要 約

1) *L. fructosus* はグルコースを唯一の C-給源として用いる場合はこれを僅かにしか利用しないが、フラクトースの存在下ではそのフラクトースの量に比例的にこれを利用し、その際フラクトースの大部分または殆んど全部に相当する量のマンニットを生成する。

2) グルコン酸はこれを唯一の C-給源として用いる時は *L. fructosus* によって全く利用されないが、これもフラクトースの存在下では利用される。この場合マンニットの生成率は Pederson 等の提示した式の理論値を超える。

3) 休止細胞によるマンニットの生成はモノヨード酢酸の添加によって阻害される。

4) フラクトースが *L. fructosus* の迅速、かつ豊富な生育に必須的 C-給源として要求される理由は、これが解糖過程における酸化反応の共軌的水素受容体になることであると推論される。

終りに臨み終始御指導を賜った醸酵研究所長佐藤喜吉博士並びに主任研究員中沢鴻一氏に深謝すると共に、有益なる御助言を頂いた阿部又三博士に厚く御礼申し上げる。

(1) 児玉礼次郎：本誌，30，705 (1956).	<i>Sta., Tech. Bull.</i> , 151, 1 (1929).
(2) C. S. Pederson： <i>J. Bacteriol.</i> , 35, 95 (1938).	(7) 住木論介：本誌，6，17 (1930).
(3) 児玉礼次郎：本誌，31，105 (1957).	(8) 片桐英郎，北原覚雄：日本学術協会報告，16，548 (1942).
(4) 児玉礼次郎：本誌，31，596 (1957).	(9) 坂口謙一郎，朝井勇宣編：酵素(東京)，p. 232 (1952).
(5) C. I. Kruisheer： <i>Biochem. Zeitsch.</i> , 207, 441 (1929).	(10) H. Katagiri, K. Imai： <i>Bull. Agr. Chem. Soc. Japan</i> , 19, 15 (1955).
(6) C. S. Pederson： <i>New York Agr. Expl.</i>	

栄養素組成と体蛋白質の代謝 (第 3 報)*

摂取熱量と肝臓キサンチンオキシダーゼ，アルギナーゼ
および D-アミノ酸オキシダーゼ活性度

村松敬一郎，多賀幸雄，芦田 淳 (名古屋大学農学部食品栄養化学教室)

昭和 32 年 3 月 11 日 受 理

さきに著者らは、食餌蛋白質量をそれぞれ変えて一定期間飼育したシロネズミの肝臓キサンチンオキシダーゼ⁽¹⁻³⁾とアルギナーゼ⁽²⁾の活性度を測定した結果、キサンチンオキシダーゼは無蛋白、低蛋白飼料で消失乃至は著しく減少するが蛋白質含量 20~30% 以上では常に一定の値を示すのに対し、アルギナーゼは蛋白摂取量が増すにつれて全く比例的に増大することを観察し、飼料蛋白質量のこれら体内酵素活性度に及ぼす影響の極めて大きいこと並びに酵素の種類によって影響の受けかたに違いのあることを明かにした。

しかし、これらの実験は自由食での結果であり従って熱量の摂取は各々の蛋白含量区で異っていたため、その全てが蛋白質量に基づくものと一概に説明するわけにはゆかなかった。

エネルギー源は全ての代謝要求に優先する重要な栄養条件であり、体内代謝に影響するところもまた大きいと考えられる。従来摂取熱量と蛋白代謝との関係は主に窒素出納試験を中心に研究されているが⁽⁴⁻⁷⁾、体内酵素に対する熱量の効果についてはあまりたちいった報告がなく、単に自由食と制限食或は絶食での酵素力の比較をしたものがみられる程度である。

Schultz⁽⁸⁾ は絶食した兎の肝臓カテプシン II の減少をみ、Miller⁽⁹⁾ は 7 日間の絶食でネズミの肝臓キサンチンオキシダーゼはじめ種々の肝臓酵素が肝臓蛋白濃度と平行して或はそれを上廻って減少することを観察し、又 Westerfeld ら⁽¹⁰⁾ も完全絶食の条件で肝臓と小腸のキサンチンオキシダーゼ活性度の減少をみている。一方、

* Composition of Nutrients and Metabolism of Tissue Protein. Part III.

Caloric Intakes and Rat Liver Xanthine Oxidase, Arginase and D-Amino Acid Oxidase Activity.
By Keiichiro MURAMATSU, Yukiwo TAGA and Kiyoshi ASHIDA (Laboratory of Food and Nutrition, Faculty of Agriculture, University of Nagoya)

Lightbody ら⁽¹¹⁾および Rosenthal 一派⁽¹²⁾は絶食状態でネズミの肝臓アルギナーゼ活性度の異常な増加を報告している。

Wainio ら⁽¹³⁾は、制限食の条件でネズミの肝臓キサンチンオキシダーゼ活性度は無蛋白食を与えたときと同程度にはげしく減少するが、他の多くの肝臓酸化酵素は制限食でも自由食の場合とほとんど変りない活性度を示すことを認めている。これに対し Richerd ら⁽¹⁴⁾は自由食の 1/4 程の制限食を供しても肝臓および小腸のキサンチンオキシダーゼ活性度の減少はみられないとしている。

われわれは体内諸酵素の活性度におよぼす食餌蛋白質量の影響を論ずるにあたって熱量の効果をどの程度考慮すべきかを知る必要を感じ、飼料蛋白質に特に敏感なキサンチンオキシダーゼ、摂取蛋白量とともに変動を与えるアルギナーゼおよび肝臓窒素の消長と活性度の平行関係を示す諸酵素の 1 つとして D-アミノ酸オキシダーゼ⁽¹⁵⁾を代表に選らび、蛋白質量を一定にし熱量の摂取のみを種々に変えてこれら肝臓の酵素活性度の変化をしらべ、熱量の体内酵素力に及ぼす影響を明かにしようとした。

実 験

動物と飼料 実験に供した動物は Wistar 系の雄のシロネズミ、体重 200 (190~230) g のもの 15 匹で、1 週間カゼインを含む基本飼料⁽¹⁾を与えてからこれを 3 群に分け (1 群 5 匹)、1 匹宛を分離飼育籠に移し、第 1 表

第 1 表 飼 料 の 組 成
試験区、1 日の飼料投与量(g)

	(I)	(II)	(III)
澱粉・油 ¹⁾	2	6	10
カゼイン ²⁾	7	7	7
塩 類 ³⁾	0.8	0.8	0.8
ビタミン ⁴⁾	0.2	0.2	0.2

1) α -澱粉(尾西食品製, 甘藷澱粉)と綿実油(吉原製油製)を 5:1 の割合に混合したもの。

2) ミルク・カゼイン末(岸田化学製)

3) Hegsted Salt V⁽²¹⁾にモリブデン酸ソーダを加えたもので次の組成よりなる。(g)

CaCO ₃	600	KI.....	1.6
K ₂ HPO ₄	645	MnSO ₄ ·4H ₂ O.....	1.0
CaHPO ₄ ·2H ₂ O.....	150	ZnCl ₂	0.5
MgSO ₄ ·7H ₂ O.....	204	CuSO ₄ ·5H ₂ O.....	0.6
NaCl.....	335	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O.....	0.05
Fe(C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·6H ₂ O.....	55		

4) ビタミン澱粉混合物。飼料 1kg 当りの組成は次の通り(ビタミンは全て mg 単位)。

チアミン塩酸.....	10	コリン塩酸.....	1000
リボフラビン.....	10	メナジオン.....	4
ピリドキシン.....	20	イノシトール.....	100
パントテン酸カルシウム.....	30	ビオチン.....	0.4
ニコチン酸.....	25	葉 酸.....	2
		澱 粉.....	8.8(g)

なおビタミンA、及びD源として週に 1 回、タラ肝油 2 滴宛与える。

に 5 倍量の冷蒸溜水を加え、ホモゲナイザーにかけ、ガーゼで濾したホモジェネートにつき次の方法によってキサンチンオキシダーゼ、D-アミノ酸オキシダーゼ、アルギナーゼの活性度を測定した。

キサンチンオキシダーゼ：われわれはこれまで Axelrod, Elvehjem⁽²²⁾の検圧法を参考にし 0.0038 mM/フラスコキサンチンを基質にし 37°, 80 分空振りの条件でこの酵素の活性度を測定してきた^(1,2)。最近 Dhungat, Sreenivasan⁽²³⁾はピロリン酸緩衝液が内生呼吸を強く抑制する効果を利用し検圧的に測定する方法を検討し良好な結果を得ている。著者らもこの方法を追試した結果、内生呼吸を除くに要する時間を短縮できる点ですぐれており、また低い酵素活性度の場合にも測定可能であることを確かめ概ね彼等の方法に準じ次の条件で定量を実施した。

ワールブルグフラスコの主室にホモジェネート 1.0 ml と 0.03 M ピロリン酸緩衝液 (pH 8.6) 1.0 ml をとり、側室に 1 mg % キサンチン溶液 1.0 ml、副室に 20% KOH 0.2 ml を入れ、37° で 40 分空振り後、60 分間に吸収する酸素量を測定、生肝臓 1 g が 1 時間に消費する O₂ μ l をもって単位活性度**とした。基質キサンチン

* 第 4 報, 本誌 31, 607 (1957) 参照。

** なお生肝臓全量 (g) に対する値を全活性度とし、全活性度を体代謝量近似値 ($W^{0.75}$, W = 体重) で割った値をもって代謝活性度として表わした。

に示すごとく、蛋白質量を均一にし、カロリー量を変えた餌を投与した。全熱量の摂取は I 区が 38 カロリー、II 区が 57 カロリー、III 区が 76 カロリーで、III 区は次報* のカゼイン 40% 区に匹敵する。I 区は熱量の絶対量著しく不足、II 区はやや不足、III 区は十分な摂取状態にあるといえる。III 区のものに僅かに餌を残したものがあつたのみで他区のものは完全に食べきった。

飼料はこれに少量の熱湯を加え糊化して与え、水は随意に飲ませた。 α -澱粉の使用は餌の糊化を容易にする点で生澱粉より好都合であつた。なお塩類としてはキサンチンオキシダーゼがモリブデンを含む酵素であることを考慮に入れ⁽¹⁶⁻²⁰⁾、註に記したように Hegsted 塩 V⁽²¹⁾にモリブデン酸ソーダを飼料 1 kg 当り 1 mg になる如く加えたものを用いた^(14,16,17)。

酵素活性度の測定 以上の様にして 21 日間飼ってからネズミを殺殺、速かに肝臓を取出し附着する血液を濾紙で吸取り、全量を計量後その一部を秤取、これ

の濃度はこの場合フラスコ当り 0.0065 mM で Axelrod らの条件 (0.0075 mM) よりややうすい。

D-アミノ酸オキシダーゼ: Hoch-Ligeti⁽²⁴⁾ の検圧法を参照し次のごとく定量した。

ホモジェネート 1.5 ml (生肝臓 250 mg を含む) と M/15 の磷酸緩衝液 (pH 8.4) 1 ml をワールブルグフラスコの主室にとり、側室に 0.3% の DL-アラニン 0.5 ml, 副室に 20% KOH 0.2 ml を入れ、37° で 30 分間に吸収する酸素量を 10 分おきに測定、生肝臓 1 g が 30 分間に吸収する $O_2 \mu l$ をもって単位活性度とした。

アルギナーゼ: ホモジェネート 1.0 ml を更に蒸留水で 200 倍に稀釈し (0.1% 生肝臓を含む)、その 1.0 ml に 5.0% アルギニン溶液 (pH 9.5) 0.5 ml を加え、25° で 5 分間反応させ、遊離する尿素をキサンチドロールに作用させて比色定量するわれわれの方法に従い測定した⁽²⁾。

結 果

体重の増減は第 1 図に示すように熱量のいちじるしく欠乏する I 区は初体重に対し 26% 減少し、やや不足の II 区は辛じて初体重を維持し、基準状態の III 区は平均 16% の増加がみられた。

キサンチンオキシダーゼ (第 2 図) は単位および代謝活性度において I 区は幾分低下の傾向にあったが有意の差はみられず ($P: 0.3$)、全活性度の値は摂取熱量の減少に応じて直線的に低減を示した (I ~ II, $P: 0.05$, II ~ III, $P: 0.2$)。

D-アミノ酸オキシダーゼ (第 3 図) は単位、代謝活性度とも全く 3 区間で変るところなく、全活性度においても各区間に有意性は認められず (I ~ II, $P: 0.4$, II ~ III, $P: 0.3$, I ~ III, $P: 0.1$) キサンチンオキシダーゼの場合程の変化をしめさなかった。

第 1 図 体重の変化
(破線は初体重平均線を示す)

第 2 図 摂取熱量とキサンチンオキシダーゼ活性度

● 個々のネズミについての測定値
○ 平均値
T 測定値のパラッキの範囲

第 3 図 摂取熱量と D-アミノ酸オキシダーゼ活性度

第 4 図 摂取熱量とアルギナーゼ活性度

アルギナーゼ (第 4 図) は全活性度において変化がなかったけれども, 単位活性度ではカロリー欠乏の I 区がかえって高い活性度を与えた (I ~ II, $P: 0.01$).

同様な傾向は代謝活性度についても観察された (I ~ II, $P: 0.2$).

考 察

上述の結果から, 摂取蛋白質量が十分な条件で熱量の影響を受ける肝臓酵素の類を少くとも次の 3 種の型に分けることが可能であろう.

- (1) 低熱量でやや活性度の減少をあらわすキサンチンオキシダーゼ型.
- (2) 熱量の影響をほとんど受けぬ D-アミノ酸オキシダーゼ型.
- (3) 低熱量でかえって活性 (単位活性度) の増加をしめすアルギナーゼ型.

これらのうち (3) 型はむしろ例外的な部類に属するものと考えられ, D-アミノ酸オキシダーゼのように肝臓蛋白濃度の挙動と比例的に増減を示す多くの諸酵素は (2) 型乃至は (1) 型に包含されることが予期される. しかし全体的にみて, 肝臓の諸酵素に対する熱量の効果は飼料蛋白質量のそれに比べれば, 比較にならぬ位弱く, 低蛋白, 無蛋白食でみられる諸酵素の減少は圧倒的に摂取蛋白質量によって左右されるものと結論してさしつかえない.

Wainio ら⁽¹³⁾は自由食 (18% カゼイン食) に対しその 21~26% を制限した飼料で 7 週間飼ったシロネズミの肝臓キサンチンオキシダーゼは単位, 全活性度とも無蛋白食を供したものと同程度に激減するが, D-アミノ酸オキシダーゼは単位, 全活性度とも制限食での影響を全く受けないことをみている.

彼らの制限食の実験でキサンチンオキシダーゼがひどく減少したのはおそらく供試飼料の制限によって蛋白摂取量の低下をとめない, これが熱量の影響以上にその活性度に大きく影響したためと理解される.

次に熱量不足の状態ではアルギナーゼが正常値より高い異常な活性 (単位, 代謝活性度) を示すことは注視すべき現象である.

Lightbody 等⁽¹¹⁾は飢餓の状態ではネズミの肝臓アルギナーゼの変化をしらべ, 2~3 日では変りないが長期にわたると活性度の増加することを観察し, Rosenthal らは無蛋白食 2 週間投与後 2 日間の絶食で肝臓蛋白質, ローダネースの増加とほぼ比例してアルギナーゼの増加をみ, 更に 4 日間の絶食でアルギナーゼのみ特異的に増加する現象をとらえており⁽¹²⁾, 又無蛋白食供与後 70% 肝臓を切除した肝臓アルギナーゼは 2 日間の飢餓で異常に増すが, この場合熱量を与えると増加しないことを観察している⁽²⁵⁾.

これらの報告はわれわれの結果に照して興味深いものがある.

肝臓アルギナーゼ活性度が栄養条件によって変化する原因についてはこれまでに 2 つの意見が発表されている. すなわち Rosenthal ら⁽¹²⁾は, 絶食でみられるアルギナーゼの異常な増加は他の機能的に異なる酵素や肝臓の全蛋白濃度の変化とかけ離れているゆえ, この現象はホルモン作用に由来する機能的な問題であると述べており, 一方 Mandelstam, Yudkin⁽²⁶⁾ は飼料蛋白質量によるアルギナーゼ活性度の変動は, 彼らのいわゆる酵素適応現象における "質量作用説" によく一致すると主張, 基質に対する直接的適応現象として説明している.

われわれの実験において熱量不足状態でアルギナーゼ活性度が増したのは, このような悪条件の下では摂取された飼料蛋白質が熱源として消費されるのを余儀なくされ, 加えて体蛋白質も分解の方向に傾き, これら蛋白質の異化の結果生ずる過剰の窒素を体外へ排除する必要が急速にたがまり, それに応じて機能的に肝臓中にアルギナーゼの増加が導かれたものと考えられる.

又熱量の供給が十分な場合には, 吸収された食餌蛋白の多くは体蛋白質との交流の方向に傾き, そのためアルギナーゼ活性度は特に増すことなく一定値を与えるのであろう.

要 約

1. 体内酵素活性度におよぼす熱量の影響を明かにする目的で, カロリー含量のみを種々に変えた飼料で一定期間飼ったネズミの肝臓キサンチンオキシダーゼ, アルギナーゼおよび D-アミノ酸オキシダーゼ活性度の変化をしらべた.

2. はなはだしく熱量の不足する栄養条件でキサンチンオキシダーゼはやや減少し, D-アミノ酸オキシダーゼは全く増減をしめさず, アルギナーゼは逆に増加することを観察した.

3. これらの事実から熱量の影響をこうむる肝臓酵素を少くとも 3 つの型に類別できることを示した.

4. 食餌蛋白質量の体内酵素におよぼす大きな効果に比べれば熱量の影響は比較的小さいことが確かめられた。

終りに飼料の分与を受けた日本配合飼料, 日清製粉の各会社に厚く感謝します。なお本研究は文部省研究助成金によって行われたものであります。

- (1) 村松敬一郎, 矢野俊子, 芦田 淳 : 本誌, 28, 984 (1954).
- (2) 村松敬一郎, 芦田 淳 : 本誌, 29, 725 (1955).
- (3) 吉田 昭, 山崎 隆, 芦田 淳 : 本誌, 30, 50 (1956).
- (4) H. N. Munro : *Physiol Rev.*, 31, 449 (1951).
- (5) J. B. Allison : *Fed. Proc.*, 10, 676 (1951).
- (6) P. P. Swanson et al. : *Fed. Proc.*, 6, 423 (1947); *ibid.*, 10, 660 (1951).
- (7) W. C. Rose et al. : *J. Biol. Chem.*, 210, 331 (1954); *Fed. Proc.*, 8, 546 (1949).
- (8) J. Schultz : *J. Biol. Chem.*, 178, 451 (1949).
- (9) L. L. Miller : *J. Biol. Chem.*, 172, 113 (1948).
- (10) W. W. Westerfeld, D. A. Richert : *J. Biol. Chem.*, 192, 35 (1951).
- (11) H. D. Lightbody, A. Kleinman : *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 45, 25 (1940).
- (12) O. Rosenthal, H. M. Vars : *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 86, 555 (1954).
- (13) W. W. Wainio, B. Eichel, H. J. Eichel, P. Person, F. L. Estes, J. B. Allison : *J. Nutrition*, 49, 465 (1953).
- (14) D. A. Richert, W. W. Westerfeld : *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 83, 726 (1953).
- (15) 村松敬一郎, 芦田 淳 : 昭和 29 年 4 月の農化大会において講演.
- (16) E. C. DeRenzo et al. : *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 753 (1953); *Arch. Biochem. Biophys.*, 45, 247 (1953).
- (17) D. A. Richert, W. W. Westerfeld : *J. Biol. Chem.*, 203, 915 (1953); *ibid.*, 209, 179 (1954).
- (18) D. E. Green, H. Beinert : *Biochem. et Biophys. Acta*, 11, 599 (1953).
- (19) J. R. Totter et al. : *Science*, 118, 555 (1953).
- (20) B. Mackler et al. : *J. Biol. Chem.*, 210, 149 (1954).
- (21) D. M. Hegsted, R. C. Mills, C. A. Elvehjem, E. B. Hart : *J. Biol. Chem.*, 138, 459 (1941).
- (22) A. E. Axelrod, C. A. Elvehjem : *J. Biol. Chem.*, 140, 725 (1941).
- (23) S. B. Dhungat, A. Srenivasan : *J. Biol. Chem.*, 208, 845 (1954).
- (24) C. Hoch-Ligeti : *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 83, 403 (1953).
- (25) O. Rosenthal, C. S. Rogers, H. H. Vars, C. C. Ferguson : *J. Biol. Chem.*, 189, 831 (1951).
- (26) J. Mandelstam, J. Yudkin : *Biochem. J.*, 51, 681 (1952).

栄養素組成と体蛋白質の代謝 (第 4 報)*

肝臓キサンチンオキシダーゼおよびアルギナーゼ

活性度と窒素排泄物量との関係

村松敬一郎, 芦田 淳 (名古屋大学農学部食品栄養化学教室)

昭和 32 年 3 月 11 日 受理

代謝排泄産物が体内代謝の様相を如何に映じているかを明瞭にすることは栄養状態の適否を論ずる上に益するところ多々あると思う。

既報^(1,2)のごとく, われわれは自由食での栄養条件で, ネズミの肝臓キサンチンオキシダーゼおよびアルギナーゼ活性度と, 尿酸, アラントイン, 尿素等尿中の排泄物量との関係をしらべたところ, キサンチンオキシダーゼが尿酸, アラントイン量と平行しないのに対し, アルギナーゼは尿素量とよく比例関係を示すことをみとめた。

* Composition of Nutrients and Metabolism of Tissue Protein. Part IV.

Relation between Rat Liver Xanthine Oxidase, Arginase Activity and Urinary Nitrogen Metabolites.

By Keiichiro MURAMATSU and Kiyoshi ASHIDA (Laboratory of Food and Nutrition, Faculty of Agriculture, University of Nagoya)