U.D.C. 612.461.2

31. 秋谷七郎, 本橋信夫: 有機酸摂取による尿成分の変化について (第 2 報)

クエン酸又は酢酸の摂取が尿中クレアチニン量及びその他各種形態窒素
に及ぼす影響について

Shichiro Akiya and Nobuo Motohashi: Studies on the Effect of
Organic Acid on the Change of Urine Components. II.
Effect of Citric Acid or Acetic Acid on the Creatinine and
Various Nitrogen Contents in Urine.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo)

Effect of the ingestion of citric or acetic acid on the creatine and creatinine, total nitrogen, ammonia nitrogen, amino nitrogen, urea, and uric acid in the urine was examined by human tests of the writer himself. It was thereby found that the ingestion of citric or acetic acid did not give any marked changes on the amount of creatine, while the decrease was noted in the amount of creatinine, ammonia nitrogen, and uric acid, and a tendency for the increase in the amount of total nitrogen, amino nitrogen, and urea. From these results, the decrease in the amount of creatinine and increase in the amount of urea were found to be significant and the ingestion of citric or acetic acid was thought to influence metabolism in the human body.

(Received August 8, 1955)

先に著者等はクエン酸が生体内物質代謝に何等かの影響を与えるものと考え、クエン酸及びその他の有機酸を摂取して人体実験を行い、クエン酸又は酢酸の摂取が尿 pH 値の上昇を来し、特に摂取後 2 時間で最も上昇することを発見し且つ尿中乳酸量が著しく減少を示すことが認められ、酒石酸及び乳酸の摂取ではこれらの事実は認められなかつた。これらの結果より Krebs cycle 説にもとづく考察を行い、クエン酸又は酢酸の摂取がそれぞれ体内の Krebs cycle の進行に影響を与え、ビルビン酸の酸化がより円滑に行われた結果ビルビン酸より乳酸生成の減少従つて尿中乳酸排泄の減少、更に尿中酸性物質の減少による pH 値の上昇となると考えた。今回更にクエン酸又は酢酸の摂取が尿中クレアチニン、クレアチニン量及び各種形態窒素に及ぼす影響について実験し、得た結果より考察を行つた。

実験方法

採 尿 第 1 報に同じ。

尿の比重及び pH 値の測定 第 1 報に同じ。

尿中クレアチニン及びクレアチンの定量 アルカリ性でクレアチニンにピクリン酸を作用させ Jaffe 反応により発現する赤色を 470 m μ で定量し、各濃度のクレアチニン標準液 1.0 cc にピクリン酸飽和溶液 20 cc, 10% 水酸化ナトリウム液 1.5 cc を加え 10 分間放置後水を加え全量 25 cc とし、470 m μ で検量曲線を描き、検尿 1.0 cc を同様にして発色させその吸光度より尿中既成クレアチニンを定量。次ぎに検尿 1.0 cc をとり N 塩酸 1 cc を加えて加圧下 130°, 20 分加熱後放冷、これにアルカリ性ピクリン酸溶液 (ピクリン酸飽和溶液 5 部 + 10% 水酸化ナトリウム液 1 部) 5 cc を添加し、8~10 分間放置後 25 cc に希釈、前記既成クレアチニンと同様に測定し、これを総クレアチニンとする。尿中クレアチン (mg/cc) = (総クレアチニン - 既成クレアチニン) $\times$ 1.159 である。

尿中総窒素の定量 検尿 1.0 cc をとり直ちにセミミクロケルダール法により定量。

尿中アンモニア窒素の定量 検尿 5 cc をとり炭酸カリウム飽和溶液 5 cc を加え、通気法により 0.02 N 硫酸中に導入固定し通気終了後過剰の酸を 0.01 N 水酸化ナトリウム液で滴定。

尿中アミノ窒素の定量 検尿 1 cc をとり直ちに Van Slyke アミノ窒素定量装置を用い反応時間 5 分間に発生する窒素ガスを測定、アミノ窒素を求めた。

尿中尿素の定量 尿素にキサントヒドロールを作用させて生ずるジキサンチル尿素を重量法¹⁾により定量。

1) Lieb-Zacherl: Z. physiol. Chem. **223**, 169(1934).

2) Kikuchi: Biochem. Z. **156**, 35(1925).

検尿 10 cc を水で 100 cc に希釈, 氷酢酸 35 cc を加え, 更に 10% キサントピドロール・メタノール溶液 5 cc を滴下し (1 cc の滴下に 10 分間を要す), 振盪. 1 時間放置後, 生じた沈澱をグラスフィルターで濾過, 95% エタノール 20 cc で洗い 100~105° で乾燥, 秤量. 尿素 (g/100 cc 尿) = ジキサンチル尿素 $\times 1.428$ である.

尿中尿酸の定量 燐タングステン酸試薬及び cyanide-urea 試薬により発色する青色を 700 m μ で定量^{3,4)}. 10 倍に希釈した尿 1 cc に N/12 硫酸 8 cc を加え, これに振盪しつつ 10% タングステン酸ソーダ溶液 1 cc を滴下し混和後濾過. 濾液 2.5 cc に水 2.5 cc を加えビュレットより cyanide-urea 試薬 (20% 尿素溶液 20 cc にシアンソーダ 1 g を溶解) 3 cc を添加, 燐タングステン酸試薬 ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100 g, Na_2HPO_4 20 g に水 500 cc を加えて加熱溶解し, これに 25% 硫酸 100 cc を攪拌しつつ添加し 1 時間煮沸後冷却, 水を加えて 1 L としたもの) 1 cc を混和し水を加えて 15 cc とする. 直射光をさけて室温に 1 時間放置後 700 m μ で定量. 同時に水 5 cc 及び尿酸標準液 (0.01 mg/cc) 1 cc に水 4 cc を加えたものを同様に処理. この値と予め尿酸標準液について求めた検量曲線とより尿中尿酸を定量した.

実験結果

尿中クレアチニン及びクレアチン量 “うどん” 600 g 摂取を対照とし, これと同時に重炭酸ソーダ 3 g, クエン酸 2 g 及び 3 g, クエン酸 2 g + 重炭酸ソーダ 2 g, クエン酸 5 g + 重炭酸ソーダ 2 g, 酢酸 2 g 及び酢酸 2 g + 重炭酸ソーダ 1 g を摂取した場合の 2 時間後の尿について pH 値, クレアチニン量及びクレアチン量を定量. 各例何れも 3 回ずつ実験を行いその平均結果を Table I, Fig. 1 に示した.

Table I. Creatinine and Creatine Contents in Urine

Urine	pH	Creatinine (mg./cc.)	Creatinine mean value	Total creatinine (mg./cc.)	Total creatinine mean value	Creatine (mg./cc.)
N 600 g	6.00	0.88 0.86 0.81	0.85	0.90 0.88 0.86	0.88	0.03
N 600 g NaHCO ₃	7.00	0.77 0.75 0.73	0.75	0.83 0.80 0.74	0.79	0.04
N 600 g Citric acid 2 g	6.40	0.38 0.38 0.35	0.37	0.43 0.39 0.38	0.40	0.03
N 600 g Citric acid 3 g	6.40	0.34 0.30 0.29	0.31	0.36 0.34 0.32	0.34	0.03
N 600 g Citric acid 2 g NaHCO ₃ 2 g	6.80	0.36 0.33 0.33	0.34	0.40 0.36 0.35	0.37	0.03
N 600 g Citric acid 5 g NaHCO ₃ 2 g	7.00	0.38 0.37 0.33	0.36	0.42 0.39 0.36	0.39	0.03
N 600 g Acetic acid 2 g	6.80	0.30 0.26 0.25	0.27	0.33 0.31 0.29	0.31	0.04
N 600 g Acetic acid 2 g NaHCO ₃ 1 g	7.00	0.33 0.30 0.28	0.30	0.37 0.30 0.29	0.32	0.02

N : Noodles.

Fig. 1. Creatinine Contents in Urine

1. N 600 g
2. N 600 g + NaHCO₃
3. N 600 g + Citric acid 2 g
4. N 600 g + Citric acid 3 g
5. N 600 g + Citric acid 2 g + NaHCO₃ 2 g
6. N 600 g + Citric acid 5 g + NaHCO₃ 2 g
7. N 600 g + Acetic acid 2 g
8. N 600 g + Acetic acid 2 g + NaHCO₃ 1 g

3) E. B. Newton: J. Biol. Chem. **120**, 315(1937).

4) H. Brown: Ibid. **158**, 601(1945).

尿中各種形態窒素量 “うどん” 600 g 摂取を対照とし、これと同時にクエン酸 5 g+重炭酸ソーダ及び酢酸 2 g+重炭酸ソーダを摂取した場合の 2 時間後の尿について総窒素、アンモニア窒素、アミノ窒素、尿素及び尿酸を定量 (Table II, Fig. 2).

Table II. Various Nitrogen Contents in Urine

Urine	Total urine (cc.)	Specific gravity	pH	Total nitrogen (mg./100 cc. urine)	Ammonia nitrogen (mg./100 cc. urine)	Amino nitrogen (mg./100 cc. urine)	Urea (g./100cc. urine)	Uric acid (mg./100cc. urine)
N 600 g	110	1.015	5.80	270 258	6.4 6.0	39.0 37.6	1.59 1.67	20.4 21.5
	150	1.012	6.20	260 263	6.3 6.0	38.5 37.6	1.72 1.64	23.0 19.2
				268	5.8	37.8	1.78	20.9
	Mean Value			263	6.1	38.1	1.68	21.0
N 600 g Citric acid 5 g NaHCO ₃	120	1.015	6.80	296 308	2.8 2.7	42.7 43.2	2.03 2.09	17.6 17.1
	160	1.018	7.00	304 300	2.4 2.4	41.5 40.6	1.96 1.95	16.8 19.2
				299	2.2	40.6	1.92	18.3
	Mean value			301.4	2.5	42.0	1.99	17.8
N 600 g Acetic acid 2 g NaHCO ₃	120	1.014	6.80	295 293	3.4 3.6	43.3 44.4	1.87 1.88	16.7 15.8
	150	1.018	7.00	290 298	3.6 3.8	44.8 42.8	1.90 1.89	18.1 16.9
				289	3.3	44.7	1.96	17.5
	Mean value			293.8	3.5	44.0	1.92	17.0

N : Noodles

Fig. 2.
Various Nitrogen
Contents in Urine

考 察 尿中クレアチニン及びクレアチニン量の変化は Table I の如く、クレアチンは何れの場合でも 0.02 ~ 0.04 mg/cc で顕著な変化が認められないが、クレアチンはクエン酸又は酢酸を摂取した場合に 0.3 mg/cc 内外を示し他に比して尿中排泄が減少する。元来クレアチンは健康人体内でクレアチニンに移行し、この両者は何れも尿に排泄されるが通常クレアチニンが多くクレアチンの成人尿中への出現は極めて少ない。尿中クレアチニンは組織のクレアチンのみから生成されこの転化は非可逆的であり⁵⁾、またクレアチンは生体内で容易にクレアチニンを生成する⁶⁾。これらより考えれば、クエン酸又は酢酸の摂取による尿中クレアチニン排泄の減少は生体内におけるクレアチンよりクレアチニン転化が減少するためではなからうか。動物組織中の酸化反応と phosphorylation とが共転する事実に関しては従来幾多の研究が行われ、ビルビン酸から出発する Krebs cycle の酸化過程と phosphorylation が共転することが明らかになったが、これは酸化により放出される高エネルギー磷酸結合

5) Bloch, Schoenheimer, Rittenberg: J. Biol. Chem. **138**, 155(1941).6) Borsook, Dubnoff: Ann. Rev. Biochem. **12**, 187(1943).

の利用を示すものである。これら Krebs cycle の進行により放出される高エネルギー燐酸は ATP の生成を経て、グルコースまた過剰の場合はクレアチンを燐酸受容体とする。本実験でクエン酸又は酢酸の摂取が Krebs cycle の進行に影響を与えるとすれば、ここに放出される高エネルギー燐酸は一部は phosphorylation の進行となり、一部はクレアチン燐酸の生成となるであろう。このためクレアチンよりクレアチニンの生成が減少し、⁷⁾尿中クレアチニン排泄の減少となつたと考えられる。更にクレアチン燐酸のクレアチニン転化に伴う燐酸⁷⁾の尿中排泄も減少し、これが尿 pH 値上昇の一因と考えられる。

クエン酸又は酢酸を摂取した場合の尿中各種窒素態に及ぼす影響は、対照に比し総窒素、アミノ窒素及び尿素の排泄が増加し、アンモニア窒素及び尿酸が減少している。この尿中総窒素量の増加及び尿素量の増加は生体内栄養素の代謝に関連して注目すべき点と考える。Krebs⁹⁾は先に生体内尿素の生成についていわゆる ornithine cycle を明らかにしたが、この反応は吸熱反応であつて肝臓におけるグルコース、フルクトース及びピルビン酸の酸化により促進され組織が酸化能を失えばこの反応は起らない。更に Cohen^{9), 10)}はこの ornithine cycle 即ち尿素の合成に Krebs cycle の関与を証明している。これら生体内蛋白質代謝の最終産物である尿素の生成に Krebs cycle が関与していることは極めて意義のあることで、クエン酸又は酢酸の摂取により Krebs cycle の進行に影響を及ぼし従つて更に ornithine cycle にも及ぶと考えるならば、尿中尿素の排泄増加は妥当な現象と思われる。尿中の酸性物質は通常アンモニア塩を形成して排泄されるが、クエン酸又は酢酸の摂取により尿中の乳酸等酸性物質が減少するため必然的に尿中アンモニアも減少すると考えられ、またこのアンモニア排泄の減少は生体内でのアンモニア生成源である尿素及びアミノ酸の分解が減少することを示し、尿中尿素及びアミノ酸排泄が増加する一因ともなると考えられ、これらの間には相互の関連性があると思われる。尿酸は人間及び猿におけるプリン体の最終代謝産物であるが、一般にこの尿中排泄は体細胞核の崩壊と一部摂取食物に由来するとされている。クエン酸又は酢酸の摂取による尿中尿酸の減少は、核酸及び核蛋白質等の崩壊の減少及びプリン体の体蛋白質への同化の結果と考えられるが、この尿酸の減少については今後更に研究検討の要がある。

結 論 著者等はクエン酸又は酢酸を摂取し、尿中に出現するクレアチン、クレアチニン、総窒素、アンモニア窒素、アミノ窒素、尿素及び尿酸等の各種形態窒素量に及ぼす影響について実験を行つた。その結果クエン酸又は酢酸を摂取した場合は対照に比し尿中クレアチン量に顕著な変化は認められず、クレアチニン量、アンモニア窒素、尿酸量が減少し、総窒素、アミノ窒素、尿素量が増加する傾向を認めた。以上の結果のうちクレアチニン量の減少と尿素量の増加は特に意義のあるものと認め、クエン酸又は酢酸の摂取が生体内物質代謝に好影響を与えたものと考え、これらについて考察を行つた。

東京大学医学部薬学科

7) 秋谷, 本橋: 日本法医誌 4, 185(1950).

8) H. A. Krebs: Z. physiol. Chem. 210, 33(1932).

9) P. P. Cohen, H. Mika: J. Biol. Chem. 170, 687(1947).

10) P. P. Cohen, H. Mika: Ibid. 172, 405(1948).