シンポジウム

第64回日本内科学会講演会（1967年）

シンポジウム 低蛋白血症*

北海道大学教授

司 会 高 杉 年 雄

(1) (招請) プラズマ蛋白のturnover

大阪大学蛋白質研究所

須田 正巳 石川 栄治 森村 弘子

大阪大学医学部 栄養学教室

田中 武彦

SYMPOSIUM ON HYPOPROTEINEMIA:

Moderator Toshio TAKASUGI M.D.

Professor of Hokkaido University

(1) TURNOVER OF PLASMA PROTEIN

M. SUDA, E. ISHIKAWA and H. MORIMURA

Division of Protein Metabolism, Institute for Protein Research,

Osaka University

T. TANAKA

Department of Physiological Chemistry and Nutrition,

Osaka University School of Medicine

1. 序 論

肝臓はプラズマ蛋白質の生産器官であつてアルブミン、およびフィブリノーゲンのすべてと、グロブリンの約80%は肝臓でつくられ、成人は1日約15gのプラズマ蛋白を合成する。プラズマ蛋白の機能について、作用ペプチド、リポド、ホルモン、あるいはビタミン等の輸送担体としての意義、滲透圧、pHの恒常性維持等かぎりがない重要性をもっていることは、周知の通りであるが、以下、わたくしどもの問題点としてとり上げる課題は、

蛋白代謝の面から見たプラズマ蛋白の代謝回転ということにしばつて、考えたい。なお、代謝回転というからには、合成と分解の機序が明らかでなければならぬが、この点は、未だ文献的にも、わたくしどもの実験でも残された分野があまりにも多いので、この点御了解を頂きたい。

2. 生体内蛋白代謝の指標としてのプラズマ蛋白質

この見解はすでに、1940年以前の頃からWhipple¹⁾らによつて示されていて、現在も変更を認める必要がないと思われる。彼らは、イヌに毎日2～4gの窒素に相当するプラズマ蛋白を静脈内或

* 本シンポジウムは1967年4月5日、名古屋市中区新栄町 中日劇場にて行なわれた。

いは腹腔内に注射し、一方経口的には無蛋白食餌を与えて、長期間体重減少することなく生存させる事が出来た。プラズマ除去 (plasmapheresis) によつて、肝臓が、良質蛋白食の場合速やかにプラズマ蛋白の回復をする中心器官であることも Whippleらの研究による。その後、彼らは、リジン- ϵ - ^{14}C でラベルしたイヌのプラズマを別のイヌに注射し、その消失速度、組織蛋白質中のアミノ酸のとり込みを見ている。per g. tissue protein当りでは、回腸、空腸、十二指腸の腸管組織が最高であることは、重要なことであり、つづいて肝臓、副腎、甲状腺が高く 脾臓、腎臓、膵臓、唾液腺、肺臓がこれにつぎ、低いのは筋肉組織であつた。他方、遊離アミノ酸を動物に注射した場合は、Bushら、或いはわたくしどもの成績でも、膵臓がもつとも高いとり込みを示していることから、腸管組織でのプラズマ蛋白の利用と（ここでは絶えず細胞レベルでの脱落と新生がある）、一方、最近問題になつている腸管での、アルブミンの生理的 releaseによる摂取蛋白質のアミノ酸レベルでの調節機序が考えられる。

Nasset²⁾らの研究によれば、摂取した蛋白 (^{14}C -カゼイン) は、endogenousな蛋白によつて比較的すみやかに稀釈され、イヌでは10時間後に6倍、白鼠では4時間以内に約7倍に稀釈されていたことが明らかにされている。空腹時においても腸管内の遊離アミノ酸は大体一定に保たれている。わたくしどもは、生物価の低い蛋白質(グルテン)を白鼠に与える際に、L アミノ酸のactive transportが高まることも報告しているが、この事実と、腸管からのアルブミンのreleaseについては、目下実験中である。

内科的には、下痢および腸内バクテリアの異常増殖等におけるreleaseしたプラズマの損失の問題は、重要であると考えられる。

3. プラズマ蛋白質のturnoverについて

門脈を介する肝臓-小腸管の問題はプラズマ蛋白のeconomyにかんする面であるが、一方、肝臓 $\longleftrightarrow$ 組織内の蛋白代謝面からするturnoverも重要

Table 1. プラズマ蛋白の半減期 (日数)

動物	プラズマ蛋白	γ グロブリン	アルブミン	フィブリノーゲン
ウシ	21.2 $\pm$ 1.7	—	—	—
成人	13.1 $\pm$ 2.8	17 $\sim$ 27	3.4 $\sim$ 4.2	—
イヌ	8.0 $\pm$ 1.1	—	—	—
サル	6.6 $\pm$ 1.6	—	—	—
家兎	5.7 $\pm$ 1.2	7 $\sim$ 8.5	2.3 $\sim$ 2.9	—
モルモット	5.4 $\pm$ 0.9	—	—	—
白鼠	—	3.1 $\sim$ 3.5	1.2	—
マウス	1.9	—	—	—

である。この研究法としては ^{131}I 、 ^{14}C アミノ酸、 ^{35}S メチオニン等によつてラベルされたアルブミン、 γ グロブリン、またはフィブリノーゲンを利用し、それぞれの抗体による分別によつて半減期を算出しているのが普通である。Table 1は各種動物についての値であるが、これ等の値は、必ずしも常に再現性があるとは言えない。ことに放射性アミノ酸でラベルしたプラズマを用いた場合、組織でアミノ酸に分解され再び肝臓で再利用されるために、半減期は見かけ上長くなる筈である。例えば ^{35}S メチオニンでラベルした場合、人間では37 $\sim$ 70日、 ^{131}I -プラズマでは11 $\sim$ 19日という報告もある。Table 1で γ グロブリンの半減期については、 ^{131}I を用い、抗原抗体反応により分析したDixon³⁾らの報告である。

彼らは、家兎にチロキシンを与えて、基礎代謝量を上昇させると、半減期が短縮し、プラズマ蛋白の代謝速度が2 $\sim$ 3倍上昇するという興味ある

Table 2. Rate of albumin synthesis in various mammals.

Species	Rate of Synthesis mg/hr/gm Liver
Human	0.17
Dog	0.72
Rat	0.47 $\sim$ 1.15
Mouse	4.67 $\sim$ 11.4

報告をしている。更にこの表で明らかな様に、動物が大きくなるに従って代謝速度は遅くなっている。動物のサイズが小さくなるに従って、基礎代謝は大きくなることはすでに生物学的法則として知られている。従って、基礎代謝量とプラズマ蛋白のturnoverとの関係は重要な事実である。代謝速度がこの様に上昇することは、肝臓におけるプラズマ蛋白の合成度の上昇がなければならない。何故ならば、プラズマ蛋白は、正常では、恒常的な濃度を維持しているからである。Table 2はこれ等の点で、利用出来るデータをまとめたものである。白鼠のものは、わたくしどもの研究室で肝臓環流法から得られたものである。ここで見られる様に、矢張り、動物のサイズが小さい程、8当り1時間のアルブミン合成は上昇している。

では、次にアルブミンに問題 をむけて、そのturnoverに対する因子は何かという点を、ホルモンの面から考えてみよう。人体および動物について、Rothschild⁴⁾、Grossman⁵⁾らは、albumin-¹³¹Iを利用して、分解速度を測定し、チロキシン、コルチゾンが、degradationを30~50%も高めているので、合成もそれに見合うものと考えている。一方白鼠の肝臓環流法によつて合成速度⁶⁾⁷⁾、肝細胞ミクロゾームでの時間的的形成過程⁸⁾等の報告はあるが、ホルモンの作用について未だ明確な論文はない。わたくしどもは、Millerらの肝臓環流法の不備な点を全く改良し、全血による白鼠肝臓の環流を行なつた⁹⁾。赤血球等は2% bovine albumin含有のRinger液にうつし、albuminの定量は、結晶化した白鼠 albuminの家兎血清抗体による定量沈降法によつて量的正確さを得る。なお bovine albuminは全然交叉沈降をしない。Fig. 1で示す様にalbumin形成はtriamcinolone (10mg/100ml)で著明に促進され、若し同時にinsulin(40 μ /100ml)を加えると、合成誘導は完全に消却されることが判つた。growth hormone (2 mg = 2 I.U./ 100mg)は別に影響がなかつた。形成度が最初30分前後速く、つづいてやや遅くなる様な2層性の変化である理由は、初期に肝臓から albumin

Fig. 1. Effect of hormones on the synthesis of rat serum albumin in the isolated perfused rat liver.

がreleaseされるからで、これに対しては、蛋白合成阻害剤であるpara-fluorophenylalanineで阻害がなく、第2層は完全に阻害されることから30分以後の増加はnet synthesisによるものと考えてよい。コルチゾンは、アルブミンの消費臓器(consumer)に対してはcatabolicに、そのproducerである肝臓

Table 3. 細胞蛋白質の radioactivity. cpm/10mg

反応時間	対照	パラ F フェニルアラニン添加	L-フェニルアラニン添加	DNP (10 ⁻⁴) 添加
0	35	—	—	—
3時間	146	70	88	92
	139	89	88	100

Medium 中のTCA-可溶部分の radioactivity, total cpm

反応時間	対照	パラ-F-フェニルアラニン添加	L-フェニルアラニン添加	DNP 添加
0	75	—	—	—
3時間	310	460	420	517
	310	410	517	510

注: TCA-可溶部の radioactivity の75%は L-フェニルアラニンで、残りは L-チロシンであった。

に対してはanabolicに作用して、turnoverを増大させていると考えられ、これに対するinsulinの相反作用は、糖尿病の場合など臨床面でも興味ある問題であろう

次に、albuminは、細胞レベルで、どの様にして、利用されるのであろうか。動物細胞としてsliceを使用することをさけ、 ^{14}C -L-フェニルアラニンでラベルした白鼠のプラズマに腹水肝癌細胞を浮遊させ、この問題を検討した。表2で示す様に、拮抗アミノ酸で蛋白質中へのとり込みが阻害され、またL-フェニルアラニン(濃度はプラズマ蛋白中のその約15倍量)で希釈され、DNPでも阻害されている。以上は、プラズマ蛋白から細胞蛋白へくり込まれる中間で遊離アミノ酸の段階を経ることを物語っているが、拮抗アミノ酸、或いはアミノ酸による希釈が50%前後であるのは、プラズマ蛋白のある種のfragmentがそのまま利用される可能性もありうる。阻害剤を加えた場合、細胞外へ遊離アミノ酸の形で放出される量が増加している。これは、アミノ酸の細胞内プールのサイズを越えた場合に起こる現象である。細胞内遊離アミノ酸は、プラズマ蛋白と接触させた場合、意外に少なく、細胞に、遊離アミノ酸を加えてincubateした折は、非常に細胞内アミノ濃度が高いことを考えると、プラズマ蛋白の利用は、遊離アミノ酸に比して効果がよいのではないかと考えられる。

4. 担癌動物におけるプラズマ蛋白合成

すでに発表した様に、Bush, Greene¹⁰⁾の成績とほぼ一致してわたくしども¹¹⁾、癌組織が、プラズマ蛋白を優先的に利用することを確認しているが、Fig. 2に総括した様に、担癌動物の肝臓では、プラズマ蛋白の合成が高まり、筋肉蛋白の合成が低下していることがわかる¹²⁾ 担癌状態ではプラズマ蛋白合成度の上昇は、plasmapheresis(血漿除去法)によつて強制的にプラズマを除去した場合と同じ位であり、一方筋肉蛋白の合成度は、正常白鼠を無蛋白食で7日間飼育した場合に近い。注目すべき点はplasmapheresisの場合、筋肉蛋白の合成度は阻害されていない点である。宿

Fig. 2. 各種の条件下における蛋白合成の比較。動物はすべて、体重 170~190 g のドンリユー系雄白鼠。担癌白鼠 腹水肝癌 AH-130 を皮下に移植、7 日後に実験。無蛋白食飼育白鼠：無蛋白食で 7 日間飼育。plasmapheresis：エーテル麻酔下に、2.8 ml の血液をソケイ部静脈より採取、赤血球を生理食塩水で洗浄して、再び静脈内に返す操作を毎日 1 回、4 日間行なった。上記、各種条件下の白鼠腹腔内に $20\mu\text{C}$ の ^{35}S -DL-メチオニンを注射、4 時間後における蛋白の放射活性を測定、血漿蛋白放射活性の肝蛋白放射活性に対する比および筋肉蛋白放射活性の肝蛋白放射活性に対する比をそれぞれ計算した。

Fig. 3. 正常および担癌ラットの血しょう蛋白代謝回転の比較

主生体は、体蛋白の大部分をしめる筋肉ミオシンの合成を低下させ、プラズマ蛋白の合成を上昇させて癌組織の増殖を支持する方向へ、その代謝パターンを傾斜させている。結果として宿主側は、いわば内因性の蛋白欠乏症(internal protein deficiency)になっている。それでは担癌生体では、プラズマ蛋白の代謝回転が亢進しているかという

とBabsonら¹³⁾の報告に反して担癌の中期にはやや亢進するが、後期にはむしろ低下している¹²⁾ Fig. 3 がそれであるが、14日目頃には、筋肉ミオシンの代謝回転も抑制されているので、肝臓ではプラズマ蛋白の合成の間に、アミノ酸の再利用が盛んになっているのではないかと考えている。

5. 要 約

Plasma蛋白のturnoverは、動物での蛋白代謝の指標である。その速度が恒常的であるのは、肝臓での合成度と末梢器官の利用度がホルモンにより調節されているからである。

担癌生体では、肝機能の脱分化のためにおそらくホルモンの調節外にある為、異常な合成が起こると推察される。

しかしなお、そのturnoverの機序にかんして、hepatointestinal economyの問題も含めて、解明すべき課題が多いのがたのしみである。

終りに、わたくしどもの未熟な考察を、シンポジウムに加えて頂いた高杉教授および第64回日本内科学会々頭青山進午教授に感謝致します

文 献

- 1) G.H. Whipple, The dynamic equilibrium of body proteins. Springfield III. 1956. — 2) E. S. Nasset, Ju, J.S.: J. Nutrition, 74 : 461, 1961. — 3) F.J. Dixon, Talmage, D.W., Mauer, P.H. & Deichmiller, M.: J. Expel. Med., 96 : 313, 1952. — 4) M.A. Rothschild, et al.: J. clin. Invest., 36 : 422, 1957. *ibid.*, 37 : 1229, 1958. *ibid.*, 40 : 545, 1961. — 5) J. Grossman, Yalow, A.A. & Weston, R.E.: Metabolism, 9 : 528, 1960. — 6) A.H. Gordon, & Humphrey, J.H.: Biochem. J., 75 : 240, 1960. — 7) John, D.W. & Miller, L.L.: J. biol. Chem., 241 : 4817, 1966. — 8) Peters, T. Jr.: J. biol. Chem., 237 : 1186, 1962. — 9) 田中武彦, 黒田剛生, 森村弘子, 原納優, 陶文暁, 須田正巳: 医化学シンポジウム. 第6集, 31頁, 1966. — 10) Bush, H., Simbois, S., Anderson, D. & Greene, H.S.: Yale J. biol. Med., 29 : 105, 1956. — 11) Ishikawa, E. & Suda, M.: Gann., 53 : 81, 1963. — 12) Ishikawa, E., Mise, T. & Suda, M.: Gann., 56 : 543, 1965, 須田正巳, 石川栄治: 腫瘍化学 321頁「癌細胞の栄養摂取」朝倉書店, 1965年. — 13) Babson, A.L.: Biochim. Biophys. Acta, 20 : 418, 1956.