化がみられない。皮膚と消化管の二つの組織の代謝回転速度と組織中の MeHis 含量から計算した結果、尿へ排泄される MeHis 量の少なくとも 16.6% はこれらの二つの組織から放出されていることが示された (表 2)³⁹⁾。したがって、尿への MeHis 排泄量から、筋肉タンパク質の分解速度を求める場合、皮膚や消化管組織に由来する MeHis 量にも十分配慮する必要がある。しかし、さまざまな食餌条件や生理的条件下における尿中の MeHis 排泄量に対するこれらの組織の影響は知られておらず、本論文で述べる

図 2. [メチル-³H] メチオニンの注射後におけるラットの消化管 (○), 皮膚 (●) および筋肉 (△) 中の MeHis の比放射能の変化

皮膚、筋肉の 1 日目, 7 日目, 21 日目の値は 4 頭のラットの平均値と標準誤差を, 3 日目と 14 日目の値は 2 頭の平均値と範囲を示す。消化管のすべての値は 2 頭の平均値と範囲を示す。それぞれの回帰線を算出したが、消化管の 7 日目の値は計算から除外した。

分解速度、合成速度の算出に際しては、以下に述べるラットの成長過程の測定の場合のみ、二つの組織の寄与率を合わせて 16.6% として補正するにとどめた。

5) MeHis の測定法 尿中の MeHis 量や組織タンパク質の MeHis の含量は、6 M 塩酸で加水分解した後、直接アミノ酸分析計で測定されることもあるが³⁷⁾⁴⁰⁾、尿を加水分解した後、脱塩したり他のアミノ酸を除去した後アミノ酸分析計で測定することが多い。それによって、カラムの寿命やトラブルを未然に防ぐこととなる。尿や組織タンパク質の加水分解物中から MeHis の分離には、H 形の Dowex 50×8 のカラムを用いて塩酸の濃度を段階的に変え MeHis の画分を溶離する方法も用いられるが、ピリジン形の Dowex 50×8 のカラムで分離する方法⁴¹⁾が MeHis の測定によく用いられる。すなわち、尿やタンパク質の加水分解物をピリジン形の Dowex 50×8 のカラムに添加して、0.2 M のピリジン 150 ml で中性と酸性のアミノ酸やクレアチンを溶離させ除去する。その後、1 M のピリジン 55 ml を流すことによ

表 2. 皮膚、消化管組織の MeHis の代謝回転速度とその尿への MeHis 排泄量に対する寄与率

	組織中の MeHis 含量 (mg/体重 100 g 当たりの新鮮重)	組織 MeHis の代謝回転速度 ^a (%/日)	組織からの MeHis 放出量 ^b (mg/日)	尿への MeHis 排泄量に対する組織の寄与率 ^c (%)
皮 膚	0.240±0.009 ^d	5.0	0.0120	10.4
消化管	0.099±0.005 ^e	7.3	0.0072	6.2
合 計				16.6

^a 図 2 の回帰線の勾配より算出

^b 組織中の MeHis 含量×代謝回転速度

^c 組織からの MeHis 放出量の尿への MeHis 排泄量に対する割合。1 日の尿への MeHis 排泄量はラット 54 頭の体重 100 g 当たりの平均値 0.115±0.003 mg を用いた。

^d 16 頭のラットの平均値±標準誤差

^e 胃と小腸の総量 (10 頭のラットの平均値±標準誤差)

表 3. Dowex 50×8 (ピリジン形) カラムによる MeHis のヒスチジン, N^ε-メチルヒスチジンからの分離^a

アミノ酸	保持容量
MeHis	15~55 (ml)
ヒスチジン	110~170
N ^ε -メチルヒスチジン	180~240

^a 0.2 M ピリジンで中性, 酸性のアミノ酸を除いた後の 1 M ピリジンでの保持容量

って MeHis の画分を溶離する(表3)⁴¹⁾。このような分離条件では, タンパク質中に MeHis に比べてはるかに多いヒスチジンは MeHis に接近して溶離するが測定するには問題がなく, また N^ε-メチルヒスチジン (1-メチルヒスチジン) は 1 M のピリジンをおよそ 180 ml 以上流さないとカラムから溶離してこない。リジン, メチルリジン, メチルアルギニンはこの条件ではカラムから溶離してこない。このようにして分離された MeHis はアミノ酸分析計による測定³⁷⁾⁴²⁾⁴³⁾や高速液体クロマトグラフを用いて o-フタルアルデヒド⁴⁴⁾⁴⁵⁾やフルオレサミン蛍光法⁴⁶⁾で検出定量することが多い。今日では, MeHis の定量は尿やタンパク質の加水分解物に直接フルオレサミンを反応させ生成した反応物を逆相クロマトグラフィーで分離して蛍光法で検出定量することも多い⁴⁷⁾。MeHis とニンヒドリン, o-フタルアルデヒドとの反応生成物を逆相クロマトグラフィーで測定する方法や⁴⁸⁾グルタルアルデヒドによって他のアミノ酸の反応を抑制して尿の MeHis を直接 o-フタルアルデヒド蛍光法で測定している簡便な方法⁴⁹⁾も用いられている。

2. 筋肉タンパク質の分解速度, 合成速度におよぼすさまざまな食餌条件や生理的条件およびホルモンの影響

次に, MeHis 法で測定した筋肉タンパク質の分解速

度, 合成速度の制御の様子をさまざまな食餌条件, 生理的条件下やホルモンの投与による影響について示すこととする。

1) 食餌のタンパク質含量の影響 食餌にはどの程度のタンパク質の含量が適当であるかは, 人間のタンパク質栄養や家畜の生産にとって重要な問題である。食餌のタンパク質の含量を高めたとき, 酵素活性の変動⁵⁰⁾⁵¹⁾や血漿タンパク質, 肝臓, 腎臓, 脾臓および小腸粘膜のタンパク質の分解速度が高まる傾向にあることが示されているが⁵²⁾, 筋肉タンパク質の分解速度との関連については不明な点が多い。

ラットにタンパク質含量が 10~60% までの食餌を 1 日 12 g に制限して 20 日間与えたときの影響について調べてみた(表4, 5)³⁷⁾。このような食餌条件では体重はわずかながら増加している。尿への MeHis 排泄量は, 体重 100 g 当たりにして 0.117 mg から 0.147 mg に増加している(表4)。とくに, 食餌のタンパク質含量が 20% から 40% に高まると尿への MeHis 排泄量は 17% も増加することが示された³⁷⁾。しかし, クレアチニンの排泄量にはそれほど影響を与えていない。このときの筋肉タンパク質の分解速度は 2.47%/日 から 2.89%/日 へと亢進することがわかった(表5)。合成につい

表 5. 筋肉タンパク質の分解, 合成速度におよぼす食餌タンパク質含量の影響

食餌タンパク質含量 (%)		分解速度 (%/日)	合成速度 (%/日)
10	(5)	2.34±0.15 ^a	2.59±0.06
20	(12)	2.47±0.08 ^a	2.59±0.10
40	(6)	2.89±0.12 ^b	2.92±0.10
60	(5)	2.93±0.14 ^b	2.76±0.20

* 平均値±標準誤差: () 内はラットの頭数

^{a, b} 異符号は食餌群間の有意の差を示す ($p < 0.025$)。

表 4. 尿への MeHis, クレアチニンおよび窒素排泄量におよぼす食餌タンパク質含量の影響

食餌タンパク質含量 (%)	餌質重量 (g)	体 重 (g)	MeHis 排泄量		クレアチニン排泄量		窒素排泄量	
			総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)
10	(5)	229±9*	0.270±0.028	0.117±0.08 ^a	6.36±0.76	2.77±0.21	89±3	39±2
20	(12)	223±5	0.278±0.013	0.124±0.04 ^a	6.22±0.33	2.78±0.11	202±12	90±5
40	(6)	220±8	0.321±0.019	0.145±0.06 ^b	7.28±0.42	3.30±0.14	418±27	190±16
60	(5)	220±3	0.325±0.017	0.147±0.07 ^b	6.91±0.52	3.13±0.25	800±21	363±13

* 平均値±標準誤差: () 内はラットの頭数

^{a, b} 異符号は食餌群間の有意の差を示す ($p < 0.05$)。

表 6. 尿への MeHis, クレアチニンおよび窒素排泄量におよぼす脂肪食餌の影響

	体 重 (g)	MeHis 排泄量		クレアチニン排泄量		窒 素 排 泄 量	
		総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)
20%カゼイン食餌	252±9*	0.285±0.022	0.113±0.004	4.78±0.48	1.88±0.17	187 ±11	74.2±5.9
100%ラード食餌	185±4	0.215±0.016	0.116±0.004	2.20±0.16	1.19±0.09 ^{1a}	47.9± 3.2	25.8±1.3 ²

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

^a 20% カゼイン食餌群との有意の差を示す (¹ $p < 0.005$, ² $p < 0.001$)。

表 7. 筋肉タンパク質の分解, 合成速度におよぼす脂肪食餌の影響

	分解速度 (%/日)	合成速度 (%/日)
20%カゼイン食餌	2.70±0.24*	2.49±0.28
100%ラード食餌	2.74±0.17	0.87±0.26 ^a

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

^a 20% カゼイン食餌群との有意の差を示す ($p < 0.005$)。

ても有意の増加ではなかったが同様な傾向を示している。食餌量を十分与えた場合でもほぼ同様な結果が得られており, このことから筋肉タンパク質の代謝は食餌のタンパク質含量の影響を受けて活発になることが推察される。筋肉以外の臓器, 組織タンパク質の代謝と食餌のタンパク質含量との関連で興味ある結果を示している。

2) 高脂肪食餌とエネルギー摂取量制限の影響⁵³⁾ エネルギー摂取量を制限したときと摂取エネルギーの全部を脂肪で与えたとき, 筋肉タンパク質の合成, 分解速度はどのような影響を受けるであろうか。エネルギーの摂取量が体内での消費量より低めに制限された条件や炭水化物の不足の条件下では, グルコースの供給を維持するためにからだ全体に占める大きさから考えると筋肉タンパク質の分解が亢進することが予想される。

代謝エネルギーの全部をラードで置き換えたときの影響を調べてみた(表6, 7)。このような食餌条件では摂取量が少なくそのため対照群の食餌量は100% ラード食餌群の摂取量を pair-feeding させて10日間飼育した。100% ラード食餌群のラットの体重は大きく減少した。このときの1日当たりの尿への MeHis 排泄量は0.285 mg から0.215 mg へ減少したが, 単位体重当たりでは変化はしていない(表6)。クレアチニンの排泄量は明らかに低下を示した。このことは筋肉量の減少を表わしているものと思われる。筋肉の分解速度は対照群の20%のカゼイン食餌を与えた場合と変わりなく(表7), 後述するタンパク質欠乏のときの対応とは異なっていて, 変動はしていない。一方, 合成速度は対照群のラットの2.49%/日に対して0.87%/日と大きく低下している。このように, 摂取エネルギーの全部を脂肪に置き換えた食餌では, タンパク質欠乏であるとともに炭水化物の欠乏状態でもあり, そのためタンパク質の合成はほとんど停止しているような状態と思われる。しかし, 分解はむしろ維持の水準を保持しているように推察される。

次に, pair-feeding によって食餌のデンプンのみを減少させてエネルギーの摂取量を対照群の90% から60%に制限した食餌を7日間与えて筋肉タンパク質の代謝の反応をみた(表8, 9)。この場合, 食餌のタンパク質の濃度は逐次高まることとなる。この食餌条件のときもラ

表 8. 尿への MeHis, クレアチニンおよび窒素排泄量におよぼす炭水化物摂取量制限の影響

エネルギー 摂 取 量 (%)	体 重 (g)	MeHis 排泄量		クレアチニン排泄量		窒 素 排 泄 量	
		総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)
100	266±12*	0.343±0.028	0.128±0.005	7.38±0.59	2.77±0.10	266±14	100±3
90	271± 5	0.411±0.022	0.152±0.011	7.76±0.47	2.86±0.20	344±13	127±7
80	254± 9	0.321±0.012	0.126±0.003	6.46±0.46	2.61±0.16	331±11	130±7
70	233± 8	0.347±0.030	0.149±0.011	6.61±0.43	2.83±0.11	350±11	150±9
60	232±10	0.333±0.025	0.144±0.008	6.57±0.46	2.83±0.16	357± 7	154±5

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

表 9. 筋肉タンパク質の分解, 合成速度におよぼす炭水化物摂取量制限の影響

エネルギー摂取量 (%)	分解速度 (%/日)	合成速度 (%/日)
100	3.06±0.12*	3.44±0.12
90	3.64±0.26	3.31±0.15
80	3.01±0.08	2.81±0.05 ^{1a}
70	3.54±0.27	2.98±0.30
60	3.41±0.18	2.51±0.14 ²

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

^a 100% エネルギー摂取群との有意の差を示す
(¹ $p < 0.005$, ² $p < 0.001$).

ットの体重は減少を示した。このような条件での尿への MeHis 排泄量は、総量では対照群のものとは変わらないが、単位体重当たりの値ではわずかながら増加する傾向にある(表 8)。クレアチニンの排泄量にはほとんど変化がみられない。このような食餌条件における筋肉タンパク質の合成速度は(表 9)、デンプン量の減少とともに低下することがわかる。これに対して、分解はわずかながらむしろ亢進する傾向を示している。

さらに、対照群の摂取量に対して pair-feeding によって食餌量を減らすことでエネルギーの摂取量を制限して 10 日間実験を行なった。この場合の筋肉タンパク質の代謝の変動の様子をみてみよう(表 10, 11)。この場合は食餌のタンパク質・エネルギー比は一定となるが、前述の食餌条件とは異なりラットの体重は、摂取量の制限による差はあるもののすべての食餌群で増加している。尿への MeHis 排泄量、クレアチニン量は、総量では減少しているが、単位体重当たりでは変化は認められない(表 10)。このときの筋肉タンパク質の合成は明らかに強く抑制されているが(表 11)、分解速度には変化がみられない。このように、エネルギー摂取量制限の場合の筋肉の対応は程度の差はみられるが、タンパク質の合成

表 11. 筋肉タンパク質の分解, 合成速度におよぼす食餌摂取量制限の影響

エネルギー摂取量 (%)	分解速度 (%/日)	合成速度 (%/日)
100	2.74±0.19*	4.54±0.18
90	2.75±0.16	3.78±0.19 ^{1a}
80	3.04±0.16	3.90±0.23
70	2.69±0.13	2.76±0.17 ²
60	2.71±0.23	2.70±0.29 ²

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

^a 100% エネルギー摂取群との有意の差を示す
(¹ $p < 0.025$, ² $p < 0.001$).

は同じ抑制へと反応し、一方、分解は反対にいずれの場合でもアミノ酸-グルコース供給の要求性からむしろ維持の水準を保っているものと考えられ、この程度のエネルギー摂取量の制限では顕著な筋肉タンパク質の分解の亢進は起こらないものと推察される。脂肪食餌の場合はタンパク質欠乏と重なって合成は大きく抑制されたものと考えられる。これに対して、炭水化物とタンパク質を含まない脂肪食餌や炭水化物の不足しているタンパク質含量の高い食餌条件ではラットの体重は大きな減少を示すが、タンパク質・エネルギー比を一定にした食餌では体重は増加しており、エネルギー摂取量制限による動物のからだ全体の代謝の対応は明らかに異なっている。

3) タンパク質欠乏と絶食の影響 食餌の摂取量が十分でなかったり、タンパク質の不足している場合、また食餌のタンパク質の栄養価が劣っている条件下ではからだのタンパク質の損失が起こる。とくに、飢餓の場合にはその影響が大きく体重は急激に減少する。このような低栄養の状態では筋肉のタンパク質の損失も大きいものと考えられる。タンパク質欠乏や絶食の実験に関しては、古くは Addis ら⁵⁴⁾⁻⁵⁶⁾の優れた研究がある。ラットを長期間にわたってタンパク質欠乏にしたときの組織、

表 10. 尿への MeHis, クレアチニンおよび窒素排泄量におよぼす食餌摂取量制限の影響

エネルギー 摂取量 (%)	体 重 (g)	MeHis 排泄量		クレアチニン排泄量		窒 素 排 泄 量	
		総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)
100	266±5*	0.306±0.027	0.113±0.008	7.00±0.42	2.63±0.12	300±16	122±5
90	243±3	0.278±0.016	0.114±0.007	6.97±0.23	2.86±0.06	291±9	119±4
80	232±2	0.295±0.017	0.127±0.007	6.66±0.48	2.87±0.20	229±10	98±4
70	223±3	0.253±0.015	0.113±0.006	6.83±0.27	3.06±0.09	228±13	102±5
60	213±5	0.243±0.023	0.114±0.010	6.63±0.35	3.11±0.13	191±5	89±4

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

器官から失われるタンパク質の量を経時的に観察した実験結果が報告されているが、このときの筋肉タンパク質の減少速度は体タンパク質とほぼ同じ、1日に0.78%の割合で減少することが示されている^{57)~59)}。

このようなタンパク質欠乏の食餌条件における筋肉タンパク質の分解速度および合成速度はどのような変動を示すであろうか。

ラットに14日間タンパク質を含まない食餌を与え、その後20%カゼイン食餌を与えたときの回復の時期における筋肉タンパク質の分解、合成速度の変動の様子をみてみた(表12, 図3)³⁰⁾。タンパク質を与えない時期では体重は平均1日2.7gの割合で減少している。20%のタンパク質を含む食餌に切り換えると5日目には体重は回復した。このときの尿へのMeHisの排泄量は、タンパク質欠乏によって0.428mgから急速に減少して9日後にはほぼ最低の水準に低下している(表12)。食餌

表12. 尿へのMeHis排泄量におよぼすタンパク質欠乏とタンパク質再給与の影響

実験日数	体重 ^a (g)	筋肉中の MeHis量 ^b (mg)	MeHis 排泄量 ^c (mg/日)
0	252	10.55	0.428
1	252	10.55	0.302
2	250	10.46	0.350
3	247	10.34	0.321
4	243	10.17	0.292
5	240	10.04	0.360
6	237	9.92	0.251
7	232	9.71	0.183
8	230	9.63	0.216
9	226	9.46	0.147
10	224	9.37	0.152
11	220	9.21	0.158
12	218	9.12	—
13	216	9.04	0.166
14	214	8.96	0.143
15	222	9.29	0.333
16	230	9.63	0.154
17	238	9.96	0.202
18	246	10.30	0.222
19	254	10.63	0.230
20	262	11.00	0.248
21	270	11.30	0.311
22	279	11.68	0.332

^a 6頭のラットの平均値

^b からだ全体のMeHis量の90%が筋肉に存在するものとして体重より算出

^c 6頭のラットの混合尿の値

図3. タンパク質欠乏時とタンパク質再給与後における筋肉タンパク質の分解(○), 合成(●)速度の変化
6頭のラットの平均値

を20%のタンパク質食餌に切り換えると、徐々にMeHisの排泄量は増加して8日目には実験開始時の0.428mgに対して0.332mgの値にまで回復を示している。この間の分解速度は(図3)³⁰⁾、タンパク質欠乏にするとなだちにほとんど直線的に減少をしている。10日後には1.7%/日にまで減少した。その後はほぼこの低い水準を維持している。14日間のタンパク質欠乏の後、20%のタンパク質食餌を給与すると分解速度は徐々に上昇して8日目には2.8%/日の値にまで回復した。これに対して、合成速度はタンパク質の欠乏によって分解に比べてはるかに大きく低下している(図3)。無タンパク質の食餌を与えて1日目には実験開始時の4%/日から半減してほぼ2%/日にまで低下した。5日目にはさらに0.5%/日にまで低下している。その後、合成速度は14日目ではほぼ0.75%/日の低い合成水準を保っている。20%のタンパク質食餌に切り換えると、合成速度はその2日目には5.8%/日に上昇して急激な回復を示した。その後はほぼこの高い合成水準を維持している。このように、タンパク質欠乏のときとタンパク質を含む正常な食餌を与えた回復の時期における筋肉タンパク質の合成速度の変動は、分解速度に比べてすみやかであり、かつ大きいことがわかる。このような合成の大きな対応が筋肉タンパク質の減少や回復を引き起こし、このことが体重の変動のおもな要因ともなっていると考えられる。

動物を絶食にしたとき、筋肉タンパク質の分解、合成速度はどのように対応するであろうか。ラットを10日間絶食にして、その後食餌を与えて回復させたときの筋肉タンパク質の分解速度、合成速度の変動をみてみよう(表13, 図4)⁶⁰⁾。10日間の絶食によってラットは1日にはほぼ9gの割合で体重を減らした。食餌を再給与する

表 13. 尿への MeHis, クレアチニンおよび窒素排泄量におよぼす絶食と再給餌の影響

実験 日数	体重 (g)	MeHis 排泄量		クレアチニン排泄量		窒 素 排 泄 量	
		総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 ^a (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)
絶 食							
0	320±5*	0.352±0.007	0.110±0.001	10.0 ±0.39	3.12±0.09	508 ±22	159 ±7
1	303±4	0.340±0.016	0.112±0.004	9.72±0.50	3.20±0.13	187 ± 7	61.7±2.7
2	292±5	0.455±0.062	0.154±0.021 ^{1b}	9.71±0.88	3.32±0.28	130 ± 8	44.6±3.0
4	272±5	0.430±0.043	0.158±0.014 ¹	8.41±0.72	3.08±0.23	110 ± 8	40.6±3.2
6	257±5	0.414±0.042	0.161±0.016 ¹	8.68±0.88	3.37±0.32	101 ± 7	39.3±2.7
8	241±4	0.348±0.040	0.144±0.015	6.73±0.85	2.78±0.34	93.3± 9.3	39.0±3.5
10	229±4	0.361±0.032	0.156±0.011 ²	6.38±0.89	2.76±0.35	85.6±10.8	37.1±4.3
再給餌							
11	253±4	0.337±0.024	0.133±0.009 ¹	7.76±0.84	3.06±0.33	ND ^c	
12	260±4	0.193±0.012	0.074±0.004 ³	8.39±0.63	3.24±0.43	ND	
13	269±3	0.196±0.018	0.073±0.006 ³	8.99±0.43	3.35±0.17	ND	
15	281±3	0.280±0.013	0.099±0.004	9.57±0.39	3.41±0.12	ND	
17	296±4	0.321±0.016	0.109±0.005	9.11±0.36	3.07±0.12	ND	
20	320±5	0.350±0.015	0.109±0.003	9.52±0.60	2.96±0.15	ND	

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

^a 実験開始日との有意の差はない。^b 実験開始日との有意の差を示す (¹ $p < 0.05$, ² $p < 0.01$, ³ $p < 0.001$)。^c 測定されていない。

図 4. 絶食時と再給餌後の筋肉タンパク質の分解(○), 合成(●)速度の変化
6頭のラットの平均値と標準誤差を示す。

とほぼ同じ速度で体重は回復している。尿への1日当たりの MeHis 排泄量は絶食によって 0.352 mg から2日目には 0.455 mg に増加している(表 13)。その後は6日目まではほぼ同じ高い排泄量を示した。しかし、8日目から急速に減少して、その減少は再給餌の3日目まで続いた。その後は逐次増加して再給餌の10日目には完全

に回復した。このような MeHis 排泄量の変動は体重の変化とは明らかに異なっている。一方、クレアチニンの排泄量は体重の変化とほぼ同じ対応を示した。この間の分解速度の変化は(図4)⁶⁰⁾、実験開始時の2.6%/日から2日目には3.7%/日に上昇している。絶食の間中はほぼこの高い分解レベルを維持しているが、再給餌によってただちに回復することはなく分解速度は減少を始め、再給餌3日目には最低の水準にまで低下している。再給餌5日目から分解速度は上昇を始め、再給餌7日目になって実験開始時とほぼ同じ値に回復している。このような絶食期間中の筋肉タンパク質の分解の亢進は、糖新生によるグルコース供給の生理的優位性のために筋肉組織からアミノ酸が放出されていることを示しており、絶食の8日目以降はむしろ分解は抑制へと向かい、それにひきかえて体脂肪の分解の促進へと進み生命維持のために適応していることが推察される³⁶⁾⁶¹⁾。これらの分解速度の変動とは対照的に、合成速度は、ラットから食餌を取りあげるとただちに減少を始めて、絶食の1日目には0.4%/日の値に急激に低下している。2日目には合成はほとんど停止しているような状態を示している。その後は絶食の間中はこのような極端に低い合成の水準を保っている。10日間の絶食の後、食餌を再給与すると1

日目には合成は回復して 9.4%/日の値に上昇している。それ以降は 5%/日のほぼ正常な合成水準を保った。このように、絶食の期間中とその後の再給餌による回復の時期における筋肉タンパク質の分解と合成はまったく反対方向に対応していることが明らかにされた。そのことによって、筋肉のタンパク質の急速な損失とすみやかな回復を引き起こしているものと思われる。この間のからだ全体のタンパク質の変動にはこのような筋肉タンパク質の対応が大きく寄与していることは十分理解できよう。また、前述のタンパク質欠乏の場合には分解と合成はともにすみやかに低下するが、絶食の場合は分解は反対に高まることを示しており、いずれの場合も筋肉のタンパク質の損失が起こるが、その生理的対応は明らかに異なっていることがわかる。

4) ヒドロコルチゾン投与の影響 生体内における代謝制御にはホルモンが整然と介在していることは周知の事実である^{62)~64)}。筋肉タンパク質の代謝にはホルモンがどのように作用しているだろうか。インシュリン、成長ホルモン、アンドロゲンは筋肉へのアミノ酸の取り込みを促進する anabolic factor であり、これとは逆にグルココルチコイド、甲状腺ホルモン、エストロゲンはタンパク質の分解をうながす catabolic factor として作用する^{64)~66)}。ここでは、成熟ラットに体重 100 g 当たり 3 mg のヒドロコルチゾンを皮下注射した後の筋肉タンパク質への影響をみた (表 14, 図 5)⁶⁰⁾。ヒドロコルチゾンの投与によって体重はわずかに減少した。このときの MeHis の排泄量は投与前の 0.364 mg から 1 日後には 0.487 mg に増加している。2 日目には最大に達している (表 14)。その後 5 日目にはほぼ正常値に回復した。これに対して、クレアチニンと窒素の排泄量の対応は MeHis に比べてすみやかであり、投与 1 日後に増加して 2 日目にはすでに正常値に回復している。ヒドロコルチゾンの投与によって筋肉のタンパク質分解は徐々に上

図 5. ヒドロコルチゾン投与後の筋肉タンパク質の分解(○), 合成(●)速度の変化
5 頭のラットの平均値と標準誤差を示す。

昇して、投与の 2 日目には 3.5%/日 とほぼ最大値に達している (図 5)⁶⁰⁾。この高い分解の水準は 3 日目まで維持され、5 日目にはほぼ投与前の値に回復している。一方、合成速度はヒドロコルチゾンの投与によってただちに減少を始めて、2 日後にはおよそ 1%/日の低い水準に達している。しかし、3 日目には約 2.5%/日の値まで上昇したがそれ以降 5 日目まで投与前の値には回復していない。これらの実験結果は、明らかにヒドロコルチゾンは筋肉に対してタンパク質の分解を促進し、合成には抑制の方向に作用していることを示している。同時に、このときの尿への MeHis 排泄量と比較した場合、窒素の排泄量は 1 日目には 332 mg から 431 mg へと最大に達して 2 日目には 290 mg に低下してすでに投与前の値に戻っており、ヒドロコルチゾンは筋肉以外の組織、臓器タンパク質の分解を迅速に促進するが、筋肉に対してはゆっくりではあるが持続して作用することを示しており、ヒドロコルチゾンの臓器、組織への作用の違いを示唆している。

5) ラットの成長に伴う変動 動物の成長速度は未成熟期の成育の盛んな時期は速く、成長とともにその速度は低下していく。適切な食餌を摂取して成長している過

表 14. 尿への MeHis, クレアチニンおよび窒素排泄量におよぼすヒドロコルチゾン投与 (3 mg/体重 100 g) の影響

実験 日数	体重 (g)	MeHis 排泄量		クレアチニン排泄量		窒素排泄量	
		総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)	総 量 (mg/日)	体重 100 g 当たりの量 (mg)
0	370±6*	0.364±0.030	0.098±0.007	7.70±0.54	2.08±0.14	332±18	89.7±5.4
1	366±6	0.487±0.008	0.132±0.003 ^a	9.34±0.84	2.55±0.25 ²	431±49	117±16 ¹
2	357±7	0.522±0.036	0.146±0.008 ²	6.77±0.38	1.89±0.10	290±32	81.3±8.9
3	353±7	0.526±0.053	0.149±0.016 ²	7.61±0.36	2.15±0.10	283±48	80.0±13.2
5	350±9	0.394±0.026	0.113±0.008	6.89±0.37	1.97±0.11	307±51	87.5±12.8

* 5 頭のラットの平均値±標準誤差

^a 実験開始日との有意の差を示す (¹ $p<0.05$, ² $p<0.01$, ³ $p<0.001$)。

程ではおもに体タンパク質のゆっくりとした蓄積が起きている。成長過程では、臓器、組織の成育の度合いはどのような変化をしていくであろうか。ラットでは肝臓、腎臓、心臓および血液量は成長とともにからだ全体に対する割合は低下していくのに対して、筋肉は逆にその割合は大きくなっていくことが知られている。すなわち、生後まもない体重 5g では体重に占める筋肉の割合は 23% であるのに対して、100g の体重の時期では 36%、ほぼ成熟に達した体重 250g のラットでは 45.5% にも増大する⁶⁷⁾。成長に伴う筋肉組織のきわだった成育の特徴といえるだろう。このような動物の成長と組織、器官のタンパク質の代謝はどのような関連を示すであろうか。

ラットの体重が 75g の未成熟期から 363g の成熟期に至る成長過程の筋肉タンパク質の分解、合成速度の経時的な変動の様子をみてみよう (表 15, 図 6)⁶⁸⁾。このときの成長速度は、体重が 75g から 129g までの期間が 1 日当たり 5g の体重増加で最も大きく、それ以降は逐次低下を示している。体重が 324g から 363g の時期

表 15. ラットの成長過程における体重および尿への MeHis 排泄量の変化

実験 日数	体 重 (g)	総 量 (mg/日)	体重 100g 当たりの量 (mg)
0	75±2*	0.108±0.010	0.144±0.011
11	129±5	0.212±0.013	0.164±0.005
22	176±10	0.247±0.022	0.140±0.005
32	210±15	0.289±0.041	0.137±0.012
43	260±15	0.320±0.029	0.123±0.008
63	324±9	0.370±0.013	0.114±0.006
84	363±13	0.420±0.017	0.115±0.006

* 6頭のラットの平均値±標準誤差

図 6. ラットの成長過程における筋肉タンパク質の分解(○), 合成(●)速度の変化
6頭のラットの平均値と標準誤差を示す。

での体重増加量は 1 日平均 1.8g に低下した。尿への MeHis 排泄量はほとんど体重のふえ方と同様な傾向を示した (表 15)。体重が 75g のときの筋肉のタンパク質の分解速度は 2.91%/日、代謝半減期にすると 24 日、このときの合成速度は 8.08%/日であった。タンパク質の合成が盛んであることがわかる (図 6)。体重が 129g の時期では、それぞれ 3.31%, 7.2%/日である。それ以後は成長とともにしだいに低下して、体重が 260g の時期では分解速度 2.47% (代謝半減期 28 日)、合成速度が 4.25%/日となり、成熟した時期である体重 363g のときにはそれぞれ 2.30% (代謝半減期 30 日)、2.82%/日にまで減少している。このように、成育の盛んな時期における筋肉タンパク質の合成は、分解よりはるかに大きくその差、すなわち筋肉タンパク質の蓄積速度は 3.8~5% にも達する。このような活発な合成が未成熟期における筋肉タンパク質の増加、蓄積に大きく寄与しているものと考えられる。これに対して、分解速度の水準は 2.91~2.30%/日と低くかつその変動は緩慢である。このような成長に伴う筋肉タンパク質の合成と分解の対応は、同位体を用いた実験でも同様な傾向が示されている⁶⁹⁾。また、すみやかに成長をとげる大型のラットとそれほど大きく成育できない小型のラットを用いた実験結果によると、小型の動物は分解水準が高いために大きくなれないことが示唆されており⁶⁹⁾、人間の発育時期や動物の成長過程におけるこれらの対応を明確にすることは、健康、発育や、よりよい家畜の生産をめざすうえで重要な研究課題である。

3. ま と め

以上のように本論文で示された MeHis 法によって求められた筋肉タンパク質の分解、合成速度とさまざまな食餌条件や生理的条件下におけるその対応についてまとめてみると次のように整理ができよう (図 7, 表 16)。

20% のカゼインを含む食餌を与えたラットの筋肉タンパク質には体重 100g 当たり 4.185 mg の MeHis が含まれる。尿へは 1 日体重 100g 当たり 0.115 mg の MeHis が排泄され、筋肉からはタンパク質の分解によって 1 日当たり 0.096 mg の MeHis が放出される (図 7)⁴²⁾。筋肉組織以外に、皮膚、消化管組織のタンパク質の分解によって放出される MeHis の量は 1 日当たりそれぞれ 0.012 mg (代謝回転速度で 5%/日)、0.007 mg (代謝回転速度 7.3%/日) である。これらの組織タンパク質の分解によって生じた MeHis は、血液にはいり腎臓を経由して尿へと排泄される。これらの結果を考慮して計算してみると、成熟ラットの筋肉タンパク質の分解速度は 2.29%/日 (代謝半減期 30 日)⁴²⁾となる。

ラットを絶食にすると筋肉タンパク質の合成はほとん

図 7. ラット組織タンパク質からの MeHis の放出量

体重 100 g 当たりの組織からの放出量を示す。筋肉タンパク質中の MeHis 量はからだ全体の MeHis 量 (4.65 mg/体重 100 g) (表 1) の 90% (4.185 mg) として表 2 の結果とあわせて計算した。

表 16. さまざまな食餌条件、ホルモン投与および生理的条件下における筋肉タンパク質の分解、合成速度の変動のまとめ

食 餌 条 件	合 成	分 解
絶 食	↓↓	↑
絶食後の再給餌	↑↑	↑
タンパク質欠乏	↓↓	↓
タンパク質欠乏後のタンパク給与	↑↑	↑
ヒドロコルチゾンの投与	↓	↑
エネルギー摂取量制限	↓	—
脂肪食餌	↓↓	—
高タンパク質食餌	↑	↑
成 長	↓↓	↓

↑ わずかな増加, ↓ わずかな減少, ↑↑ 顕著な増加, ↓↓ 顕著な減少, ↑↑↑ 大きな増加, ↓↓↓ 大きな減少, — 変化なし

ど停止するほどに極端に低下するが、分解は逆に亢進する。再給餌によって合成はただちに回復するが、分解は徐々に回復する (表 16)。ラットをタンパク質欠乏にすると合成は急速に減少するが、分解は徐々に低下する。タンパク質を再給与すると合成はすみやかに回復するが、分解の回復は緩慢である。ヒドロコルチゾンの投与によって合成は減少するが、分解は亢進する。エネルギー摂取量の制限によって合成は抑制されるが、分解は維持の水準を保つ。脂肪食餌を与えると、合成は強く抑制されるが、分解には影響しない。食餌のタンパク質含量が 20% を上まわると分解は亢進する。ラットの成長に伴って合成も分解も低下するが、成育の旺盛な未成熟期では合成はきわめて活発であるが成熟期に近づくにつれて急速に減少する。しかし、この間の分解の水準は低く

その変動は小さい。

このように、エネルギーやタンパク質が欠乏したときには筋肉タンパク質の合成は急激に減少するが、再給与によってほとんどただちに回復する。この間の合成の変動は大きくかつきわめて急激である。一方、ラットの成長過程では、合成速度は低下していく。このような合成速度のすみやかで大きな変動に比べて、分解速度の水準は小さく、その変動は緩慢である。分解が明らかに亢進する条件は、タンパク質、エネルギー欠乏からの回復の時期を除いて、ラットを絶食にしたときとグルココルチコイドを投与した場合である。また、合成と分解が同じ方向に変動する条件は、タンパク質欠乏のときと成長過程のともに低下する場合と、欠乏状態から回復のときとともに増加する場合である (表 16)。

これらの本論文で示した結果から、合成速度の変動は分解速度に比べてはるかに大きくかつすみやかであり、分解の割合を軽視することはできないが、筋肉タンパク質の量の制御は主として合成速度の調節によって行なわれているものと結論された。

このような合成と分解の変動の様子をあわせ考えてみると、筋肉タンパク質の量の制御は単純なものではなく⁷⁰⁾、その主役はあくまでも合成が演じているのは当然といえるが、タンパク質の増加や減少には合成はほぼそれと同じ対応を示しているのに対して、分解は必ずしもそれと対応状態ではなく、タンパク質の減少状態にあるときには亢進したり、低栄養からの回復の時期にタンパク質が増加している条件下では低下するわけではなく、逆に分解は活発になっているのである。成長の過程ではタンパク質が増加している条件にもかかわらず合成と分解はともに低下しているのである。このような過渡状態における合成量と分解量の差がタンパク質の増加や減少を引き起こしているわけである。

筋肉は組織、臓器の中では最大なものでしかも活発に代謝している組織である。からだ全体のタンパク質の代謝量を明らかにするうえで筋肉の重要性はきわめて大きいといえよう。しかし、組織タンパク質の合成、分解量を求めるうえで、すでに指摘したように同位体を用いる方法では、アミノ酸の再利用の問題は避けられない。そのためいくつかの改善策が考えられているが、それでも問題が解決しているわけではない。その点、本論文で示した MeHis 法はアミノ酸の再利用を考慮する必要がなく、生理的条件下のほかにさまざまな食餌条件下での非定常状態においても筋肉タンパク質の合成、分解の対応の様子を、特異的に観察できることは、同位体を用いる方法に比べて *in vivo* での研究手法としては有用な方法といえる。Asatoor ら¹³⁾によって示唆されたこの方法は、すでに論じたように Young ら^{15)~17)}によって確認づけ

られているが、本研究ではこの方法をいっそう明確にして確立をはかった。しかし、MeHis 法といえども完全なものではなく、解決しなければならないいくつかの問題がある。まず、からだ全体の筋肉に存在する MeHis の量を体重から求めている点である。未成熟期の成育中の比較的脂肪組織や皮膚が発達する前の時期ではかなりの正確さで体重から筋肉量を算出されうるが、動物が成熟に達した場合や体重が変動するような食餌条件の非定常状態の場合は問題となろう。また、最近の研究ではアクトチンの分解がわずかであるがミオシンより速いことが示されている⁷¹⁾。さらに、尿へ排泄される MeHis 量のうちの程度が筋肉以外の組織から由来するかである。この点、最近のラットの研究では、尿への排泄量に対する消化管と皮膚組織の寄与率があわせて 24.4% であることが示されており、ほぼ本論文の結果を支持しているが⁷¹⁾、消化管の影響はより大きいとも報告されている⁷²⁾。しかし、明らかな計算違いや実験の手法上の問題からくる異なった結果⁷³⁾を除いて、筋肉組織の大きさやその高い代謝活性を考えあわせると、尿の MeHis 量の大部分が筋肉に由来するものと考えるのが常識的で妥当のように思われる⁷⁴⁾。この問題に対する人間での研究は 1 例だけで、病気の末期にほとんど筋肉組織が消失している患者の尿の MeHis 量を測定して健康な者の尿の MeHis 排泄量と比較した結果、尿の MeHis 量のほぼ 75% は筋肉に由来することが報告されている⁷⁵⁾。家畜では、肉用牛のからだ全体の MeHis 含量の 93.4% 以上が筋肉に含まれており、皮膚や消化管に含まれる量はわずか 4.3% にしかすぎない⁷⁶⁾。そのため、大動物ではこの方法を適用することの有利性を示唆しているといえよう。その他の実験動物や家畜におけるこの問題に関する研究は報告されていない。筋肉細胞は巨大な細胞であり、細胞の外側は内部より活発に代謝しているのではないかと考えられている⁷⁷⁾⁷⁸⁾。このような考え方の妥当性を示唆する研究結果も報告されており⁷¹⁾⁷⁹⁾、この点も十分考慮しなければならない問題である。

これらの問題点があるにもかかわらず、技術的な困難性のためにタンパク質の代謝回転に関する多くの問題が未解決となっている今日、実験動物における研究^{80)~89)}ばかりでなく人間への病理、臨床面^{90)~102)}や家畜への MeHis 法の応用研究⁷⁶⁾¹⁰³⁾¹⁰⁴⁾が広がりつつあることは当然のことといえよう。なかでもこの方法によって、からだ全体のタンパク質の代謝量のほぼ 26% は筋肉が担っていること³⁰⁾や、加齢、老化に伴って臓器のタンパク質代謝が活発になっていくことを示した研究³⁰⁾は優れた成果といえよう。このような MeHis 法の *in vivo* での研究手法としての有用性のほかに、*in vitro* における筋肉タンパク質の分解の指標として、筋肉細胞から放出され

る遊離の MeHis も注目されている¹⁰⁵⁾。

最後に、家畜への MeHis 法の応用研究について紹介してみたい。家畜では人間の場合と異なり動物の健康上の問題のほかに、生産性の向上やよりよい家畜を育種していくことが重要な問題である。家畜のなかでは、ウサギ¹⁰⁶⁾とウシ⁷⁶⁾¹⁰³⁾¹⁰⁷⁾で MeHis 法の有効性が確かめられている。ブタ¹⁰⁸⁾およびメンヨウ¹⁰⁹⁾ではこの方法が適用できないことが示されている。MeHis 法によって、体重が 200 kg から 300 kg の肉用牛の筋肉タンパク質の分解速度は 1.22% から 1.02%/日 (代謝半減期 56~67 日) であることが明らかになり⁷⁶⁾、ラットに比べて千倍以上もの生体重の大ききの違いがあるにもかかわらず、筋肉タンパク質の代謝速度はそれほどかけはなれていないことがわかった。今後、肉用牛の品種間の成育の違いと筋肉タンパク質の合成、分解速度の関連¹¹⁰⁾など研究の発展が望まれる。現在、取り組まれているブロイラー、産卵鶏、ウズラ^{111)~113)}での研究やその他の家畜⁴³⁾での研究の成果が待たれるところである。

本論文では筋肉タンパク質の代謝とその制御について MeHis 法を中心に論じたが、数多くの研究によって筋肉に関する基礎的知見は深まりつつはあるが、筋肉をとりまく多くの問題はいまだ未解決となっており、より多くの研究者がこの分野に関心をもち、筋肉の研究がいっそう発展することを期待したい。

本論文は第 36 回日本栄養・食糧学会総会において奨励賞を受賞された「筋肉タンパク質の分解速度に関する栄養学的研究」を中心に述べたが、このような機会を与えられた会員のみなさま、ご推薦をいただいた諸先生の方々へ心よりお礼を申し上げます。本論文に示された研究は多くの方々の協力によるものであり深く感謝の意を表します。研究のご指導、ご援助をいただいた現在東京農工大学教授船引龍平博士、現在東京大学助教授野口 忠博士、常に暖かい励ましをいただいた岩手大学教授晴山 信一博士、ともに研究をしていただいた新保 守氏、豊田吉隆氏、現在農林水産省畜産試験場生理部第四研究室長板橋久雄博士、ならびに岩手大学栄養化学研究室のみなさまに心より感謝を申し上げます。

文 献

- 1) Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee : Energy and Protein Requirements, W.H.O. Tech. Rep. Ser., No. 522 (1973)
- 2) Schoenheimer, R. : The Dynamic State of Body Constituents, (1942), Harvard University Press (Massachusetts)
- 3) Swick, R.W. and Handa, D.T. : *J. Biol. Chem.*, 218, 557 (1956)
- 4) Millward, D.J. : *Clin. Sci.*, 39, 577 (1970)

- 5) Swick, R.W. and Song, H. : *J. Anim. Sci.*, **38**, 1150 (1974)
- 6) Schimke, R.T. : Mammalian Protein Metabolism, Vol. 4 (Munro, H.N., ed.), 177 (1970), Academic Press (New York)
- 7) Waterlow, J.C. and Stephen, J.M.L. : *Clin. Sci.*, **35**, 287 (1968)
- 8) Garlick, P.J. and Marshall, I. : *J. Neurochem.*, **19**, 577 (1972)
- 9) Garlick, P.J., Millward, D.J. and James, W.P.T. : *Biochem. J.*, **136**, 935 (1973)
- 10) Schimke, R.T., Ganschow, R., Doyle, D. and Arias, I.M. : *Fed. Proc.*, **27**, 1223 (1968)
- 11) Arias, I.M., Doyle, D. and Schimke, R.T. : *J. Biol. Chem.*, **244**, 3303 (1969)
- 12) Funabiki, R. and Cassens, R.G. : *Nature New Biol.*, **236**, 249 (1972)
- 13) Asatoor, A.M. and Armstrong, M.D. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **26**, 168 (1967)
- 14) Johnson, P., Harris, C.I. and Perry, S.V. : *Biochem. J.*, **105**, 361 (1967)
- 15) Young, V.R., Baliga, B.S., Alexis, S.D. and Munro, H.N. : *Biochim. Biophys. Acta*, **199**, 297 (1970)
- 16) Young, V.R., Alexis, S.D., Baliga, B.S., Munro, H.N. and Muecke, W. : *J. Biol. Chem.*, **247**, 3592 (1972)
- 17) Long, C.L., Haverberg, L.N., Young, V.R., Kinney, J.M. and Munro, H.N. : *Metabolism*, **24**, 929 (1975)
- 18) Haverberg, L.N., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Biochim. Biophys. Acta*, **371**, 226 (1974)
- 19) Collins, J.H. and Elzinga, M. : *J. Biol. Chem.*, **250**, 5915 (1975)
- 20) Elzinga, M. and Collins, J.H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**, 4281 (1977)
- 21) 丸山工作 : 筋収縮の制御, 95(1976), 岩波書店(東京)
- 22) Ebashi, S. : *J. Biochem.*, **72**, 787 (1972)
- 23) Trayer, I.P., Harris, C.I. and Perry, S.V. : *Nature*, **217**, 452 (1968)
- 24) Kuehl, W.M. and Adelsten, R.S. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **39**, 956 (1970)
- 25) Huszar, G. and Elzinga, M. : *Biochemistry*, **10**, 229 (1971)
- 26) Huszar, G. and Elzinga, M. : *J. Biol. Chem.*, **247**, 745 (1972)
- 27) Huszar, G. : *Nature New Biol.*, **240**, 260 (1972)
- 28) Reporter, M. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **158**, 577 (1973)
- 29) Morse, R.K., Vergnes, J.-P., Malloy, J. and McManus, I.R. : *Biochemistry*, **14**, 4316(1975)
- 30) Young, V.R. and Munro, H.N. : *Fed. Proc.*, **37**, 2291 (1978)
- 31) Funabiki, R. and Kandatsu, M. : *J. Biochem.*, **64**, 717 (1968)
- 32) Goldberg, A.L. : *J. Biol. Chem.*, **244**, 3223 (1969)
- 33) Low, R.B. and Goldberg, A.L. : *J. Cell Biol.*, **56**, 569 (1973)
- 34) Rabinowitz, M. : *Am. J. Cardiol.*, **31**, 202(1973)
- 35) Millward, D.J. and Bates, P.C. : *Acta Biol. Med. Ger.*, **40**, 1309 (1981)
- 36) Haverberg, L.N., Deckelbaum, L., Bilmazec, C., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Biochem. J.*, **152**, 503 (1975)
- 37) Nishizawa, N., Shimbo, M., Hareyama, S. and Funabiki, R. : *Br. J. Nutr.*, **37**, 345 (1977)
- 38) Funabiki, R., Watanabe, Y., Nishizawa, N. and Hareyama, S. : *Biochim. Biophys. Acta*, **451**, 143 (1976)
- 39) Nishizawa, N., Noguchi, T., Hareyama, S. and Funabiki, R. : *Br. J. Nutr.*, **38**, 149(1977)
- 40) Nishizawa, N., Funabiki, R. and Hareyama, S. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **21**, 383 (1975)
- 41) Nishizawa, N., Noguchi, T., Hareyama, S. and Funabiki, R. : *J. Chromatogr.*, **151**, 424 (1978)
- 42) Nishizawa, N., Noguchi, T., Hareyama, S. and Funabiki, R. : *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 177 (1979)
- 43) 西沢直行, 板橋久雄, 松本光人, 晴山信一 : 第74回日本畜産学会大会講演要旨, 14 (1983), (仙台)
- 44) Benson, J.R. and Hare, P.E. : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 619 (1975)
- 45) Noguchi, T., Nishizawa, N., Itoh, M., Yanagi, Y., Hareyama, S. and Naito, H. : *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2265 (1981)
- 46) Stein, S., Böhlen, P., Stone, J., Dairman, W. and Udenfriend, S. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **155**, 202 (1973)
- 47) Wassner, S.J., Schlitzer, J.L. and Li, J.B. : *Anal. Biochem.*, **104**, 284 (1980)
- 48) Ward, L.C., Miller, M. and Hawgood, S. : *J. Chromatogr.*, **228**, 417 (1981)
- 49) Murray, A.J., Ballard, F.J. and Tomas, F.M. : *Anal. Biochem.*, **116**, 537 (1981)
- 50) Muramatsu, K. and Ashida, K. : *J. Nutr.*, **76**, 143 (1962)
- 51) Muramatsu, K. and Ashida, K. : *J. Nutr.*, **79**, 365 (1963)
- 52) Muramatsu, K., Sato, T. and Ashida, K. : *J. Nutr.*, **81**, 427 (1963)
- 53) 西沢直行, 新保 守, 野口 忠, 舩引龍平, 晴山信一 : 第34回日本栄養・食糧学会総会講演要旨, 68 (1980), (札幌)
- 54) Addis, T., Poo, L.J. and Lew, W. : *J. Biol. Chem.*, **115**, 111 (1936)
- 55) Addis, T., Poo, L.J. and Lew, W. : *J. Biol. Chem.*, **115**, 117 (1936)
- 56) Addis, T., Poo, L.J. and Lew, W. : *J. Biol. Chem.*, **116**, 343 (1936)
- 57) Yamaguchi, M. and Kandatsu, M. : *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 1372 (1967)
- 58) Yamaguchi, M. and Kandatsu, M. : *Nature*, **217**, 668 (1968)
- 59) Yamaguchi, M. and Kandatsu, M. : *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 579 (1973)
- 60) Nishizawa, N., Shimbo, M., Noguchi, T., Hareyama, S. and Funabiki, R. : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 2083 (1978)
- 61) Felig, P. : *Ann. Rev. Biochem.*, **44**, 933(1975)
- 62) Munro, H.N. : Mammalian Protein Metabolism, Vol. 1, (Munro, H.N. and Allison, J.B., eds.), 381(1964), Academic Press(New York)
- 63) Munro, H.N. : Mammalian Protein Metabolism, Vol. 4, (Munro, H.N., ed.), 3 (1970), Academic Press (New York)
- 64) Waterlow, J.C., Garlick, P.J. and Millward,

- D.J. : Protein Turnover in Mammalian Tissues and in the Whole Body, 625 (1978), North-Holland Publishing (Amsterdam)
- 65) Goldberg, A.L., Tischler, M., DeMartino, G. and Griffin, G. : *Fed. Proc.*, **39**, 31 (1980)
- 66) Tischler, M.E. : *Life Sci.*, **28**, 2569 (1981)
- 67) Miller, S.A. : Mammalian Protein Metabolism, Vol. 3, (Munro, H.N., ed.), 183 (1969), Academic Press (New York)
- 68) Millward, D.J., Garlick, P.J., Stewart, R.J.C., Nnanyelugo, D.O. and Waterlow, J.C. : *Biochem. J.*, **150**, 235 (1975)
- 69) 船引龍平, 羽藤公一, 西沢直行, 晴山信一 : 日本農芸化学会昭和54年度大会講演要旨集, 60(1979), (東京)
- 70) Millward, D.J. : Protein Turnover and Lysosome Function, (Segal, H.L. and Doyle, D.J., eds.), 619 (1978), Academic Press (New York)
- 71) Nagasawa, T. and Funabiki, R. : *J. Biochem.*, **89**, 1155 (1981)
- 72) Wassner, S.J. and Li, J.B. : *Am. J. Physiol.*, **243**, E293 (1982)
- 73) Millward, D.J., Bates, P.C., Grimble, G.K., Brown, I.G., Nathan, M. and Rennie, M.J. : *Biochem. J.*, **190**, 225 (1980)
- 74) Harris, C.I. : *Biochem. J.*, **194**, 1011 (1981)
- 75) Afting, E.-G., Bernhardt, W., Janzen, R.W.C. and Röthig, H.-J. : *Biochem. J.*, **200**, 449 (1981)
- 76) Nishizawa, N., Toyoda, Y., Noguchi, T., Hareyama, S., Itabashi, H. and Funabiki, R. : *Br. J. Nutr.*, **42**, 247 (1979)
- 77) Morkin, E. : *Science*, **167**, 1499 (1970)
- 78) Etlinger, J.D., Zak, R., Fishman, D.A. and Rabinowitz, M. : *Nature*, **255**, 259 (1975)
- 79) Ward, L.C. and Buttery, P.J. : *Biochim. Biophys. Acta*, **587**, 415 (1979)
- 80) Tomas, F.M., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Biochem. J.*, **178**, 139 (1979)
- 81) Burini, R., Santidrian, S., Moreyra, M., Brown, P., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Metabolism*, **30**, 679 (1981)
- 82) Santidrian, S., Moreyra, M., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Metabolism*, **30**, 798 (1981)
- 83) Stegink, L.D., Reynolds, W.A. and Pitkin, R.M. : *J. Parenter. Enteral Nutr.*, **5**, 485 (1981)
- 84) Santidrian, S. and Thompson, J.R. : *Arch. Pharmacol. Toxicol.*, **7**, 215 (1981)
- 85) Santidrian, S. : *Arch. Pharmacol. Toxicol.*, **7**, 283 (1981)
- 86) Santidrian, S., Burini, R., Moreyra, M., Young, V.R. and Munro, H.N. : *Arch. Pharmacol. Toxicol.*, **7**, 319 (1981)
- 87) Santidrian, S., Thompson, J.R. and Young, V.R. : *Arch. Pharmacol. Toxicol.*, **7**, 333 (1981)
- 88) Santidrian, S., Burini, R., Young, V.R. and Munro, H.N. : *Rev. Esp. Fisiol.*, **37**, 309 (1981)
- 89) Santidrian, S., Marchon, P., Zhao, X.H., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Growth*, **45**, 342 (1981)
- 90) Young, V.R., Haverberg, L.N., Bilmazes, C. and Munro, H.N. : *Metabolism*, **22**, 1429 (1973)
- 91) Williamson, D.H., Farrell, R., Kerr, A. and Smith, R. : *Clin. Sci.*, **52**, 527 (1977)
- 92) Bilmazes, C., Uauy, R., Haverberg, L.N., Munro, H.N. and Young, V.R. : *Metabolism*, **27**, 525 (1978)
- 93) Nagabhusham, V.S. and Rao, B.S.N. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 1322 (1978)
- 94) Tomas, F.M., Ballard, F.J. and Pope, L.M. : *Clin. Sci.*, **56**, 341 (1979)
- 95) Ballard, F.J., Tomas, F.M. and Stern, L.M. : *Clin. Sci.*, **56**, 347 (1979)
- 96) Burman, K.D., Wartofsky, L., Dinterman, R.E., Kesler, P. and Wannemacher, R.W., Jr. : *Metabolism*, **28**, 805 (1979)
- 97) Lukaski, H. and Mendez, J. : *Metabolism*, **29**, 758 (1980)
- 98) Long, C.L., Birkhahn, R.H., Geiger, J.W., Betts, J.E., Schiller, W.R. and Blakemore, W.S. : *Metabolism*, **30**, 765 (1981)
- 99) Seashore, J.H., Huszar, G. and Davis, E.M. : *Metabolism*, **30**, 959 (1981)
- 100) Huszar, G., Koivisto, V., Davis, E. and Feling, P. : *Metabolism*, **31**, 188 (1982)
- 101) Iyengar, A.K. and Rao, B.S.N. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **35**, 733 (1982)
- 102) Dohm, G.L., Williams, R.T., Kasperek, G.J. and Van Rij, A.M. : *J. Appl. Physiol.*, **52**, 27 (1982)
- 103) Harris, C.I. and Milne, G. : *Br. J. Nutr.*, **45**, 411 (1981)
- 104) Wohlt, J.E., Evans, J.L., Foy, W.L., Jr. and Wright, T.D. : *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **16**, 127 (1982)
- 105) Hillgartner, F.B., Williams, A.S., Flanders, J.A., Morin, D. and Hansen, R.J. : *Biochem. J.*, **196**, 591 (1981)
- 106) Harris, C.I., Milne, G., Lobley, G.E. and Nicholas, G.A. : *Biochem. Soc. Trans.*, **5**, 706 (1977)
- 107) Harris, C.I., Milne, G. and Oldham, J.D. : *Proc. Nutr. Soc.*, **39**, 53A (1980)
- 108) Harris, C.I. and Milne, G. : *Br. J. Nutr.*, **45**, 423 (1981)
- 109) Harris, C.I. and Milne, G. : *Br. J. Nutr.*, **44**, 129 (1980)
- 110) Nishizawa, N., Itabashi, H. and Hareyama, S. : The 5th World Conference on Animal Production, (1983), (Tokyo)
- 111) 林 國興, 品川義之, 富田裕一郎, 橋爪徳三 : 第73回日本畜産学会大会講演要旨, 9 (1982), (東京)
- 112) 林 國興, 井上謙吾, 前田芳實, 富田裕一郎 : 第74回日本畜産学会大会講演要旨, 34 (1983), (仙台)
- 113) 前田芳實, 林 國興, 豊原俊治, 岡本 悟, 橋口勉 : 第74回日本畜産学会大会講演要旨, 92 (1983), (仙台)

(昭和58年6月2日受理)