《原 著》

脂質、糖質および蛋白質生合成に及ぼす N-(N-p-Carboxyphenylglycyl)-Aminoacetonitrile の作用*

中 村 治 雄 伊藤由紀子**

は じ め に

四塩化炭素(以下 CCl_4 と略す)による実験的肝障害動物には、糖質代謝^{1,2)}では肝グリコーゲン量の減少、肝からの糖送出量の減少、あるいは経口的糖負荷試験時の過血糖回復の遅延など、脂質代謝³⁾では肝の脂肪酸のエステル化およびコレステロールの増加、蛋白代謝⁴⁾では酸性ムコ多糖体の増生に続く肝の線維化など種々の代謝異常がみられる。

一方、実験的肝障害動物に lathyrogenic agent を投与すると、肝の線維化が抑制され、肝蛋白の生成が亢進する^{5,6)}ことが報告されてから lathyrogenic agent が線維化抑制物質として注目され、これに関する報告も多い。

本実験は lathyrogenic agent である aminoacetonitrile の誘導体、N-(N-p-carboxyphenylglycyl)-aminoacetonitrile (以下 H-100 と略す) が実験動物に対していかなる作用をなし得るかをみんとしたものであり、まず最初に正常なマウスにおける脂質代謝に及ぼす影響について検討し、次いで CCl_4 による実験的肝障害マウスの肝における脂質、糖質、蛋白代謝について基礎的な検討を試みた。

実 験 方 法

1. 正常動物実験

1) 肝ホモジネートにおける酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からのとりこみ

D. D. 系雄マウス肝を 0.1M リン酸カリ緩衝液 p. H 7.4 の Bucher 液⁷⁾ の 2.5 倍でホモジナイズし、その

無細胞ホモジネート 50ml に、ATP 39mg, DPN 220 mg, 酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ (第一化学) $140\mu\text{Ci}$ を加えた培養液の 2.0ml に H-100 を 0.04~5mg を加え、 O_2 通気後 37 $^{\circ}\text{C}$ で 4 時間培養する。

Carrier としてコレステロール 1.5mg, トリオlein 5mg を加えて、アセトンアルコール (1:1) で総脂質を抽出し、アルコール性 KOH でケン化後、コレステロールはジギトニドとして沈殿させ、総脂酸⁸⁾は硫酸酸性にした後、石油エーテルで抽出、蛋白は脱脂、脱糖後、ギ酸に溶かし、放射能は gas flow counter で測定した。

2) In vivo における酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ またはメバロン酸- $2\text{-}^{14}\text{C}$ からのとりこみ

D. D. 系雄マウスに H-100 を 50mg/g/day, 21 日間投与後、酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ または dl-メバロン酸 (第一化学) を体重 100g 当りそれぞれ $25\mu\text{Ci}$, $0.6\mu\text{Ci}$ 注射し、1 時間後の肝、腎、小腸を採取し、ホモジナイズ後、前述のごとく処理してとりこみをしらべ cpm/mg 組織として表わし、コレステロールは Zak 法⁹⁾、総脂酸は Stern-Shapiro 法¹⁰⁾ によった。

3) コレステロール- $4\text{-}^{14}\text{C}$ の組織からの消失

D. D. 系雄マウス (体重 15g 前後) にコレステロール- $4\text{-}^{14}\text{C}$ を体重 100g 当り $1.0\mu\text{Ci}$ 皮下注射し、その翌日より H-100 を 50mg/100g/day 28 日間投与後、肝、腎、小腸 (内容を含む) 血液、肝、腎、小腸、血液を除いた残りの組織 (Carcass) のコレステロールの放射能を前述のごとく測定し cpm/g 組織として表わした。

4) コレステロール- $4\text{-}^{14}\text{C}$ の小腸からの吸収と排泄

D. D. 系雄マウスを夕方から翌朝にかけて飢餓状態として、1 匹当りコレステロール- $4\text{-}^{14}\text{C}$ $0.05\mu\text{Ci}$ と H-100 25mg の混液を胃ゾンデにて投与、対照にはコレステロールのみを投与し、24 時間後の糞、肝、小腸 (内

* The effect of N-(N-p-carboxyphenyl) glycyl aminoacetonitrile on the biosynthesis of liver lipid, glycogen and protein.

** H. Nakamura, Y. Ito : 北海道大学歯学部生理学.

容を含む), 血液を採取した。糞の処理は Abell¹¹⁾ の方法に準じて行い, ホモジナイズ後, アルコールおよびエチルエーテルによる抽出物について総放射能を測定, 次いで 15% KOH でケン化後, 中性ステロール分画を石油エーテルで抽出し, 残りの水層を硫酸酸性としてエチルエーテルにて胆汁酸分画を抽出した。さらに中性ステロール分画には 1% ジギトニンを加えコレステロールをジギトニドとした。

肝, 小腸, 血液は (肝, 小腸はホモジナイズ後) アセトン-アルコール (1:1) で脂質を抽出し, KOH でケン化後, コレステロールをコレステロール-ジギトニドとして, その比放射能を測定した。

2. 四塩化炭素肝障害動物実験

スイスアルビノ系雄マウスに 10% CCl₄-オリーブ油液を体重 100g 当り 1ml, 週 2 回皮下注射したものを対照群とし, これにさらに H-100 を体重 100g 当り 20 mg 連日皮下注射したものを投与群とした。これら 2 群について, 投与開始後, 3 週, 5 週, 8 週, 11 週に, 総脂質については 16 週後にも, 次の実験を行った。

1) 酢酸-1-¹⁴C より脂質へのとりこみ

酢酸-1-¹⁴C を体重 100g 当り 25μCi 皮下注射し 1 時間後に肝を摘出し, 総脂質, 総コレステロール, 総脂酸へのとりこみをしらべた。

肝をホモジナイズ後, アセトン-アルコール (1:1) で総脂質を抽出し, その一部をとって液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定。次いで型のごとく, コレステロール-ジギトニド, 総脂酸の放射能を測定した。放射能は dpm/g 肝あるいは cpm/g 肝として表わした。

2) グルコース-1-¹⁴C よりグリコーゲンへのとりこみ

グルコース-1-¹⁴C (第 1 化学) を体重 100g 当り 1μCi 皮下注射, 1 時間後のとりこみをみた。30% KOH を遠沈管にとり¹²⁾ 沸騰水浴中に入れておき, 摘出した肝を直ちにその中へ入れ, 数十分加熱し完全に液化せしめ

た後, 水およびアルコール (3:4) を加え, 再び沸騰しなかったら水浴中から取り出し放置冷却し, 析出するグリコーゲンを遠沈し, さらに 95% アルコールにて 2 回洗ってから測定に供した。

放射能は gas flow counter で測定した比放射能で表わした。

3) プロリン-U-¹⁴C より蛋白へのとりこみ

プロリン-U-¹⁴C (第 1 化学) を体重 100g 当り 0.5μCi 皮下注射し, 4 時間後に肝を摘出し, 総蛋白, コラーゲン蛋白, 非コラーゲン蛋白へのとりこみを検討した。摘出した肝を 5% 三塩化酢酸 (以下 TCA と略す) でホモジナイズ後遠沈し, 次いでアルコールで 6 回洗いエチルエーテル-アルコール (3:1) を加えて温浸後遠沈を 2 回繰り返したものを総蛋白とした。これに 5% TCA を加え 90°C 30 分加温を 2 回行ないコラーゲン蛋白を抽出し¹³⁾, 熱 TCA 不溶部は N-NaOH および 3N-HCl で精製後, 95% アルコールで洗い非コラーゲン蛋白とした。

放射能は gas flow counter により測定し, 比放射能で表わした。

実験成績

1. 正常動物実験

1) 肝ホモジネートにおける酢酸-1-¹⁴C からのとりこみ

表 1 のごとく総コレステロールへのとりこみは 0.04 mg の添加においても抑制され 2, 5mg と濃度が高くなると著しく抑制された。

総脂酸へのとりこみは添加量が 5mg になると抑制され, 総蛋白へのとりこみは 2mg 以上になると抑制されてきた。

2) in vivo における酢酸-1-¹⁴C 又はメバロン酸-2-¹⁴C からのとりこみ。

表 1. 肝ホモジネートにおける酢酸-1-¹⁴C からのとりこみ (cpm/mg)

添加量 (mg)	総コレステロール	総脂酸	総蛋白
0	2150±175*	570±56	346±31
0.04	1420±150 P<0.05		302±24
0.5	1450±150 P<0.05	561±58	300±21
1.0	1320±160 P<0.02	465±43	274±18 0.05<P<0.1
2.0	1160±100 P<0.01	422±40 0.05<P<0.1	202±22 P<0.01
5.0	1100±120 P<0.01	360±25 P<0.02	165±17 P<0.01

* M±SE

表 2. 血液および各種臓器の総コレステロール値ならびに総脂酸値 (mg/g) 組織

群	例 数	血 液 (mg/dl)		肝		小 腸		腎	
		総コレステロール	総 脂 酸	総コレステロール	総 脂 酸	総コレステロール	総 脂 酸	総コレステロール	総 脂 酸
対 照	12	136±14*	403±36	4.09±0.16	39.8±2.4	3.03±0.09	38.1±2.6	5.2±0.26	34.4±2.7
投 与	12	141±15	431±38	4.06±0.20	41.4±3.9	3.22±0.13	34.1±1.5	4.9±0.19	43.0±3.0
P		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	P<0.05

* M±SE

表 3. 酢酸-1-¹⁴C より総コレステロールへのとりこみ (cpm/mg 組織)

群	例 数	肝	小 腸	腎	血 液
対 照	7	8.6±1.2	8.8±1.1	3.6±0.24	0.73±0.13
投 与	7	8.6±0.9	10.4±1.2	2.5±0.17	0.77±0.15
P		N.S.	N.S.	P<0.01	N.S.

* M±SE

表 4. メバロン酸-2-¹⁴C より総コレステロールへのとりこみ (cpm/mg 組織)

群	例 数	肝	小 腸	腎	血 液
対 照	6	8.1±2.0*	1.1±0.08	49.7±5.1	0.69±0.05
投 与	6	13.5±1.36	1.1±0.1	45.3±6.1	0.85±0.08
P		P<0.05	N.S.	N.S.	N.S.

* M±SE

表 5. 酢酸-1-¹⁴C より総脂酸へのとりこみ (cpm/mg 組織)

群	例 数	肝	小 腸	腎
対 照	7	29.8±5.7*	34.3±4.5	9.2±1.6
投 与	7	15.9±2.8	38.4±6.5	3.6±0.25
P		P<0.05	N.S.	P<0.01

* M±SE

表 6. コレステロール-4-¹⁴C の組織からの消失 (cpm/g 組織)

群	例 数	血 液	肝	腎	小 腸	残りの組織 (carcass)
対 照	10	167±18*	462±47.2	1240±159	507±69.7	8.60±1.29
投 与	10	228±22	787±81.2	1490±169	760±99.6	10.07±0.76
P		P<0.05	P<0.01	N.S.	N.S.	N.S.

* M±SE

表2～5に示す如く血液および各種臓器の総コレステロール値、総脂酸値は腎を除いて対照群と投与群の間に有意差がなく、腎の総脂酸のみが投与群において増加していた。

総コレステロールへのとりこみは、酢酸-1-¹⁴C から

では肝、小腸、血液において変化なく、腎で減少し、メバロン酸-2-¹⁴C からでは肝においては増加し、小腸、腎血液では変化がなかった。また、酢酸-1-¹⁴C より総脂酸へのとりこみは肝、腎では減少し、小腸では変化がなかった。

表 7. 小腸より吸収されたコレステロール-4-¹⁴C (cpm/mg コレステロール)

群	例数	肝	小腸	血液
対照	5	475.9±68.0*	237.7±65.9	1203.0
投与	5	313.1±59.7	214.7±35.4	640.7
P		N.S.	N.S.	

* M±SE

表 8. 24 時間に糞中に排泄されたコレステロール-4-¹⁴C に由来する物質の放射能

群	例数	総放射能 10 ⁻⁴ ×cpm	総中性ステロール 10 ⁻⁴ ×cpm	総胆汁酸 10 ⁻³ ×cpm	コレステロール 比放射能 10 ⁻³ ×cpm/mg	ステロール値 mg/24 hr.
対照	3	2.6±0.38*	1.84±0.22	2.17±0.12	2.15±0.14	7.41±0.77
投与	4	2.9±0.41	2.37±0.36	1.53±0.25	2.83±0.43	7.58±0.65
P		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

* M±ME

3) コレステロール-4-¹⁴C の組織からの消失

表 6 に示すごとく、H-100 投与群の血液および肝の放射能は対照群より大 ($P>0.05$ および $P<0.01$) で、その他の組織には差がなかった。

4) コレステロール-4-¹⁴C の小腸からの吸収と排泄

吸収されたコレステロール-4-¹⁴C については表 7 に示すごとく肝、腸における比放射能に変化はないが、血液中のコレステロールの比放射能は、対照群の約 $1/2$ の値を示した。また、投与後 24 時間に排泄された糞の成績は表 8 に示すごとく総放射能および中性ステロール分画、胆汁酸分画の放射能の値には変化がなく、中性ステロール分画中の総コレステロールの比放射能の値にも有意差はなかった。

総脂質へのとりこみに関しては総脂質の g 肝 当りの

2. 四塩化炭素肝障害動物実験

1) 酢酸-1-¹⁴C より脂質へのとりこみ 図 1. CCl₄ 投与肝の酢酸-1-¹⁴C より総脂質へのとりこみ 図 2. CCl₄ 投与肝の酢酸-1-¹⁴C より総コレステロールおよび総脂質へのとりこみ

dpm を縦軸に、週数を横軸にグラフを画くと図 1 のように 3 週から 8 週にかけてとりこみが増加し、11 週では減少し 16 週で再び増加したが、投与群と対照群との間に有意差はなかった。

図 3. CCl_4 投与肝のグルコース- $1\text{-}^{14}\text{C}$ より肝グリコーゲンへのとりこみ

総コレステロール, 総脂酸への g 肝当りのとりこみも図 2 のごとく 2 群の間に有意差はなかった。

2) グルコース- $1\text{-}^{14}\text{C}$ よりグリコーゲンへのとりこみ

図 3 のごとく週が進むにつれて双方ともに比放射能は低下してゆくが 2 群の間に有意差はなかった。

3) プロリン- $\text{U-}^{14}\text{C}$ より蛋白へのとりこみ

図 4 のごとく総蛋白, 非コラーゲン蛋白は 5 週目に比放射能が増加し, その後減少の傾向を示すが 2 群の間に有意差はなかった。また, コラーゲン蛋白についても 2 群間に変化は認められなかった。以上の実験成績の表は一括して表 9 に示す。

図 4. CCl_4 投与肝のプロリン- $\text{U-}^{14}\text{C}$ より蛋白へのとりこみ

表 9. CCl_4 障害動物肝への酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ より脂質, グルコース- $1\text{-}^{14}\text{C}$ よりグリコーゲン, プロリン- $\text{U-}^{14}\text{C}$ より蛋白へのとりこみ

		週数	3	5	8	11	16
対 照 投 与		総 脂 質	115.3±13.4*	—	232.0±24.5	25.1±1.67	79.4±2.72
		$10^{-3}\times\text{dpm/g 肝}$	104.3±14.8	—	227.0±47.7	18.9±3.35	63.4±4.15
対 照 投 与	酢 酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$	総コレステロール	52.2±5.88	33.3±6.54	84.2±14.33	85.8±9.08	66.5±3.10
		$10^{-2}\times\text{cpm/g 肝}$	70.9±22.2	79.8±20.55	47.1±19.5	100.8±19.4	74.2±10.02
対 照 投 与		総 脂 酸	35.1±7.25	14.7±3.94	52.4±1.17	33.6±3.66	18.5±2.11
		$10^{-3}\times\text{cpm/g 肝}$	31.1±5.89	26.1±1.56	60.0±16.25	35.3±8.68	15.2±4.25
対 照 投 与	グルコース- $1\text{-}^{14}\text{C}$	グリコーゲン	35.2±8.43	22.6±3.0	19.6±4.73	22.0±5.80	—
		cpm/mg	51.4±4.71	33.8±8.8	12.5±1.30	20.1±5.20	—
対 照 投 与		総 蛋 白	19.2±2.0	31.4±5.6	25.8±4.2	22.8±0.7	—
		cpm/mg	21.1±0.7	30.3±1.9	25.0±2.5	18.7±1.5	—
対 照 投 与	プロリン- $\text{U-}^{14}\text{C}$	非コラーゲン蛋白	20.5±2.6	33.9±6.9	24.4±2.5	21.3±0.6	—
		cpm/mg	21.5±1.5	29.9±2.3	26.1±2.3	23.7±1.7	—
対 照 投 与		コラーゲン蛋白	13.2±1.3	20.8±7.6	14.8±2.0	14.0±1.5	—
		cpm/mg	13.6±1.3	14.9±2.4	18.4±1.0	11.7±0.6	—

* $\text{M}\pm\text{SE}$

例数各 4

考 案

Lathyrogenic agent として一般に aminoacetonitrile^{4,6,14,17}, β -mercaptethylamine^{15,16}, β -aminopr-opionitrile¹⁶⁻¹⁸, 1-cyano methylamino-1-deoxy-*d*-gluco-franurono-3,6-lactone (AAN-glucuronide)⁴ 等が知られているが, Fiume^{5,6} は肝障害ラットに aminoacetonitrile を投与することにより肝の線維化が抑制され, 肝蛋白の生成は亢進することを報告し, 三辺⁴ らによるとaminoaceto-nitrile が線維化の抑制のみならず, CCl₄ 障害の肝細胞の空胞化, 脂肪化をも著明に抑制すると報告している。

中野¹⁰は CCl₄ 肝障害ラットに β -mercaptethylamine, aminoacetonitrile を投与すると肝内のアミノ酸活性化酵素値およびコハク酸脱水素酵素値が CCl₄ 単独投与の対照群より著明に高いという結果を得た。

このようにある種の lathyrogenic agent は実験的肝障害に対し, 好影響を与えるものと考えられているが, 本実験は aminoacetonitrile の誘導体 H-100 について行ったものである。

1. 正常動物について

コレステロール代謝に関して高コレステロール食家兎の高コレステロール血症に H-100 の投与は抑制的に作用するとの報告¹⁹があるが, 肝のコレステロール生合成についてみると H-100 は *in vitro* の酢酸-1-¹⁴Cからのとりこみには抑制的に働いているが, *in vivo* では酢酸-1-¹⁴Cからは変化なく, メバロン酸-2-¹⁴Cからでは促進的に作用していることから次のように考えることができる。すなわち *in vitro* で H-1009 酢酸→メバロン酸間では抑制的, メバロン酸→コレステロール間では促進的に作用し, 抑制のほうは律速段階となるので結果としては酢酸-1-¹⁴Cからのとりこみが減少し, また一方 *in vivo* では酢酸→メバロン酸間の抑制を除くという調節機構が働き, メバロン酸→コレステロール間には何らかの生体の調節が働かなければ実験成績の如く, 酢酸-1-¹⁴Cからのとりこみには変化がなく, メバロン酸-2-¹⁴Cからのとりこみが増加したという結果にはならないであろう。次に *in vivo* 腎コレステロールへのとりこみについては酢酸-1-¹⁴Cからは減少し, メバロン酸-2-¹⁴Cからでは変化がないことから, 酢酸からメバロン酸にすすむ過程に H-100 が抑制的に働いていると思われる。総脂酸へのとりこみに関しては肝ホモジネートおよび *in vivo* の肝, 腎ともに投与群の方が減少しているの で H-

100 は脂酸合成を抑制すると考えられる。かくのごとく腎の脂酸合成が減少しているにもかかわらず, 腎総脂酸値が対照群より高いことは, あるいは腎における脂酸代謝を低下せしめ脂酸の蓄積をもたらしたのかもしれない。以上の肝及び腎における変化は小腸あるいは血液にはみられなかった。

注射されたコレステロール-¹⁴C の組織からの消失に及ぼす H-100 の作用については, 投与群の肝および血中コレステロール-¹⁴C が対照群より多かったことから, その原因がコレステロールの再吸収の増加, 異化作用の減退, 移動の増加などのいずれによるかは不明である。

経口的に生体内にはいったコレステロールは, カイロミクロンとなって小腸リンパ管より胸管にはいり, 左骨下静脈中で血液と混和し, そこでエステル化され, α , β , リポ蛋白となり肝, その作の組織へ運ばれ, 肝ではコレステロールがコール酸およびヘノデオキシコール酸に酸化されて胆汁酸として小腸に排泄され, 小腸ではさらに腸内細菌によってデオキシコール酸およびリトコール酸にまで変化を受ける。

さて, 経口投与されたコレステロール-¹⁴C の 24 時間後の吸収と排泄の動向に対し H-100 がどのような影響を与えているかをみると, 肝, 小腸のコレステロールの比放射能, および糞に排泄された総放射能中性ステロール分画, 胆汁酸分画の放射能についても変化がないが, 血液コレステロールの比放射能が投与群では対照群の約 $1/2$ という結果となった。これを前述コレステロール-4-¹⁴Cの組織からの消失実験のコレステロール-4-¹⁴C注射投与の場合と比べると, 注射投与の場合には投与群のほうが血液, 肝のコレステロール比放射能が高いが, 経口投与の場合には糞への排泄量は肝の比放射能ともに変化がなく, 血液の比放射能が約 $1/2$ と少ない。したがって, 注射投与と経口投与では血液コレステロールの比放射能の値は逆である。経口投与の場合の血液コレステロールの比放射能の低下は, 肝および糞への排泄には変化のないことから腸からの吸収の阻害によるのか, または腸からの吸収が正常であっても体内分布が異なり, 他の組織に移動しているのかその機序は不明であるが, これはまた, 高コレステロール食家兎における高コレステロール血症抑制¹⁹の原因の一つとも考えられる。これは前者がコレステロール-4-¹⁴C および H-100 の注射, 後者は経口的に投与したという投与法の相違によるのかもしれない。また投与されたコレステロール-¹⁴C は約 1 週間位で体内で平衡状態に達するが²⁰, 24時間ではまだ平衡状態に

達してはいないから、このような状態の差違によるのかもしれない。

2. 四塩化炭素肝障害動物について

マウスに CCl_4 投与後の肝コレステロールへのとりこみは、酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からは抑制され、メバロン酸- $2\text{-}^{14}\text{C}$ からは変化がなく⁸⁾。また、 CCl_4 投与後3時間半のラット肝による灌流実験において総脂質およびリン脂質への酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からのとりこみが対照より増加したという報告がある²¹⁾。このように CCl_4 は脂質代謝に異常をもたらすが、本実験では CCl_4 障害時の肝脂質へのとりこみに及ぼす H-100 の作用は対照群と投与群との間に有意な差はみられず、 CCl_4 障害時の脂質代謝異常に H-100 はほとんど影響を与えないようである。

グルコース- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からグリコーゲンへのとりこみについてみると、過がすすむにつれて、グリコーゲンの比放射能が低下してゆくのが判る。

肝においてグルコースからグリコーゲンが生成するにはまずリン酸化されることが必要で、この反応には *glucokinase* と *hexokinase* が関与していることが知られている。 CCl_4 は肝グリコーゲンの減少をきたし^{1,2)}、武田²²⁾ はラットに四塩化炭素を投与すると肝の *glucokinase* 活性は低下し、*hexokinase* 活性は高まるといい、また *glucokinase* はグリコーゲン合成系に、より密接に関与し *hexokinase* は嫌氣的解糖系により密接に関与していると推定される²³⁾ことから、 CCl_4 投与により肝のグリコーゲン合成は低下することが予想されるが、本実験における上記の結果から、 CCl_4 によるグリコーゲン合成の低下に対して H-100 の併用が有意な変化を現わさず、この系にはあまり影響を及ぼさないようである。

さて、*lathrogenic agent* が線維化抑制剤として注目され、研究されてきたという経移からおしはかるに、その誘導体たる H-100 の蛋白代謝に及ぼす作用がいかなるものか興味ある問題であるが、本実験結果では効果的とはいえなかった。 CCl_4 の連続投与により肝硬変症を生じせしめることは古くから知られており²⁴⁾、また、 CCl_4 はグリニンからの肝蛋白の合成の低下をきたす。Huberman²⁵⁾ の最近の報告によれば CCl_4 を週3回、合計20回投与されたラット肝スライスのコラーゲン生成は正常肝の5~30倍多く、硬変肝の総ハイドロキシプロリン量も正常肝の4~8倍だったという。また、平山¹⁴⁾は CCl_4 投与3ヵ月の不可逆的肝硬変ラットの肝スライスでは、プロリン- ^{14}C からコラーゲン分画へのとりこみが著しく減少することから、硬変肝ではコラーゲン

代謝が低下するとしている。

一方、前述したごとく、*lathrogenic agent* については、 CCl_4 肝障害時の蛋白代謝面での改善作用が種々報告されているが、プロリン- ^{14}C からの蛋白へのとりこみについての本実験で、H-100 は総蛋白、コラーゲン蛋白、非コラーゲン蛋白生成に対して有意な変化をもたらさなかったことは CCl_4 による肝障害時の蛋白代謝には、あまり影響を及ぼさないものと思われる。

さて、本実験の結果は Huberman²⁵⁾、平山¹⁴⁾らの成績とは異なるが、彼らのはスライスについての成績であり、本実験は動物に放射性物質を注射後の肝へのとりこみである。したがって、*in vitro* と *in vivo* の実験結果が一致しないのは、本実験の場合にはプロリン- ^{14}C の代謝が生体の代謝系によって左右されていることを示すのかもしれない。なお、*in vitro* における正常肝ホモジネートによる酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からの総蛋白へのとりこみに抑制的に働いていることは注目される。

結 語

N-(N-P-Carboxyphenylglycyl)aminoacetoneitrile (H-100) の正常および CCl_4 肝障害マウスに及ぼす作用について次の結果を得た。

1) 正常マウスについて

(i) 肝ホモジネートに H-100 の添加は、酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からの総コレステロール、総脂酸、総蛋白へのとりこみを抑制した。

(ii) H-100 を 50mg/100g/日、21日間投与後、酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ 、メバロン酸- $2\text{-}^{14}\text{C}$ からのとりこみをみるに、肝コレステロール生合成は酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からは変化なかったが、メバロン酸- $2\text{-}^{14}\text{C}$ からは促進した。腎コレステロール生合成は酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ から抑制し、メバロン酸- $2\text{-}^{14}\text{C}$ からは変化なかった。肝、腎の総脂酸への酢酸- $1\text{-}^{14}\text{C}$ からのとりこみを抑制した。

(iii) コレステロール- $4\text{-}^{14}\text{C}$ を注射後、H-100 を 50mg/100g/日、28日間投与し組織からの消失を比較するに、投与群の血液、肝のコレステロールの放射能が、対照群より大であったが、腎、小腸、carcass には変化なかった。

(iv) コレステロール- $4\text{-}^{14}\text{C}$ の小腸からの吸収について、H-100 25mg の混液を胃ゾンデにて投与後、24時間後の糞、肝、小腸の比放射能には変化なかったが、血液コレステロールの比放射能は対照群の約 $1/2$ であった。

2) 四塩化炭素肝障害マウスについて

10% CCl₄-オリーブ油液を週2回, 1ml/100g 注射し, H-100 は 20mg/100g/日, 連日注射し, 3週, 5週, 8週, 11週および16週後の肝における酢酸-1-¹⁴C から総脂質, 総脂酸および総コレステロールへのとりこみ, グルコース-1-¹⁴C からグリコーゲン, プロリン-¹⁴C から総蛋白, コラーゲン蛋白非コラーゲン蛋白へのとりこみに関して, 対照群との間に有意差がなかった。

文献 1) 山形敬一ほか: 日内会雑誌 53: 755, 1964.
2) 三辺謙ほか: 糖尿病 9: 293, 1966. 3) Seakins, A., & Robinson, D. S.: Biochem. J. 86: 401, 1963.
4) 三辺謙ほか: 肝臓 9: 119, 1968. 5) Fiume, L. & Favilli, G.: Nature 189: 71, 1961.
6) Fiume, L.: Nature 201: 615, 1964. 7) Bucher, N. L. R. & McGarrah, K.: J. Biol. Chem. 222: 1, 1956. 8) 中村治雄: 日本生理誌 26: 445, 1964.
9) Zak, B.: J. Clin. Path. 27: 583, 1957. 10) Stern, T. & Shapiro, B.: J. Clin. Path. 6: 158, 1953.
11) Abell, L. L., Mosbach, E. H. & Kendall, F. E.:

J. Biol. Chem. 220: 527, 1956. 12) Good, C. A., Kramer, H. & Somogyi, M.: J. Biol. Chem. 100: 485, 1933. 13) Fitch, S. M., Harkness, M. L. R. & Harkness, R. D.: Nature 176: 163, 1955. 14) 平山千里ほか: 代謝 3: 44, 1966.
15) 伊藤憲一ほか: 臨床科学 3: 1607, 1967.
16) 中野博: 肝臓 9: 404, 1968. 17) 三辺謙, 亀谷麒与隆: 日消誌 63: 644, 1966. 18) Aleo, J. J.: Proc. Society Exp. Bio. Med. 130: 451, 1969. 19) 大本秀夫ほか: H-100 の前臨床薬理学的検討概説 (未発表)
20) Paoletti, R. & Kritchevsky, D.: Advanced in Lipid Reserch, Academic Press Inc. New York & London, Vol. 5. (1967) p. 209.
21) Heimberg, M. et al.: J. Biol. Chem. 237: 3623, 1962. 22) 武田和久: 綜合臨床 17: 1963, 1968. 23) 吉利和ほか: 肝臓 6: 54, 1964. 24) Cameron, G. R. & Karunoratne, W. A. E.: J. Path. Bact. 42: 1, 1936. 25) Huberman, A.: Proc. Society Exp. Bio. Med. 131: 200, 1969.

* * * * *

* * * * *