脂溶性ビタミンの研究 (第 3 報) 合成飼料による白鼠の生化学的 ビタミン D 定量に及ぼすビタミン B₁₂ の影響*

中 山 昭 彦 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和 28 年 1 月 16 日 受理

Studies on the Bio-assay of Fat-soluble Vitamins. Part 3. Effect of Vitamin
B₁₂ on the Determination of Vitamin D with Rats fed on Synthetic Diets.

By Akihiko NAKAYAMA (Department of Agricultural Chemistry, University of Tokyo)

緒 言

ビタミン D の白鼠による定量法については BOURDILLON, DYER, COWARD 等の詳細な研究があり、間然するところが無いように見えるが、エルゴステリンやコレステリンがプロビタミン D に他ならないことが知られており、最近の研究によれば婦人に重水素で標識したコレステリンを摂取させると尿中にプレグナンジオールが排泄されることが確認されている位であり、食物中の微量の維多のステリン類が生体内で重要な生理作用物質に変ずることが推測される。そこで著者はかようなステリン類を化学的に完全に除去した合成飼料(精製白米澱粉 83, 精製馬肉蛋白 11, CaCO₃ 3, NaCl 1, 酵母エーテル抽出残渣 2)を使用して白鼠による D の精密な定量を行つた⁽¹⁾。然るに動物性なる馬肉蛋白はその精製に当り沸水処理、溶剤処理を多数回くり返すにもかかわらず、その乾燥粉をパンクレアチンで消化した後ユーグレナ法で測定すると、B₁₂ が 100 g 中 5~7 γ の割合に含有されていることがわかつた。B₁₂ は核酸の合成に関係をもつであろうことが 1950 年に VILTER によつて推測され、我国では名古屋大学生理学教室の伊藤真次博士が Bone marrow test を行つた際に B₁₂ に投与によつて ATP の増生することを認めておられる。核酸も ATP も共に含磷化合物であるから B₁₂ が磷の生化学に関係すると考えられ、一方ビタミン D も磷の代謝に関係するものであるから、D の生理試験に当り B₁₂ は佝僂病予防並に治療に対し何等かの影響を及ぼしはしないかとの疑問が起る。そこで今回純植物性の D 欠飼料(同方法で測定したが B₁₂ を含有せず)を以て白鼠を養ひ、これに B₁₂ を添加して D 欠予防並に治療試験を行い、B₁₂ 影響の有無を調べた。

実 験 の 部

基本飼料(植物性)組成 (Steenbock No. 2965) 米国产黄色玉蜀黍全粒細粉 76, 焼麸粉 20, CaCO₃ 3, NaCl 1.

ビタミン B₁₂ 投与による白鼠佝僂病予防試験 初体重凡そ 40 g の 3 腹仔、22 頭の白鼠を 2 群に分け、試験群には B₁₂ 結晶水溶液を 1 頭当り 3 γ/5 日の割合に皮下注射し、昭和 27 年 7 月~8 月にわたり室温 25 に保つて 1 カ月上記飼料を以て飼育した後 X 線写真により BOURDILLON's scale for prophylactic test⁽²⁾ を使用し佝僂病度を比較したが Fig. 1 の通り両群の間に差を認めず、B₁₂ は白鼠の佝僂病罹患に当り影響を示さなかつた。

ビタミン B₁₂, ビタミン D₂ 共与による白鼠佝僂病治療試験 前試験に於て佝僂病治療度 0 を示したものを両群から各 5 頭ずつ選び、そのうち各 4 頭に対し D₂ 結晶サラダ油溶液を 1 日 1 頭 1¹¹U、ずつ 6 日間経口投与し、試験群には B₁₂ を 3 γ/5 日の割合に経口投与し、X 線写真により BOURDILLON's scale for curative test⁽²⁾ を使用して治療度を検したところ、Table 1 及び Fig. 2 の通り両群の間に差を認めず、B₁₂ は D₂ の佝僂病治

Table 1. Influence of Vitamin B₁₂ on the Degree of Healing in Rats administered with Vitamin D₂

Control Group				Test Group (V.B ₁₂ 3 γ/5 days)			
No V.D ₂		With V.D ₂		No V.D ₂		With V.D ₂	
Rat No.	Degree of healing **	Rat No.	Degree of healing **	Rat No.	Degree of healing **	Rat No.	Degree of healing **
301 ♀	1	302 ♂	6	320 ♀	0	316 ♂	3
		306 ♂	4			318 ♂	6
		308 ♀	5			319 ♂	5
		322 ♂	7			321 ♀	5
		mean	5.4			mean	4.8

** According to BOURDILLON's scale for curative test.

* 中山昭彦, 松本鍊太郎, 佐藤佳一 農化東京支部昭 27. 9. 26. 講演.

Fig. 1. Influence of Vitamin B₁₂ on the Degree of Healing in Vitamin D-deficient Rats.

Control Group						Test Group (V.B ₁₂ 3γ/5 days)								
Litter No.	Rat No.	Degree of healing #	X-ray photographs of bones	Litter No.	Rat No.	Degree of healing #	X-ray photographs of bones	Litter No.	Rat No.	Degree of healing #	X-ray photographs of bones			
IAXX	301 ♀	1		307 ♂	1		XXVI	317 ♂	2		XXVII	320 ♀	0
	302 ♂	0			0				0				0
IIAXX	303 ♀	1		309 ♂	2		XXX	314 ♀	2		Mean	0.9	0
	304 ♀	2			2				2
	305 ♂	1			2				0
	306 ♂	0			0				0
		Mean	1.0											

* According to BOURDILLON's scale for prophylactic test.

According to Bourdillon's scale for prophylactic test.

癒作用に対し何等の共働又は促進効果を示さなかつた。

赤血球数及び血清中磷含量の比較 予防試験群から数頭を選び血液中の赤血球数及び血清中磷含量を測つて比較したが Table 2 の通り両群の間に有意差を認めなかつた。

Table 2. Red Blood Cell Counts and Serum Phosphorus in Vitamin D-deficient Rets.

Control Group				Test Group (receiving V. B ₁₂)			
Rat No.	Degree of healing in prophylactic period	Blood cell counts million/mm ³	P in serum mg %	Rat No.	Degree of healing in prophylactic period	Blood cell counts million/mm ³	P in serum mg %
301	1	6.46		312	2	7.20	4.7
302	0	6.37	7	315	2		5.1
303	1	8.31	6.5	316	0	8.13	4.7
305	1		4.7	317	2		7.5
306	0	8.67		318	0	8.22	
308	0	6.76	5.1	319	0	9.21	5.4
310	2		5.6	320	0	8.45	4.2
322	0	7.25	5.6	321	0	7.86	4.2

Fig. 2. Curative Test with V. D₂ and V. B₁₂

** According to FOURDILLON's scale for curative test.

総 括

1. 白鼠によるビタミンD定量値に対しビタミンB₁₂は何等影響を及ぼさない。
2. ビタミン B₁₂ 欠乏飼料 (Steenbock 飼料) で飼育した白鼠に貧血症状をみとめなかつた。
3. 白鼠に於てはビタミン B₁₂ の体内合成が行われるらしい。

本研究に対し終始御指導を賜つた佐橋佳一教授に厚く感謝し、御援助を賜つた国立栄養研究所松室博士、速水博士、岩尾技官、実験に協力された松本鍊太郎、赤塚尹己両氏に深く謝意を表する。

研究費についてはビタミンB総合研究委員会、脂溶性ビタミン総合研究委員会から補助を受けた。

- (1) A. NAKAYAMA : *J. Sci. Res. Inst.*, 44, 24 (1949).
- (2) R. B. BOURDILLON : "The Quantitative Estimation of Vitamin D by Radiography" London, (1931); *Biochem. J.*, 26, 506, 522 (1932).

Summary

1. No. effect of vitamin B₁₂ on the analytical value of vitamin D was observed by means of bioassay with rats.
2. No anemia was recognized in rats in any case of the experiments with completely vitamin B₁₂-free diets.
3. Complete nutrition in rats which are fed on vitamin B₁₂-deficient diet seems to be due to the biosynthesis of this vitamin *in vivo*.

酒精醱酵に於ける糸状菌アミラーゼの作用に就て (第1報) Takadiastase の糖化酵素並に酵素組成比を異にした酒精醱酵試験

富金原 孝, 村松敬一郎 (株式会社科学研究所)

昭和 28 年 1 月 17 日 受 理

The Action of Mold Amylase on Alcohol Fermentation. Part. 1. The
Saccharogenic Enzyme of Takadiastase, and Alcohol Fermentation
by the Saccharifying Agents of the Differential Enzymic Ratios.

By Takashi HUKINBARA and Keiichirō MURAMATSU
(The Scientific Research Institute Ltd.)

澱粉糖化酵素の性質に就ては北原⁽¹⁾⁽²⁾、岡崎氏⁽³⁾等の研究があり、岡崎氏⁽⁴⁾は並行複醱酵系に於ける糖化機構について論及し CORMAN⁽⁵⁾ 及び PAN⁽⁶⁾ 等は澱粉を直接 glucose に分解する酵素系と酒精収量とは相関的關係にあると報告している。

α -amylase は醱の粘度を低下せしめる作用があり従つて、菌の生育を良好にし、醱の輸送を容易にし、蒸溜時の熱の伝導効果を増加せしめるので酒精製造上必要なことはいうまでもないが、その力価と酒精収量との関係に就てはなお不明点がある。

著者等は Takadiastase の amylase 組成について試験した結果 glucogenic enzyme 系の存在することを確め、更に Takadiastase を人為的に処理して α -amylase, maltase, limitdextrinase activity の各組成比を変化せしめた酵素液をつくり、酒精醱酵試験を行い各酵素活性度と酒精収量との関係を求めた。

実 験 の 部

I. Takadiastase 中の glucogenic enzyme 系酵素の存在に就て

1) 酵素液の調製 三共製 Takadiastase 10% 溶液 (室温で 1 h. 水抽出を行い遠心分離した上澄液) に 50 vol. % になるように 95% ethanol を加え 0', 20' 放置し生ずる沈澱を除き、更に 70 vol. % になるまで ethanol を添加し、沈澱した粘稠褐色物質を減圧乾燥後、これに適量の水を加え 1 N. HCl を加え pH を 3.0

* 本報は昭和 26 年 5 月の日本農芸化学会京都大会に於ける講演の要旨である。