— 原 著 —

シスチン尿症におけるアミノ酸再吸収
—酸性アミノ酸およびアミノ酸酸アミド
特にグルタミン負荷の影響—

琉球大学保健学部臨床病理

宮城 研[◇]

琉球大学保健学部生化学

中田 福市

AMINO ACID REABSORPTION IN CYSTINURIA
—THE EFFECTS OF MONOAMINODICARBOXYLIC ACIDS AND AMIDO GROUP
AMINO ACIDS WITH SPECIAL REFERENCE TO GLUTAMINE—

Ken MIYAGI, MD

Clinical Pathology, College of Health Sciences, University of the Ryukyus, Naha, Okinawa

Fukuichi NAKADA, MD

Department of Biochemistry, College of Health Sciences, University of the Ryukyus, Naha, Okinawa

概要 シスチン尿症および正常者にグルタミン酸 (Glu), アスパラギン酸 (Asp), グルタミン (Glu-NH₂), アスパラギン (Asp-NH₂) の 1 g/100ml 溶液を毎分 10ml 10 分間負荷し, 負荷前, 1 時間, 2 時間後のアミノ酸 (AA) 再吸収率に及ぼす影響を検討した。Glu-NH₂ は連続負荷も行なつた。正常者においては, 上記いずれの AA 負荷でも AA 再吸収率に変化はなかつた。これは負荷量が少ないためと考えられた。しかし同様に少ない負荷量でシスチン尿症においては, 酸性 AA の再吸収率は Asp と Glu の負荷により阻害された。Glu-NH₂ と Asp-NH₂ の負荷では影響がなかつた。塩基性 AA の再吸収率は, Glu と Asp-NH₂ の負荷により強く阻害され, Asp 負荷は Cys のみわずかに阻害した。特に Glu 負荷は Asp の, Glu と Asp-NH₂ は塩基性 AA の再吸収率を下げた。他方 Glu-NH₂ 負荷は Lys, Arg の再吸収率をわずかに改善し, Cys の再吸収率を著しく改善した。これらの結果より, シスチン尿症においては塩基性 AA と同様酸性 AA の再吸収機構も正常者に比しその許容量が小さい可能性, 負荷 AA によつては一部 AA の分泌も起こる可能性, 酸性 AA の再吸収機構には γ -COOH が必須である可能性等が推定された。また Glu-NH₂ が Cys の再吸収率を改善する機序について, AA の極性と尿管上皮細胞膜蛋白質の極性基との相互作用の面からアンモニアの関与につき考察し, Glu-NH₂ のシスチン尿症治療への応用の可能性について考察した。

緒 言

腎尿細管におけるアミノ酸 (AA) 再吸収には,

high-affinity & low-capacity system と low-affinity & high-capacity system との存在が推定されている¹⁾²⁾。前者は再吸収許容量は小さいが基質 AA に特異的な再吸収機構で, 拮抗阻害が認められな

〔昭和53年2月15日受稿〕

い。後者は再吸収許容量が大きい反面、同一グループ内のAA相互間で、再吸収に際し拮抗阻害作用が認められている。この機構で再吸収されるAAグループには、塩基性AA、中性AA、酸性AAおよびイミノ酸などが考えられている。更には、グループ相互間でも、再吸収に際し影響を及ぼすことが知られている。

シスチン尿症は、先天性異常によりシスチン(Cys)が尿中に大量に排泄され、これが尿に難溶なため析出し、頻回の結石形成を認める。尿中には、Cysの他にリジン(Lys)、アルギニン(Arg)およびオルニチン(Orn)等の塩基性AAの排泄増加も認められること、正常ヒトにLysを負荷すると、他の塩基性AAの尿中排泄が増加する、すなわち拮抗阻害が認められる³⁾ことなどから、シスチンと塩基性AAは共通の再吸収機構で吸収されるのであり、シスチン尿症は、このCysおよび塩基性AAに共通した再吸収機構の先天性異常によるものと考えられていた³⁾⁻⁵⁾。

しかしながら、シスチン尿症におけるCysおよび他の塩基性AAのクリアランスを検討した結果では⁶⁾⁷⁾、Cysのクリアランスは糸球体濾過値より明らかに大きい、すなわちCysの尿細管からの分泌が示唆されるのに対し、他の塩基性AAは小さいすなわち再吸収が認められる。更に、他の塩基性AAの排泄増加を伴わないCysの単独増加を認めるシスチン尿症の一家系が見出されていること⁸⁾、Lysの単独増加をきたす症例も見出されていること⁹⁾などから、最近ではCysと塩基性AAとは別の機構で再吸収されると考えられている。

酸性AAであるグルタミン酸(Glu)とアスパラギン酸(Asp)とは共通の再吸収機構を有し、再吸収に際し相互に拮抗することが、イヌおよびラットに対する負荷実験で認められている⁵⁾¹⁰⁾¹¹⁾。しかし、シスチン尿症における酸性AA負荷の影響およびアミノ酸・酸アミド負荷の影響に関する記載は乏しい。

今回我々は、シスチン尿症に対しAspおよびGluを負荷した場合のAA再吸収特に塩基性AAおよび

酸性AAに及ぼす影響と、酸性AAの γ -カルボキシル基をアミド基-CONH₂に置換したアスパラギン(Asp-NH₂)とグルタミン(Glu-NH₂)をそれぞれ負荷した場合のAA再吸収に及ぼす影響とを、正常ヒトを対照として比較検討した。

その結果、 γ -カルボキシル基をアミド基に置換することにより、与える影響が大きく変化すること、正常例とシスチン尿症例とは影響が大きく異なることが明らかとなつたので報告する。

実験方法および対象症例

1) AA負荷および再吸収率の測定

1回静注負荷の場合は、早期空腹の状態において300ml飲水させ、1時間後に完全排尿させた。排尿後ただちに計時し、正確に1時間後に完全排尿し負荷前1時間尿とした。その中間の30分時に採血し、負荷前血清とした。負荷前排尿直後より、負荷目的のAA溶液(1g/100ml)を正確に10分間で静脈内注射した。負荷開始時から正確に1時間および2時間後に排尿し、それぞれ負荷後1時間尿および2時間尿とした。またそれぞれの1時間の中間時に採血し、負荷1時間および2時間後血清とした。

Glu-NH₂連続負荷の場合には、Glu-NH₂溶解に用いた液を毎時350mlで60分間点滴静注してコントロール期間とし、1回静注負荷と同一濃度のGlu-NH₂溶液に切換え、さらに60分間点滴静注して負荷期間とし、次いで全て点滴静注を中止して別のコントロール期間とした。それぞれの1時間尿の排尿と、その中間の採血は前述の通り行なつた。たゞし負荷期間および全ての点滴中止後の期間は30分毎に排尿し、尿pH測定後一緒にした。

1回静注負荷によつて得た血清と尿のクレアチニン濃度は、Folin-Wu法で測定した¹²⁾。AA濃度は、Spackmanらの方法¹³⁾で自動分析機を用いて行なつた。AAの再吸収率は、著者らの既報の方法で行なつた。すなわち尿中および血中クレアチニン濃度、尿量ならびに体表面積よりクレアチンクリアランス値を求め、これを糸球体濾過値とした。更に血清中AA濃度と糸球体濾過値より糸

球体からの1時間AA濾過量を求め、これから1時間に尿中に排泄されたAA量を差し引き、その値を糸球体からの1時間AA濾過量で除し、再吸収率として%で表わした。したがって、糸球体からの濾過量よりも尿中排泄量の方が多い場合は、負の再吸収率を示す結果となり、尿細管からの分泌を示唆する⁷⁾。

2) 試料および試薬

負荷に用いたAAは全てL型結晶形で、Asp, Glu, Asp-NH₂およびGlu-NH₂の4種である。これらのAA各1gを5%ブドウ糖加リンゲル液(ソリタT3号液)に溶解し、ミリポアフィルター(孔径450mμ)を用いて滅菌濾過したものを使用した。

AA測定用の尿および血清試料は、採取後ただちに、もしくは-20℃で凍結保存後3日以内に測定に供した。

3) 症例

対象症例は実験当時70才の男性。尿中Cys量、Cys経口負荷試験並びに異型接合体の尿中AA排泄パターンより、Ⅱ型シスチン尿症と推定された症例である⁷⁾。

対照は、自他覚的に異常を認めない41才の男性を用いた。全ての負荷実験は、初めは対照について行ない、特に副作用が無い事を確認した後に患者に施行した。患者には十分に負荷実験目的について説明し、了解を得た後に行なった。

結 果

I. 正常対照例のAA再吸収率に及ぼすAsp,

Glu, Asp-NH₂およびGlu-NH₂負荷の影響

正常対照例にAsp, Glu, Asp-NH₂およびGlu-NH₂のいずれを負荷した場合でも、図1に示したように、各AAとも負荷前後の再吸収率は、ほぼ100%であり、上記AA負荷による影響は認められなかった。

1回静注負荷の方法では、1g/100mlのAA溶液を毎分10ml、10分間経静脈負荷しているのに対し、尿中AA濃度は1時間のブール尿で測定した。したがって極くわずかな尿中排泄増減や、大きな変化でも短時間の変化であれば、その後の50

図1. 正常者のアミノ酸再吸収率に及ぼすグルタミン酸およびグルタミン負荷の影響。アスパラギン酸およびアスパラギンの負荷も同様に正常者に対しては影響がなかった。

分間の結果に希釈されて変化が現われて来ない可能性が考えられる。特に血清中AA濃度は、負荷終了20分間経過後に採血測定しているため、負荷中には増加していたAAも、その後の20分間で正常に復し、測定時には正常AA濃度になっている可能性もある。しかし、1回静注負荷の場合のみでなく、後述するように連続負荷の場合においても、本稿で用いた負荷量では、負荷前後の血清中AA濃度に変化がなかった。したがって採血時期の問題は、あまり影響がなく、むしろ負荷量の少なさによるものと考えられる。

その反面、尿中へのAA排泄増加が著明な場合は、1時間尿中に蓄積されるのに対し、血清中AA濃度は負荷前後で変化が無いため、再吸収率を悪化させる効果は増強されて現われる利点がある。

II. シスチン尿症のAA再吸収率に及ぼす酸性AA負荷の影響

1) Glu負荷の影響

シスチン尿症にGluを負荷した場合、図2に示したように、Aspの再吸収率は、負荷2時間後に-60%と負の値を示すほどに強く阻害された。酸

図2. シスチン尿症の amino 酸再吸収率に及ぼすグルタミン酸負荷の影響. 図示されていない他の amino 酸, すなわちスレオニン, セリン, グリシン, アラニン, パリン, メチオニン, イソロイシン, ロイシン, タイロシン, フェニルアラニンに変化はなかった.

性AAのGluとAspは共通の再吸収機構を有し, 再吸収に際し相互に拮抗阻害が起こることが認められているが^{4) 10) 11)}, 本症例でもこれが認められた. ここで興味深い事は, 正常者においては, 本稿の負荷条件および再吸収率測定法で変化が認められなかった(図1)のに対し, 同一条件および方法で, シスチン尿症においては阻害作用が顕著に認められた(図2)ことである. この事は, 本症例では酸性AAの再吸収機構も, 何らかの理由でその許容量が小さくなっている結果と解釈される. 又, 負の再吸収率を示したという事は, 糸球体から濾過されたAA量よりも尿中排泄量の方が多い事を意味し, AAが尿細管から分泌された事を強く示唆する⁷⁾.

シスチン尿症においては, Glu負荷は塩基性AA

の再吸収率に対しても顕著な影響があり, これらの再吸収率を負の値を示すほどに強く阻害した. これが再吸収率の悪化を意味するばかりでなく, 尿細管からの分泌の可能性を強く示唆することは上述のとおりである. 図2に示したように, Lysは負荷前の+60%から負荷1時間後には-135%に, Hisは+92%から-38%に, Argは+88%から-70%に, Cysも-72%から-686%にと, おおの強く再吸収率が阻害された. LysとHisの回復は早く, 負荷2時間目にはそれぞれ+37%と+38%に復したが, ArgとCysの回復は遅く, 2時間後もなおそれぞれ-60%および-376%と強く阻害されていた.

Glu負荷により塩基性AAの再吸収率が負の値を示すほどに阻害されたのは, 表1に示したように, 尿中排泄量が極端に増加したことによる. 血清AAには, 負荷前後の濃度変化が認められなかった. したがって, 糸球体濾過値より計算したAA濾過量は, 負荷前後で大きな変動が無い反面, 尿中AA排泄量は著しく増加した結果, 負の値を示すほどに濾過量と排泄量との差が大きくなったものとも考えられ, また, Glu負荷によりこれらのAAが腎尿細管から分泌された結果とも解釈される.

ただし, Cysの再吸収率は, Glu負荷以前から負の値を示していた. この場合は, 血清中AA濃度変化の因子を考慮に入れる必要は無く, Cysの再吸収率が負の値を示す事がシスチン尿症の基本的異常であり, Cysの尿細管からの分泌を示唆する事は既に報告し⁷⁾, それ以前にCrawhallら⁶⁾も同様の結果を報告している.

表1. シスチン尿症における amino 酸負荷前後の尿中 amino 酸排泄量

	Aspartic Acid			Asparagine			Glutamic Acid			Glutamine		
	(0)	(1)	(2)	(0)	(1)	(2)	(0)	(1)	(2)	(0)	(1)	(2)
Lys	486.1	505.5	494.4	604.1	712.2	585.1	579.9	3234.9	836.5	562.6	540.9	461.0
His	88.0	97.7	87.2	88.0	93.9	60.1	43.8	939.5	170.0	222.2	168.1	126.9
Arg	122.7	120.1	112.6	46.6	201.8	132.3	70.4	852.1	901.0	111.9	113.7	85.2
Cys	142.6	165.7	146.1	206.6	248.3	215.2	214.1	808.7	405.6	202.8	149.8	114.4
Asp	0.9	54.1	2.1	0.9	54.1	2.1	0.9	1.1	244.5	0.8	0.7	0.9
Glu	0.5	92.0	5.0	1.0	2.2	1.6	3.7	23.5	8.9	1.4	0	0
Urine (ml/hr)	360	125	103	50	113	52	85	322	118	92	265	175

図3. シスチン尿症のアミノ酸再吸収率に及ぼすアスパラギン酸負荷の影響

2) Asp負荷の影響

正常者にAspを負荷しても何ら変化が無かつたが、シスチン尿症に負荷した場合は、図3に示したように、Gluの再吸収率は負荷1時間後に86%に減少し、2時間後には負荷前値に復した。Aspの再吸収率も、64%に減少後回復した。このAsp負荷実験結果も、Glu負荷の結果と同様、シスチン尿症においては、酸性AAの共通再吸収機構の許容量が、正常者より小さい事を示唆している。

Asp負荷による拮抗阻害作用は、Gluの2時間目に対し、負荷1時間後とその発現は早く、阻害の程度はGluに比し弱かつた。これらの事は表1の結果でも明らかで、Asp負荷により尿中Glu排泄量は負荷前の $0.5\mu\text{mol/h}$ から、負荷1時間後に $92.0\mu\text{mol/h}$ に増加した。逆にGlu負荷により、Aspの尿中排泄量は負荷前の $0.9\mu\text{mol/h}$ から負荷1時間後の $1.1\mu\text{mol/h}$ と変らず、2時間後には $244.5\mu\text{mol/h}$ と著しく増加した。

塩基性AAの再吸収に対しては、Asp負荷の影響は認められなかつた。Cysの再吸収率は、負荷前の-76%から負荷1時間後に-96%とわずかに悪化した。この事は、表1からもうかがえる。

III. シスチン尿症のAA再吸収率に及ぼすアミノ酸アミド負荷の影響

図4. シスチン尿症のアミノ酸再吸収率に及ぼすアスパラギン酸負荷の影響

1) Asp-NH₂負荷の影響

Aspの $\gamma\text{-COOH}$ 基をアミド基-CONH₂に置換したAsp-NH₂の負荷は、Asp負荷の場合と同様、正常者におけるAA再吸収率に対しては、著明な変化を与えなかつた。しかしシスチン尿症においては、図4に示したように、そのAA再吸収率に対してAsp負荷とは全く異なる作用を示した。

酸性AAに対する拮抗阻害作用は、 $\gamma\text{-カルボキシル基}$ を他に置換することにより消失し、GluおよびAspの再吸収には全く影響を及ぼさなかつた。酸性AAの共通再吸収機構には、 $\gamma\text{-COOH}$ 基を有することが構造上必要なのであろう¹⁴⁾。

塩基性AAの再吸収率は、Asp-NH₂負荷により全て阻害された。Hisは負荷前の+78%から+68%へと阻害の影響は小さく、又、2時間後には負荷前値に復し、作用時間も短かつた。しかしLys, ArgおよびCysの再吸収率に対する阻害作用は大きく、Lysは負荷前の+56%から負荷1時間後は-380%に、Argは+76%から-36%にと、強い阻害作用が認められた。しかも負荷2時間後もなお阻害されており、それぞれ+26%および+32%と負荷前の半分以上迄しか回復しなかつた。Cysの再吸収率は、特に顕著な障害を受けた。

負荷後これらのAAの再吸収率が負の値を示し

図5. シスチン尿症のアミノ酸再吸収率に及ぼすグルタミン負荷の影響

たのは、前述のように尿過量と排泄量との差が実際より大きく計算されたためか、尿細管からの分泌が行なわれたためと考えられる。

2) Glu-NH₂負荷の影響

図5に示したように、Glu-NH₂負荷も酸性AAの再吸収には、 γ -COOH基が必須な側鎖であるとの上記結果を裏付ける。

著者らの予想に最も反した結果を示したのは、塩基性AAおよびCysの再吸収率に対する作用である。Lysは負荷前の56%から負荷1時間後に65%へ、Argは69%から74%へと、それぞれわずかに改善され、負荷2時間後には負荷前の値に戻った。著しい改善を示したのはCysの再吸収率で、

負荷前に-325%であった再吸収率が、負荷1時間後には-108%、2時間後に-38%と改善した。

これら塩基性AA再吸収率の改善は、表1から明らかなように、主として負荷後尿中に排泄されたAA量が減少したことによる。Glu-NH₂負荷により尿中Cys排泄量は、負荷前の202 μ mol/hから負荷1時間後および2時間後には、それぞれ150および114 μ mol/hへと減少した。しかし血清中Cys濃度には、ほぼ変化は認められなかった。

また、Cysの尿中排泄量の増減は、必ずしも尿量の増減の結果によるものではない事も明らかである。例えば、表1のGlu-NH₂負荷の欄で、負荷前の尿量92ml/hが負荷1時間後に265ml/hに著しく増加したにもかかわらず、Cysの排泄量は、203 μ mol/hから150 μ mol/hに減少している。同様なAA排泄量と尿量との不一致は、Lys、HisおよびArgなど他の塩基性AAでも認められた。

Glu-NH₂負荷によるCys再吸収率の改善は、尿量の変化や血中Cys濃度の変化の結果ではなく、負荷したAAもしくはその代謝産物が、尿細管に作用を及ぼし、Cysの尿細管からの分泌が抑制された結果であろうと考えられる。

IV. シスチン尿症の尿中AA排泄量に及ぼすGlu-NH₂連続負荷の影響

Glu-NH₂連続負荷による尿中Cys、塩基性AAおよび酸性AAの排泄量、並びにこれらのAAの血清中濃度などの変化は、表2のようであった。

表2. グルタミン連続負荷の尿中アミノ酸排泄量、血中アミノ酸濃度に及ぼす影響

	Urinary AA Excretion (μ mol/hour)						Serum AA Concentration (μ mol/100ml)					
	Cystinuria			Normal			Cystinuria			Normal		
	(0)	(1)	(2)	(0)	(1)	(2)	(0)	(1)	(2)	(0)	(1)	(2)
Cystine	146.6	89.3	112.3	0.5	0.5	0.5	1.3	1.4	1.3	1.2	1.3	1.3
Lysine	1082.0	396.4	613.8	2.7	1.9	0.7	24.2	24.1	22.0	26.2	30.9	19.8
Histidine	71.0	36.0	41.2	22.0	21.7	21.7	8.5	8.8	9.5	11.4	7.9	5.9
Arginine	141.4	88.2	106.8	0.2	0.1	0.1	8.3	9.6	10.9	4.0	3.2	5.6
Aspartate	trace	trace	0.9	4.6	4.0	4.3	4.3	5.2	3.1	7.5	4.5	4.1
Glutamate	3.4	1.1	3.8	0.6	0.6	0.7	19.2	20.6	17.4	12.8	10.7	10.1
Urine (ml/hour)	185	380	189	52	364	195						
Urine pH	7.00	7.08	7.31	6.17	6.70	7.38						

正常例においては、 Glu-NH_2 連続負荷を行なつても、尿中AA排泄量に変化は認められなかつた。また血清中AA濃度も負荷前後でほぼ変化がなかつた。1回静注負荷に用いたのと同一濃度のAA溶液を連続負荷しているのであるが、350ml/60分と比較的ゆるやかな速度で連続負荷しているためであろう。

シスチン尿症においても、血清中AA濃度には、ほぼ変化がなかつた。しかし、Cysおよび塩基性AAの尿中排泄量は、負荷期間は明らかに減少し、点滴静注中止により再び増加した。Cysおよび塩基性AAの尿中排泄量が減少したのは、連続負荷の場合も1回静注負荷と同様に尿量とは無関係で、尿量は逆に増加していた。この事は、 Glu-NH_2 負荷によるCys再吸収の促進もしくは分泌の抑制の結果であろう。

又、尿のpHは Glu-NH_2 負荷により上昇し、負荷中止後もさらに上昇した。これはおそらく、 Glu-NH_2 の加水分解により生じたアンモニアによるものであろうと推定される。

考 案

シスチン尿症におけるAA再吸収の特殊性は、Cysおよび塩基性AAの再吸収が阻害されていることであり、塩基性AA負荷の影響は種々調べられている⁵⁾¹⁰⁾¹⁵⁾。本稿の目的は、このシスチン尿症に酸性AAを負荷した場合、また酸性AAの $\gamma\text{-COOH}$ 基を -CONH_2 基に置換して負荷した場合に、正常と同様の影響があるのか否かを調べる事にあつた。

正常対照者にこれらAAを負荷しても、AAの再吸収率が変化しなかつた(図1)理由について、まず負荷量の少なさが考えられよう。Webberによれば¹⁴⁾、イヌにおけるL-GluのTmは約100 $\mu\text{mol/min}$ であるが、著者らは0.68 $\mu\text{mol/min}$ 弱で静注しており、全循環血量を540mlとして1.3 $\mu\text{mol/min}$ 弱で腎動脈に負荷したことになる。Stalderら¹⁶⁾のヒトにおける $\alpha\text{-aminonitrogen}$ 再吸収実験結果と比較しても、本実験に用いた量は明らかに少ない。シスチン尿症に負荷した場合には、このよう

な少量で影響が出た事については後に述べる。

AA負荷後の血清中AA濃度については、著者らが採血した以前に最高値に達した後に、採血時には正常値に復していた可能性も否定出来ない。著者らのイヌの血漿とL型結晶AA混液の交換実験において¹⁷⁾、輸注前後の血中遊離AA量を測定した結果、個々のAAの消長に差異はあるが、ほとんどのAAは注射後5分で最高値に達し、30分ではほぼ注射前値に復した。しかしながら、本稿で用いた方法では、1回静注負荷だけでなく連続負荷によつても血清中AAに変化がなかつたことから、採血時期の問題よりも、むしろ投与量の少なさが主な原因であろう。前述のイヌを用いた実験においては0.7g/kgのAAを負荷したが、本稿の実験では0.018g/kgで、投与量の少なさは明らかであろう。

酸性AAに属するAspとGluは、再吸収に際し相互に拮抗阻害が認められているが⁴⁾¹⁰⁾¹¹⁾、これはこの2個のAAが同一の再吸収機構により再吸収されるためと考えられており、この機構による吸収許容量は、low-affinity & high-capacity system に比し小さいとされている。今回の実験では、正常ヒトに酸性AAを負荷した場合、阻害作用は全く認められなかつた。この事は、本稿で用いた負荷量では、拮抗阻害を起こすに充分でなかつた事を意味する。しかし同一条件でシスチン尿症においては、酸性AA相互で再吸収を阻害した(図2および3)。特にGlu負荷の場合には、相対するAAであるAspの再吸収率は極めて強く阻害された。この事実は、シスチン尿症においては、塩基性AAのみならず酸性AAの再吸収機構も、その許容量が小さくなっている可能性を強く示唆する。

Grayら¹⁸⁾は、ヒト腸管からの各種AAの吸収速度を報告している。この結果を考察すると、non-polar residue groups AAは吸収され易いが、polar residue groups AAは吸収され難い。AAの腸管吸収機構と腎再吸収機構は平行する¹⁹⁾と仮定して、シスチン尿症におけるAA再吸収率にあてはめて考えると、再吸収率の悪いCys, Lys, Argおよび

Hisは、いずれもpolar residue groups AAに属し、Grayらの結果と矛盾しない。

このことは、腎尿細管上皮細胞膜蛋白質の極性基とAA残基の極性との間に相互作用があり、再吸収に際し選択されるため、吸収速度が遅れるものと思われる。このことから、シスチン尿症においては、腎再吸収能の閾値が上昇したため、吸収率の悪いAAが完全に再吸収されず、尿中に排泄される事も考えられる。正常には影響しない量のAA負荷で、シスチン尿症においては酸性AA、塩基性AAともに再吸収率が阻害された事実は（図2, 3, 4）、上記の仮説を支持する。

一方、腎の酸中和機能としてアンモニアの生成は重要であるが、Glu-NH₂は腎臓および血中には少ない。ただし、腎尿細管細胞にはグルタミナーゼが高濃度に含まれており、供給されるアンモニアの60%は、このグルタミナーゼによる血中Glu-NH₂の加水分解によつて供給される。したがつてGlu-NH₂の負荷により、腎尿細管細胞におけるアンモニアの生成増加は当然考えられる。表2に示した尿pHの増加もこれを裏付ける。腎における酸塩基平衡が塩基性に傾けば、腎尿細管上皮細胞膜蛋白質の陰性基が解離して、塩基性AAと膜との間にイオン結合が起り易くなる事も考えられる。別の可能性として、pH環境の変化により、上皮細胞膜蛋白質の立体構造上の変化が関係している可能性もあろう。これらの結果として、Glu-NH₂負荷によりCysおよび塩基性AA、特にCysとLysの再吸収が促進されたと考えられる。

反対にGluの負荷によりCys, Lysの再吸収率が増悪したのは、上記と逆の理由でアンモニアが減少したことによるのであろう。小林²⁰⁾は、痛風患者において、血中Glu値の増加と尿中アンモニア排泄減少との間に密接な関連を見出しており、Gluの増加により腎尿細管細胞のグルタミナーゼ活性が抑制された結果と推定している。シスチン尿症においても、Glu負荷によりグルタミナーゼ活性が抑制され、その結果アンモニアの生成減少が起り、Glu-NH₂負荷と逆の効果によりCysお

よび塩基性AAの再吸収が抑制されたと考えられる。

Glu-NH₂負荷によりCysの再吸収が著しく改善された事、特に0.02 g/kg体重以下の比較的少量で改善された事は、シスチン尿症に対するGlu-NH₂の治療効果という点で極めて興味深い結果である。今回の実験では、わずか1例に対する効果にしかすぎない。しかし、同一方法で2度繰返したGlu-NH₂負荷試験では、絶対値は異なるものの、負荷後にCysの再吸収率が改善されるという事実は、明瞭に再現性が見られた。仮に他のシスチン尿症にも同様の効果が認められ、かつ経口投与で維持出来るGlu-NH₂の血中濃度でCysの尿中排泄増加が抑制可能であれば、シスチン尿症に対するGlu-NH₂の治療的応用も考えられ興味深い。

結 論

シスチン尿症および正常健康者にGlu, Asp, Glu-NH₂, Asp-NH₂の1 g/100ml溶液を10ml/minで10分間経静脈負荷し、又、Glu-NH₂は1時間連続負荷も行ない、腎AA再吸収率に及ぼす影響を検討した。

正常者においては、上記いずれのAA負荷によつても、AA再吸収率に変化はなかつた。これは、負荷量が少ないためと推定した。

シスチン尿症におけるGlu, Aspの再吸収率は、それぞれAsp, Gluの負荷により阻害され、相互に拮抗阻害が認められた。

GluおよびAspのγカルボキシル基をアミド基に置換したGlu-NH₂, Asp-NH₂の負荷では酸性AAの再吸収率に変化がなかつた。

シスチン尿症における塩基性AAおよびCysの再吸収率は、Glu, Asp-NH₂負荷により強く阻害され、Asp負荷では塩基性AAにはほぼ影響なく、Cysの再吸収率をわずかに阻害した。Glu-NH₂負荷は、LysおよびArgの再吸収率をわずかに改善し、Cysの再吸収率を著明に改善した。

以上の結果より、シスチン尿症における酸性AA再吸収機構の許容量は、塩基性AA再吸収許容量と同様に、正常より小さい可能性、酸性AA再

吸収機構に γ カルボキシル基が必要である可能性, Glu-NH₂がCysの再吸収率を改善する機序, 等について考察を加えた。

文 献

- 1) Segal S, et al: Dibasic amino acid transport in rat kidney cortex slices. *Biochim Biophys Acta* 135: 127, 1967.
- 2) Young JA, et al: Renal tubular transport of amino acids. *Clin Chem* 17: 245, 1971.
- 3) Robson EB, et al: The effect of intravenous lysine on the renal clearances of lysine, arginine and ornithine, in normal subjects, in patients with cystinuria and Fanconi syndrome and in their relatives. *Clin Sci* 16: 75, 1957.
- 4) Webber WA, et al: Interactions of amino acids in renal tubular transport. *Amer J Physiol* 200: 380, 1961.
- 5) Ruzsłowski M, et al: Renal reabsorption of amino acids. *Amer J Physiol* 203: 891, 1962.
- 6) Crawhall JC, et al: The renal clearance of amino acids in cystinuria. *J Clin Invest* 46: 1162, 1967.
- 7) 宮城 研, 中田福市: II型シスチン尿症の1例. *日内会誌* 65: 1431, 1976.
- 8) Brodehl J, et al: Isolated cystinuria (without lysine-ornithine-argininuria) in a family with hypocalcemic tetany. *Klin Wschr* 45: 38, 1967.
- 9) Oyanagi K, et al: Congenital lysinuria: A new inherited transport disorder of dibasic amino acids. *J Pediat* 77: 259, 1970.
- 10) Webber WA, et al: Interactions of neutral and acidic amino acids in renal tubular transport. *Amer J Physiol* 202: 577, 1962.
- 11) Baines AD, et al: Absorption of acidic amino acids from proximal tubule fluid. 4th Int Cong Nephrol, Stockholm, p 293, 1969.
- 12) Giorgio JD: Manual determination of creatinine and creatine. Henry RJ, et al. eds. *Clinical chemistry, principles and technics*, Harper & Row publishers Inc, New York, 1974, p 543.
- 13) Spackman DH, et al: Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal Chem* 30: 1190, 1958.
- 14) Webber WA: Characteristics of acidic amino acid transport in mammalian kidney. *Can J Biochem Physiol* 41: 131, 1963.
- 15) Robson EB, et al: The effect of intravenous lysine on the renal clearance of cystine, arginine and ornithine, in normal subjects, in patients with cystinuria and Fanconi syndrome and in their relatives. *Clin Sci* 16: 75, 1957.
- 16) Stalder G, et al: Untersuchungen über den renalen Rückresorptionsmechanismus für Aminosäuren. *Klin Wschr* 38: 278, 1960.
- 17) 中田福市, 他: 同種グロビンの輸液応用. I. Amino acid および globinphoresis に伴う血清膠質浸透圧, 血清アミノ酸の変動および免疫学的検討. *琉大保健医学誌* 1: 23, 1978.
- 18) Gray CH, et al: Intestinal absorption of amino acids in man. Rutgers University press, New Brunswick, New Jersey, 1968, p 53.
- 19) Scriver CR: Amino acid transport: Factors influencing uptake in kidney and intestine. *Mod Probl Pediat* 11: 72, 1968.
- 20) 小林義明: 原発性痛風患者における尿酸性化能と glutamate 代謝にかんする研究. *慈医誌* 92: 333, 1977.