シロネズミにおける種々の臓器および組織へのシリアチン (2-アミノエチルホスホン酸) の取り込み

長谷川信, 玉利正人, 亀高正夫
(東京大学農学部農芸化学科)

昭和 48 年 5 月 2 日 受理

Incorporation of Ciliatine (2-Aminoethylphosphonic Acid) into Rat Visceral Organs and Tissues

By Shin HASEGAWA, Masato TAMARI and Masao KAMETAKA
*Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
The University of Tokyo, Tokyo, Japan*

^{32}P -Ciliatine was injected intraperitoneally into growing Wistar rats. After the injection, ^{32}P -ciliatine was incorporated into almost all rat tissues. Incorporation of ^{32}P -ciliatine into the liver amounted to ca. 17.5% of the dose, while its incorporation into the other tissues was much lowered, e.g., kidney, 1.23%; small intestine, 0.20%; skeletal (hind leg) muscle, 0.07%; bone (hind leg bone), 0.06%. From the values of $\text{C-}^{32}\text{P}/\text{T-}^{32}\text{P}$ (%) in all tissues, radioactivity was detected mostly as ciliatine, but a small portion was found in some changed form. This observation suggests that ciliatine can be decomposed in the rat tissues or by gastrointestinal bacteria.

Further studies on the incorporation of ^{32}P -ciliatine into the rat liver at each of nine intervals (0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 hr) after the intraperitoneal injection indicated that ciliatine incorporation reached maximum after 4 hr, then decreased slowly, and that ciliatine is firstly incorporated into the acid soluble fraction of rat liver and then into the other fractions, especially into the phospholipid fraction.

Male rats weighing about 50g were fed three kinds of diet: a low-phosphorus, a low-phosphorus + ciliatine and a control diet. Ciliatine administered orally was considerably accumulated in the liver and many other tissues. In the liver which largely accumulated, the phospholipid fraction showed much higher than any other fractions. Ciliatine, even if administered orally in large quantity, has no apparently toxic effect on growing rats, but partly any substitutional effect for common phosphorus compounds on their growth.

(Received May 2, 1973)

緒 論

シリアチンは反芻胃内纖毛虫体の脂質画分から初めて単離された⁽¹⁾化学的, 生物学的にきわめて安定な C-P 結合を持つ生体物質であり, 現在シリアチン関連物質としては, N-メチルシリアチン⁽²⁾, N-ジメチルシリアチン⁽³⁾, N-トリメチルシリアチン⁽⁴⁾および 2-アミノ-3-ホスホプロピオン酸⁽⁵⁾の存在が確認されている。これら C-P 化合物は, 主としてホスホノリビド⁽⁴⁾の形で存在することが明らかにされ⁽⁶⁾, また蛋白質⁽⁷⁻⁸⁾や核酸関連物

質^(9,10)などの構成成分として存在することも推測されている。これらの化合物は分類学的に見て広範囲の生物に分布しており, 主要な畜産食品^(11,12), 水産食品^(5,13)に含まれていることが知られ, 最近ヒトの種々の臓器においても, その存在が確認されている⁽¹⁴⁾。本研究は, C-P 化合物の生理的機能および栄養学的意義を解明する目的で, まず生体内 C-P 化合物のうちで最も多量に存在することが知られているシリアチンについて, 高等動物における代謝を明確にするために, ^{32}P -シリアチンをシロネズミの腹腔内に注射して, 種々の臓器および組織への

シリアチンの取り込みを調べ、特にその取り込み量が最も多かった肝臓について、シリアチン取り込みの経時的变化を明らかにし、さらに長期間シリアチンを経口投与し、種々の臓器および組織へのシリアチンの蓄積および生理的効果を明らかにしたので報告する。

実験方法

次の3つの実験が計画された。

実験Ⅰは ^{32}P -シリアチンを腹腔内に1回投与した場合における種々の臓器および組織へのシリアチンの取り込みを調べ、実験Ⅱは ^{32}P -シリアチンを腹腔内に1回投与した場合における肝臓へのシリアチンの取り込みについて経時的变化を調べ、実験Ⅲはシリアチンを多量に長期間連日経口投与した場合における種々の臓器および組織へのシリアチンの取り込み、およびその生理的効果を調べたものである。

1. ^{32}P -シリアチンの調製 プロテオースペプトン (Difco) 2%, 酵母抽出物 (Difco) 0.5%, デキストロス (Difco) 0.85%, NaCl 10 mg%, KCl 0.4 mg%, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.8 mg% を含む培地 100 ml に *Tetrahymena pyriformis-W* を接種して、26.5°C で 48 時間静置培養後、さらに 24 時間振盪培養した。この全量を ^{32}P -正リン酸 5 mCi を含む前記組成培地 1 l に移植して、26.5°C で 96 時間振盪培養後、約 2000×g で 10 分間遠心分離し、集めた虫体を 0.75% 食塩水で 2 回洗浄した。次に虫体を 20 倍量の 6 規定塩酸とともに、110°C で 48 時間還流煮沸し、得られた加水分解物をガラスフィルター (4 G) にて濾過した。濾液を濃縮乾固後、脱イオン水 30 ml に溶解し、活性炭 1 g を加え暫時振盪して濾過した。この濾液を濃縮乾固後、0.6 規定塩酸 2 ml に溶解し、Dowex 50×4 カラム (H^+ 型, 200~400 メッシュ, 1.5×50 cm) 上に注いで交換吸着後、0.6 規定塩酸 250 ml で溶出し、正リン酸以外の ^{32}P 放射能を含む画分を集めた。このカラム操作をさらに 2 回繰り返して得られた ^{32}P -シリアチンは、Kiesel Gel-G 薄層クロマトグラフィー (展開溶媒: n-ブタノール: 酢酸: 水, 4:1:2 v/v) により、放射化学的に単一であることを確認した。このシリアチン画分を濃縮乾固後、0.5 規定酢酸 1 ml に溶解し、Dowex 1×8 カラム (CH_3COO^- 型, 200~400 メッシュ, 0.5×5 cm) 上に注いだ後、このカラムを 0.5 規定酢酸 1 ml で 3 回洗浄し、得られた流出液を濃縮乾固した。実験Ⅰにおいて使用された ^{32}P -シリアチンは、

収量約 10 g の虫体から約 $10 \times 10^6 \text{cpm}$ 調製され、実験Ⅱにおいては、培地を 3 倍の 3 l にすることにより、収量約 30 g の虫体から約 $30 \times 10^6 \text{cpm}$ の ^{32}P -シリアチンを調製することができた。

2. シリアチンの調製 実験Ⅲで給与されたシリアチンは Kosolapoff の方法⁽¹⁰⁾によって合成され、元素分析、融点測定、赤外吸収スペクトル、薄層およびペーパークロマトグラフィーにより、シリアチンの純品であることが確認された。収率は 44% であった。

3. 動物実験および分析試料

実験Ⅰ: 体重 110~112 g のウイスター系雄シロネズミ 3 頭を用いた。動物は 1 頭ずつ糞尿分離式代謝箱⁽¹¹⁾に入れ、市販固型飼料 (オリエンタル酵母工業〔株〕MC-5) で飼育され 1 日 1 回午後 4 時に 15 g/日/頭の飼料および水が与えられた。7 日間飼育後、1 頭当り $3.013 \times 10^6 \text{cpm}$ ($1.023 \times 10^3 \text{cpm}/\mu\text{g. P}$) の ^{32}P -シリアチンが 0.9% 食塩水 0.5 ml に溶解され、午後 3 時に腹腔内に注射された。投与 24 時間後、糞および尿を分離採取し、動物はエーテルで麻酔され、屠殺解体して種々の臓器および組織を採取した。糞には 6 規定塩酸を、尿には数滴のトルエンを加えて 4°C にて保存し分析に供した。血液は頸動脈切断により採取された。肝臓は血液を除去するために屠殺後、直ちに 0.9% 食塩水で還流を行なった。3 頭分まとめて 1 検体とし試料とした。

実験Ⅱ: 体重約 110 g のウイスター系雄シロネズミ 27 頭を 1 区 3 頭にわけ、9 区として用いた。動物は 1 頭ずつ糞尿分離式代謝箱に入れ、実験Ⅰと同じ市販固型飼料で飼育され、1 日 1 回午後 4 時に 15 g/日/頭の飼料および水が与えられた。7 日間飼育後、1 頭当り $9.689 \times 10^6 \text{cpm}$ ($1.100 \times 10^3 \text{cpm}/\mu\text{g. P}$) の ^{32}P -シリアチンが 0.9% 食塩水 0.5 ml に溶解され、午後 3 時に腹腔内に注射された。投与 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 および 128 時間後に各区 3 頭ずつエーテルで麻酔され屠殺された。屠殺後、直ちに肝臓は 0.9% 食塩水で還流され採取された。投与 4 時間後と 128 時間後の肝臓に関しては、その一部を用いて、Schneider 法⁽¹⁶⁾により、名種リン画分の分離を行なった。

実験Ⅲ: 体重約 50 g のウイスター系雄シロネズミ 9 頭を 1 区 3 頭にわけ、3 区すなわち対照区、低リン区、シリアチン添加区として用いた。各区の飼料組成は Table I のとおりである。Table I の低リン区に示されたリン含量および Ca/P 比では、体重増加量の減少、血

Table I. Composition of Diets

Ingredient	Diet		
	Control	Low-P	Low-P + ciliatine
Starch	20.00%	20.00%	20.00%
Sucrose	49.00	49.24	48.49
Egg albumin	20.00	20.00	20.00
Soybean oil	5.00	5.00	5.00
Choline chloride*	0.15	0.15	0.15
Salt mixture**	1.02	1.02	1.02
Vitamin mixture***	0.85	0.85	0.85
CaCO ₃	1.83	1.83	1.83
KH ₂ PO ₄	2.03	1.15	1.15
KHCO ₃	0.12	0.12	0.12
Ciliatine	—	—	0.81
Total-Ca	0.75	0.75	0.75
Total-P	0.50	0.30	0.50
Total-Ca/total-P	1.50	2.50	1.50

* A. E. Harper [*J. Nutr.*, 68, 408 (1958)].** Prepared in order that each 100 g of diet contains the following amount of mineral: NaCl, 842mg; MgSO₄·7H₂O, 405mg; FeC₆H₅O₇·xH₂O, 30.0mg; MnSO₄·4H₂O, 20.3mg; CuSO₄·5H₂O, 7.84mg; ZnCl₂, 2.08mg; KI, 0.026mg; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 0.018mg.*** A. E. Harper and Vitamin D deficient [*J. Nutr.*, 68, 408 (1958); *Natl. Res. Council*, 10 (1962)].

清および骨のリン含量の減少, 骨のカルシウム沈着の劣化などが引き起こされることが一般に知られている^(17,18). そこで, 低リン区にシリアチンを添加して, 食餌中のリン含量を計算上対照区と等しくしたシリアチン添加区を設けて, シリアチン態リンの効果を比較した. 飼料は1日1回午後4時に15g/日/頭給与され, 脱イオン水を自由摂取させた. 動物は実験Iと同じ市販固型飼料で14日間予備飼育後, 1頭ずつ糞尿分離式代謝箱に入れ, 42日間試験飼料で飼育された. 実験最終日の午後3時にネブプタールを各動物の腹腔内に注射し, 頸動脈にカニューレを挿入して血液を採取後解体し, 肝臓は直ちに0.9%食塩水で還流され, 種々の組織が採取された. なお, 肝臓の1部はSchneider法によるリン分画に供された.

4. 分析方法

a) シリアチンの定量: 試料に約20倍量の6規定塩酸を加え, 110°Cで48時間還流煮沸するか, あるいは封管中110°Cで48時間加水分解後, 濾過し, 濾液を濃縮乾固後, 脱イオン水で一定量(25ml)に希釈し, 次の

カラム処理の試料とした. 活性炭カラム(100mg, 内径4~6mm)とDowex 50×4カラム(H⁺型, 200~400メッシュ, 2ml, 内径7~9mm)を準備する. まず前記試料の一定量(0.1ml~0.5ml)を前者カラム上に注入後, 脱イオン水1mlずつで4回洗浄する. 流出液はそのつど, 後者カラム上に導入された. 次に後者カラムを脱イオン水1mlずつで4回洗浄して無機態リン酸を流出させた後, 3.75%(v/v)硫酸4.6mlおよび脱イオン水2mlで溶出, 洗浄する. 硫酸による溶出処理以後の流出液は, ミクロ分解ビンに採取され, ガス小焰直火で加熱して水分を除去し, 白煙が立ちはじめたら分解ビン直火からはずし, 冷却後60%過塩素酸2~3滴を添加して, さらに加熱を続け, 内容が無色になって後, 引き続き15分間以上加熱を続けて, シリアチン態リンの灰化を完了した. そして, 無機態リンはChen and Toribaraの方法⁽²⁰⁾により比色定量された. なお, ³²P-シリアチンの放射能測定にあたっては, 以上の定量法のスケールを1/5に縮小(活性炭20mg, Dowex 50×4 0.4ml)し, シリアチンの溶出は20%ピリジン2.5mlで行ない, 溶出液は直接, 放射能測定用試料皿に受け, 赤外線ランプ下で乾燥し, G-Mカウンタにより計測された.

b) カルシウムの定量: a)の項で述べられている方法に従って試料を調製し, このうちの一定量を微製ルツボにとり, 電気炉にて600°Cで24時間, 灰化を行ない灰化完了後, 濃塩酸3mlに溶解し, 脱イオン水で希釈し, そのカルシウム濃度が1~10ppmになるように調整した. ただし, この希釈液は同時に0.5%ランタン溶液になるよう調整された. このようにして調製された試料希釈液を用いて, 原子吸光度法⁽²¹⁾によりカルシウム含量が測定された.

c) リンの定量: リン量として1~10μgを含む試料と濃硫酸4滴をミクロ分解ビンにとり, a)における硫酸による溶出処理以後の流出液について実施したのと同じ方法により湿式灰化し, 比色定量⁽²⁰⁾を行なった.

実験結果および考察

1. ³²P-シリアチンを成長中のシロネズミの腹腔内に注射し, 24時間後屠殺して採取した種々の臓器および組織(脳下垂体, 目, 脳, 甲状腺, 顎下腺, 外涙腺, 心臓, 肺臓, 胸腺, 横隔膜, 脾臓, 胃, 肝臓, 盲腸, 結腸と直腸, 小腸, 腎臓, 副腎, 貯精のう, 膀胱, 骨〔胫骨, 腓骨, 大腿骨〕, 後肢筋, 血液), 糞および尿の塩酸加水

分解物について, ^{32}P -シリアチン態リン ($\text{C-}^{32}\text{P}$) と ^{32}P -全リン ($\text{T-}^{32}\text{P}$) を測定し, その結果を Fig. 1 に示した. 糞および尿中への排泄量は, それぞれ投与量の 8.3% および 29.6% で, 残りの 62.0% が体内に保留された. Fig. 1 で見られるように, この体内保留分のうち肝臓が最も多く, 投与量の 17.5%, ついで腎臓 1.23%, 小腸 0.20% の順であり, その他の各組織に関しては微量ではあるが含まれていた. このことから, シロネズミに摂取されたシリアチンは, 量的には差があるが, ほとんどすべての臓器および組織へ取り込まれることが明らかとなった.

$\text{T-}^{32}\text{P}$ に対する $\text{C-}^{32}\text{P}$ の百分率 ($\text{C-}^{32}\text{P}/\text{T-}^{32}\text{P}$) をみると, 骨が 37.2% で最も低く, 糞が 87.1% で最も高かった. 体内組織におけるシリアチンの代謝を考えると, マウスの肝臓や腎臓にはアミノホスホン酸の C-P 結合を切る酵素は存在しないという Ryzkov らの報告⁽²²⁾から, シリアチンは体内のいずれかの組織で脱アミノされることが推測される. 一方, *E. coli* はメチルホスホン酸, あるいはエチルホスホン酸を唯一のリン源とする培地で生育できるという Zelensnick らの報告⁽²³⁾, シリアチンを唯一のリン源として生育できる細菌を反芻動物の腸内細菌から分離したという玉利らの報告を⁽²⁴⁾はじめ, 現

在 C-P 結合切断能力を持つ微生物が多数知られるようになったという事実を考え合わせると, シロネズミの糞中に排泄された放射能の一部は, 恐らく腸内微生物により変化を受けた物質であろう. さらに, 湿組織単位重量当りの取り込み量について見ると, 肝臓が 91 cpm/mg と最も多く, ついで脳下垂体 48 cpm/mg, 腎臓 36 cpm/mg の順であった (Fig. 1).

脳下垂体, 甲状腺および副腎の値が肝臓や腎臓に匹敵するほど高かったが, それらの全組織重量当りの取り込み量はきわめて少なく, かつそれらの全組織重量がきわめて小さいことを考慮すると, これらの値は, かなり変動する可能性をもっているといえよう.

2. ^{32}P -シリアチンを成長中のシロネズミの腹腔内へ注射し, 注射後 0.5 時間から 128 時間にわたって経時的に採取した肝臓の塩酸加水分解物について, $\text{C-}^{32}\text{P}$ と $\text{T-}^{32}\text{P}$ を測定し, その結果を Fig. 2 に示した. Fig. 2 で見られるように, 投与 4 時間後にシリアチンの取り込み量は, 投与量の 18.6% と最も多く, それ以後は時間の経過とともに漸次減少したが, 投与 128 時間後でもその取り込み量は投与量の 5.8% を示していた. $\text{C-}^{32}\text{P}/\text{T-}^{32}\text{P}$ (%) については, かなりの変動が見られたが, 64 時間以後再び高くなっていく傾向が見られた. これらのことから, シリアチンは肝臓に取り込まれるのみならず, なんらかの変化を受けない限り, 貯留されやすい性質をもつことが推測される.

Fig. 1. ^{32}P -Ciliatine Incorporation into Rat Tissues Twenty-four Hours after an Intraperitoneal Administration.

Dosages of $\text{ca. } 10^8 \text{ cpm}/\mu\text{g. P}$ as ciliatine were administrated to rats (body wt. approx. 110g) intraperitoneally. Each bar is the mean of three rats.

Fig. 2. Time Course of Incorporation of ^{32}P -Ciliatine into Rat Liver (●—●) and Ciliatine- $^{32}\text{P}/\text{Total-}^{32}\text{P}$ in Rat Liver (●---●).

Dosages of $\text{ca. } 10^2 \text{ cpm}/\mu\text{g. P}$ as ciliatine were administrated to rats (body wt. approx. 110g) intraperitoneally. Each point is the mean of three rats.

シリアチンの取り込み量が最も多かった投与4時間後の肝臓の各種リン画分について調べたところ、肝臓全体へ取り込まれた $C-^{32}P$ の 97.2% が酸可溶性画分に存在し、脂質画分には 2.3% と少なく、核酸および蛋白質画分では、さらに少なかった。シリアチンの取り込み量が最も少なかった投与128時間後の肝臓では、酸可溶性画分のそれが投与4時間後に比べて、74.1% とかなり減少していたが、脂質画分に関しては逆に 25.6% と約 11 倍にも増加し、蛋白質画分に関しても 0.3% とやや増加した (Fig. 3 A)。また、各種リン画分中の $C-^{32}P/T-^{32}P$ (%) を見ると、投与128時間後では核酸画分を除いてはいずれも投与4時間後のそれらに比べて高い値を示した (Fig. 3 B)。以上のことから、肝臓ではシリアチンは最初主として酸可溶性画分に取り込まれるが、時間が経過すると、他のリン画分、特に脂質画分へ取り込まれていくことが示され、ヒトの肝臓にシリアチンが存在し、その蓄積形態としては、脂質ないし蛋白質に結合している

Fig. 3. Distribution of ^{32}P -Ciliatine (A) and Ciliatine- ^{32}P /Total- ^{32}P (B) Incorporated into Rat Liver after an Intraperitoneal Administration.

Dosages of *ca.* 10^2 cpm/ μ g. P as ciliatine were administrated to rats (body wt. approx. 110g) intraperitoneally. Each bar is the mean of three rats.

* Fractionated by the method of Schneider.

形が推測されるという Alhadeff らの報告⁽¹⁴⁾と考え合わせると興味深い。また Rosenberg らは、シリアチン含有脂質 (ホスホノリピド) の合成は Kennedy⁽²⁵⁾ のホスホリピド合成経路、すなわち CMP-シリアチン (CDP-エタノールアミンのホスホン酸アナログ) の中間体を経て合成されることをテトラヒメナについて報告⁽²⁶⁾しているが、Fig. 3 の結果、すなわち時間の経過とともに、酸可溶性画分から脂質画分へとシリアチンが移行していることは、シロネズミの肝臓においても、ヌクレオチド結合シリアチン (CMP-シリアチン) の中間体を経て、ホスホノリピドが合成されている可能性も十分考えられ、高等動物におけるホスホノリピドの生合成経路の研究に興味をもたれる。

3. 3つの区、すなわち対照区、低リン区およびシリアチン添加区を設けて、成長中のシロネズミを長期間飼育し、飼料摂取量、体重増加量、種々の臓器および組織へのシリアチンと無機態リンの取り込み、およびそれらのカルシウム含量を調べ、さらにX線全身撮影を行なった。その結果、飼料摂取量は食餌組成の相違による顕著な差は見られず、3区のネズミとも、1日の給餌量 15g をほぼ完全に摂取した。体重増加量について見ると、試験飼料給与後 20 日目頃までは、3つの区で大きな差は

Fig. 4. Body Weight Changes of Rats Fed the Control Diet (●), the Low Phosphorus Diet (○) and the Low Phosphorus + Ciliatine Diet (×).

Rats (body wt. approx. 50 g) were fed for forty-two days. Each point is the mean of three rats.

認められなかったが、それ以降は対照区に比べて低リン区のネズミの体重増加量に減少が現われ始め、42日目では顕著な差となって現われた。シリアチン添加区でも、対照区のネズミに比べて、体重増加量に減少が見られたが、その減少の程度は低リン区のその約 1/2 であった (Fig. 4)。骨 (後肢骨) および血清のリン含量について、試験飼料給与後 42 日目の低リン区では、対照区のそれに比べて、かなり大きな減少が認められたが、シリアチン添加区では、ほぼその中間の減少にとどまった。カルシウム含量に関しては、3 区の間でそれほど顕著な差異は認められなかったが、対照区に比べ低リン区では、わずかに低く、シリアチン添加区では、その中間の値が示された (Table II)。なお、対照区の動物で見られた飼料摂取量、体重増加量および種々の臓器および組織のリン含量とカルシウム含量は、ほぼ正常な値であった^(17,18)。X線全身撮影像についてみると、低リン区のネズミでは、対照区に比べて透過度がやや高く、全体的に映像が弱々しく見えるが、シリアチン添加区のそれは対照区と比べて大差が認められなかった。それゆえ、シリアチン添加区においては、低リン区において見られた種々の異常や変化、すなわち体重増加量の減少、骨および血清リン含量の減少、骨のカルシウム沈着の劣化を抑

Table II. Phosphorus and Calcium Contents of Tissues of Rats Fed the Control Diet, the Low Phosphorus Diet and the Low Phosphorus + Ciliatine Diet

Tissue	Diet		
	Control	Low-P	Low-P + ciliatine
Brain	314.0*	310.3	336.4
Heart	314.0	163.7	183.2
Liver	260.8	238.8	246.0
Kidney	198.7	233.2	158.5
Skeletal muscle	229.1	229.5	246.4
Blood serum	13.2 (12.0)**	9.1 (10.9)	11.7 (11.5)
Bone	10,640.7 (20,988.1)	9,056.8 (17,623.0)	9,716.3 (18,625.0)

* Mg total P per 100 g fresh weight,

** Mg total Ca per 100 g fresh weight.

制する効果が、ある程度認められると考えられる (Fig. 5)。以上のことから、シロネズミにシリアチンを長期間、かなり高い濃度で投与しても、みかけ上毒性を示さず、むしろシリアチンは普通有効と認められているリン化合物の一部を代替する効果をもつことが示唆された。

シリアチン添加区のネズミにおけるシリアチンの貯留については、各組織 100 g 中では肝臓が 17 mg と最も多

く、ついで骨 (後肢骨) 8 mg, 脳 6 mg, 腎臓 5 mg の順であった (Fig. 7)。このことからシリアチンは、肝臓をはじめ多くの臓器および組織にかなり高い濃度で貯留されることが明らかとなった。肝臓の各種リン画分についてシリアチンの蓄積を調べたところ、肝臓へ取り込まれたシリアチンの 92% が脂質画分と酸可溶性画分に存在し、それぞれ 60% と 32% を示し、他のリン画分においても、わずかではあるが貯留が見られた (Fig. 6)。シリアチン添加区のシロネズミに摂取されたシリアチンは肝臓、特にその脂質画分に多量に貯留され、また脳にもかなり貯留されることが明らかとなった。シリアチン含有脂質の生合成に関与する酵素系は、基質特異性を持たず、レシチンやケファリンの生合成との間に識別がないことを示した Bridge らの報告⁽²⁷⁾があり、またスフィンゴミエリンの代わりにセラミドシリアチン (スフィンゴ型のシリアチン含有脂質) を多量に含有する動物の発見⁽²⁸⁾から、セラミドシリアチンは単にス

Fig. 5. X-Ray Photograph of Rats Fed the Control Diet (7), the Low Phosphorus Diet (1) and the Low Phosphorus + Ciliatine Diet (3).

Rats on the low phosphorus diet showed comparatively higher transmittance and weaker figure than those on the control diet. But, rats on the low phosphorus + ciliatine diet showed no recognizable difference from those on the control diet.

フィンゴミエリンと量的補償関係にあるのではなく、高等動物の神経におけるスフィンゴミエリンの生理的機能のように、セラミドシリアチンもなんらかの役割を果たしていることが示唆されていることなどを考え合わせるとシロネズミの肝臓や脳に取り込まれたシリアチンは、非特異的に脂質成分として組み込まれていき、特に脳においてはセラミドシリアチンとして組み込まれ、スフィンゴミエリンと同様、生理的に重要な役割を果たしていることが推測される。

Fig. 6. Distribution of Ciliatine Accumulated in Liver of Rats Fed the Low Phosphorus + Ciliatine Diet.

Rats (body wt. approx. 50g) were fed for forty-two days. Each bar is the mean of three rats.

Fig. 7. Ciliatine Accumulation in Rat Tissues on the Low Phosphorus + Ciliatine Diet.

Rats (body wt. approx. 50g) were fed for forty-two days. Each bar is the mean of three rats.

要 約

テトラヒメナにより生合成された ^{32}P -シリアチンを成長中のシロネズミの腹腔内に1回投与し、種々の臓器および組織へのシリアチンの取り込みを調べ、特にその取り込み量が多かった肝臓について、シリアチンの取り込みの経時的变化を明らかにし、さらに長期間シリアチンを連続経口投与し、種々の臓器および組織へのシリアチンの貯留およびその生理的效果を調べた。

(1) シリアチンは、ほとんどすべての臓器および組織へ取り込まれ、なかでも肝臓が最も多く、ついで腎臓、小腸、後肢筋、後肢骨の順で、それぞれ投与量の17.5%、1.23%、0.20%、0.07%、0.06%であった。湿組織単位重量当りの取り込みは、湿組織全重量当りの取り込みと同様、肝臓が最も高かった。

(2) 肝臓へのシリアチンの取り込みは、投与4時間後が最も高く、それ以後は時間の経過とともに漸次減少したが、投与128時間後でも、投与量の5.8%が存在していた。また $\text{C-}^{32}\text{P}/\text{T-}^{32}\text{P}$ (%) は、投与64時間以後むしろ高くなっていく傾向が見られた。これらのことからシリアチンは肝臓へ取り込まれるのみならず、なんらかの変化を受けない限り、貯留されやすい性質を持つことが推測される。

シリアチンの取り込み量が最も多かった投与4時間後の肝臓と、投与128時間後の肝臓の各種リン画分について、肝臓全体の $\text{C-}^{32}\text{P}$ に対するそれぞれの $\text{C-}^{32}\text{P}$ の百分率を見ると、投与128時間後の酸可溶性画分の値が、投与4時間後のそれに比べて、かなり減少しているのに対して、脂質画分や蛋白質画分では逆に増加の傾向が見られた。さらに、各種リン画分の $\text{C-}^{32}\text{P}/\text{T-}^{32}\text{P}$ (%) を見ると、投与128時間後では核酸画分を除いて、投与4時間後に比べていずれも高い値が示された。これらのことから、肝臓におけるシリアチンは、最初主として酸可溶性画分に取り込まれ、時間が経過すると他の画分、特に脂質画分へ取り込まれていくことが明らかにされた。

(3) シリアチンをかなり多量に連続経口投与して

も、みかけ上毒性が現われず、むしろ普通のリン化合物の一部を代替する効果をもつことが認められた。この実験でシリアチンは、肝臓をはじめ種々の臓器および組織にかなり高い濃度で貯留され、特に肝臓においては、脂質画分に多く含まれることが判明した。

終りにのぞみ、本研究に際し種々ご助言とご指導を賜った、東北大学農学部堀口雅昭助教授に謝意を表する。

- (1) M. Horiguchi and M. Kandatsu : *Nature*, **184**, 901 (1959).
- (2) J. S. Kittredge, A. F. Isbell and R. R. Hughes : *Biochemistry*, **6**, 289 (1967).
- (3) E. Baer and N. Z. Stanacev : *J. Biol. Chem.*, **239**, 3209 (1964).
- (4) J. S. Kittredge and R. R. Hughes : *Biochemistry*, **3**, 991 (1964).
- (5) 堀口雅昭 : 蛋白質 核酸 酵素, **12** (4), 315 (1967).
- (6) L. D. Quin : *Science*, **144**, 1133 (1964).
- (7) H. Rosenberg : *Nature*, **203**, 299 (1964).
- (8) W. W. Baldwin and J. Breven : *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **48**, 603 (1968).
- (9) L. Simon, J. Myers and M. Mednicks : *Biochim. Biophys. Acta*, **103**, 189 (1965).
- (10) T. Myers, K. Nakamura and J. Fleisher : *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3292 (1963).
- (11) H. Shimizu, Y. Kakimoto, T. Nakajima, A. Kanazawa and I. Iso Sano : *Nature*, **210**, 113 (1966).
- (12) M. Kandatsu and M. Horiguchi : *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 781 (1965).
- (13) J. A. Koning : *Nature*, **210**, 113 (1966).
- (14) J. A. Alhadeff and G. D. Daves, Jr. : *Biochemistry*, **9**, 4866 (1970).
- (15) 山口迪夫, 神立 誠 : 生化学, **38** (8), 549 (1961).
- (16) W. E. Schneider : *J. Biol. Chem.*, **161**, 293 (1945).
- (17) H. Schneider and H. Steenbock : *ibid.*, **128**, 159 (1939).
- (18) R. M. Bethke, C. H. Kick and W. Wilder : *ibid.*, **98**, 389 (1932).
- (19) G. M. Kosolapoff : *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 2112 (1947).
- (20) P. S. Chen, T. Y. Toribara and H. Warner : *Anal. Chem.*, **28**, 1756 (1956).
- (21) H. E. Parker : *Atomic Absorption News Letter*, **13**, May (1963).
- (22) V. L. Ryzkov, M. I. Kobachnick and L. M. Tarasevick : *Doklady. Akad. Nauk. SSSR.*, **98**, 849 (1954).
- (23) L. D. Zelenznick, T. C. Mayers and E. B. Titchener : *Biochim. Biophys. Acta*, **78**, 546 (1963).
- (24) M. Kandatsu, M. Horiguchi and M. Tamari : *International Biochemical Congress, Seventh, 1967 (August)*.
- (25) E. P. Kennedy and S. B. Weiss : *J. Biol. Chem.*, **222**, 193 (1956).
- (26) C. R. Liang and H. Rosenberg : *Biochim. Biophys. Acta*, **125**, 548 (1966).
- (27) R. G. Bridge and J. Ricketts : *Nature*, **211**, 119 (1966).
- (28) T. Hori, O. Itasaka, M. Sugita and I. Arakawa : *Mem. Fac. Liberal. Arts. Shiga. Univ.*, **17**, 23 (1967).