

ビタミンB₆欠乏ラットと 尿中遊離アミノ酸排泄について

金 行 孝 雄
黒 田 正 清

はじめに

哺乳動物の体内でビタミンB₆はピリドキサール-5'-ホスフェイトを生成する。このビタミンB₆酵素は多くの基礎的研究が報告されており、アミノ酸のα位のプロトンが転移する反応、アルキル基移動に伴なう反応やアミノ酸脱炭酸反応に関係し、ビタミンB₆欠乏動物とトリプトファンの代謝¹⁾やシスタチオニンの代謝²⁾はよく知られている。

アミノ基転移については、微生物と植物にはすべてのアミノ酸に対応する Amino acid trans aminase が存在し、動物では必須アミノ酸のうち、リジン、ヒスチジンおよびスレオニンに対する transaminase はほとんど存在しないことが報告されている。

1953年Meister³⁾はB₆欠乏シロネズミ肝臓中のB₆-酸素が変動するといっている。また、1966年Thiele ら⁴⁾もB₆欠乏シロネズミ諸臓器でGPTの変動することを報告している。

われわれはB₆-欠乏動物肝臓中の Amino acid transaminase の変動と体内遊離アミノ酸の間に何か関係があるのではないかと推定し、B₆欠乏による栄養障害を起したラットを作成し、尿中遊離アミノ酸の定量を行ない、対照群と比較し、B₆欠乏群でグリシンとアラニンの排泄が低下し、他のすべてのアミノ酸の排泄が増加した結果を得たので報告する。

実験方法

1. 実験動物

ウィスター系ラット（雄、体重約80g）を用い、6匹ずつ2グループに分け、1グループはB₆欠乏飼料を与え、他のグループはオリエンタルラット飼育用固型飼料を与えた。両グループとも自由採食、自由給水とした。

2. B₆欠乏飼料

オリエンタル酵母工業株式会社で作製し表1・2に示す成分のものを使用した。

表1 ビタミンB₆欠乏飼料配合割合

コーン・スターチ	38%
ビタミン・フリーカゼイン	25
α-小麦デンプン	10
濾紙粉末	8
リノールサラダ油	6
マツカラムNo185塩	6
グラニュー糖	5
ビタミン混合	2
合 計	100

表2 ビタミンB₆欠乏飼料中のビタミン混合のビタミンの割合

ビタミンA	1,000Iu	ビオチン	0.04mg
ビタミンD ₃	200Iu	葉酸	0.4mg
ビタミンB ₁	2.4mg	パントテン酸カルシウム	10.0mg
ビタミンB ₂	8.0mg	P.アミノ安息香酸	10.0mg
ビタミンB ₁₂	0.001mg	ニコチニ酸	12.0mg
ビタミンC	60.0mg	イノシトール	12.0mg
ビタミンE	10.0mg	コリン塩酸塩	400.0mg
ビタミンK ₃	10.4mg		

3. 採尿

代謝ケージを用い、欠乏飼料で飼育し初めてから、29, 30日の尿を採取しろ過して使用するまで-20°Cのフリーザーに保存した。

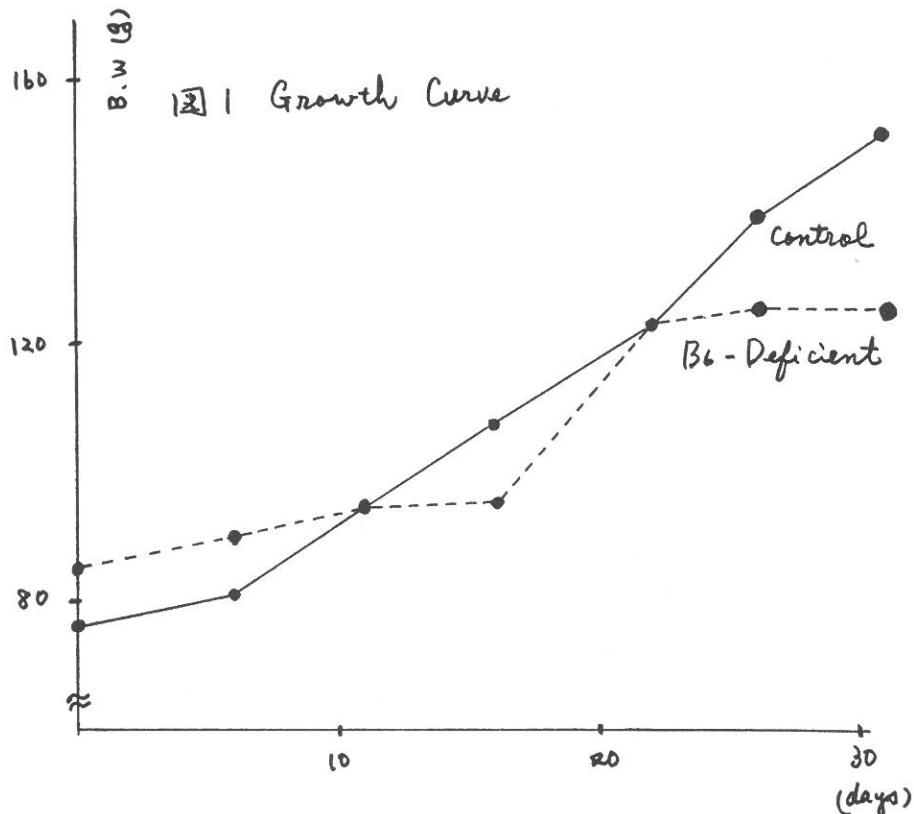
4. 尿中アミノ酸の分析

amino acid analyser を使用した。

実験結果

1. B₆欠乏ラット

表1, 2に示したB₆欠乏飼料で4週間飼育し、図1に示す体重曲線を得た。B₆欠乏区のラットは欠乏食で飼育後、22日目頃より体重の増加がなく粗毛となり紫斑が現われ、明らかな栄養障害を認め、欠乏と判定した。



2. Amino acid analyser による尿中遊離アミノ酸の定量

アミノ酸の分析は Stein and More⁵⁾ の方法に準拠し, Amino acid analyser を用いて分析した。

図2に Amino acid calibration mixture のチャートを示す。

図2 Amino acid calibration mixture

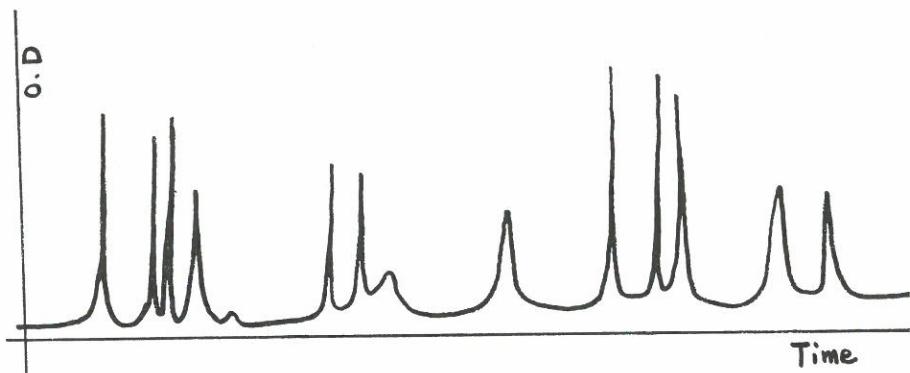


図3の上段がB₆-欠乏ラット, 下段がコントロールラットのそれぞれの尿中遊離アミノ酸分析のチャートです。コントロール尿中には他のアミノ酸と比較してグリシンとアラニンが多量に排泄されている。

図3 ラット尿中遊離アミノ酸定量チャート

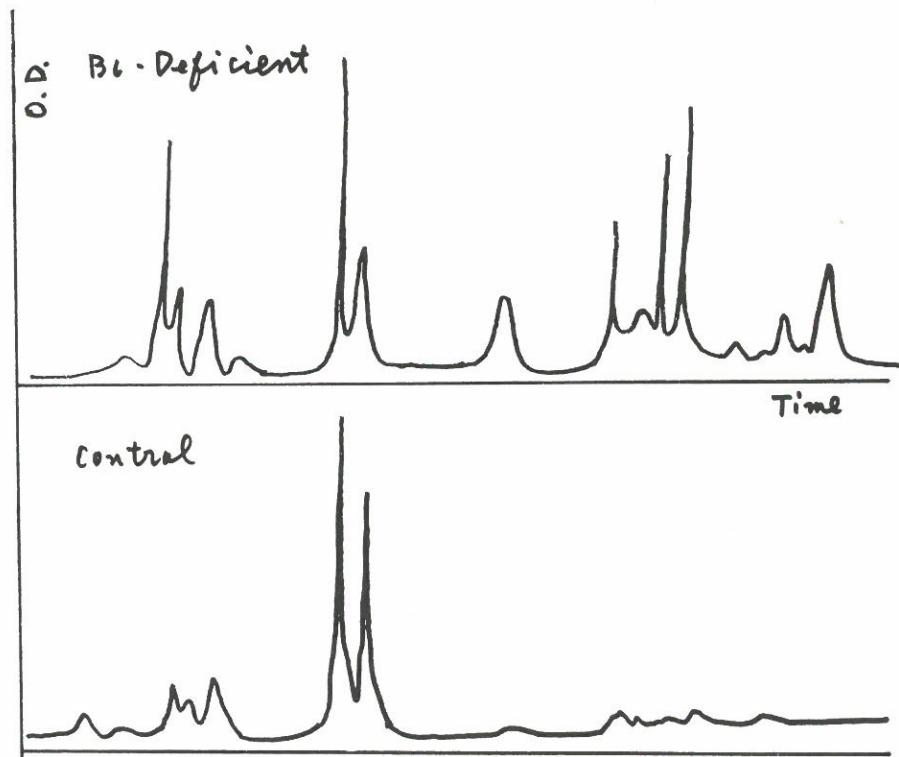


表3に対照群とB₆欠乏群の尿中遊離アミノ酸量を示す。

表3 ラット尿中の遊離アミノ酸量 ug/day

Aminoacid	Control	B ₆ -Deficient	Amino acid	Control	B ₆ -Deficient
Asp	0.09	0.11	Met	—	1.72
Thr	0.37	4.12	Ileu	—	3.65
Ser	0.25	1.26	Leu	0.11	4.08
Glu	0.43	1.66	Tyr	—	0.68
Pro	—	0.68	Phe	—	2.48
Gly	8.31	6.73	Lys	0.23	0.25
Ala	2.37	2.10	His	—	0.01
Cys	—	—	Arg	—	0.02
Val	0.01	1.88			

結論および考察

B₆欠乏ラットは単に栄養障害が現われた時点を欠乏状態とした。

表3に示す尿中遊離アミノ酸の分析値をB₆欠乏群と対照群で比較すると、対照区では、グリシン8.31ug/day、アラニン2.37ug/dayであるのに対して、B₆欠乏群では、グリシン6.73ug/day、アラニン2.10ugとそれぞれ、B₆欠乏群の排泄が低下している。他のアミノ酸においては対照群が約10倍以上の排泄値を示した。

特に必須アミノ酸についてみるとB₆欠乏群ではスレオニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシンおよびフェニルアラニンの排泄が著明に増加している。

この結果は、動物におけるスレオニンのトランスアミネースはほとんど存在しないことから、B₆欠乏動物のアミノ酸トランスアミネースと尿中の遊離アミノ酸の関係は直接B₆-酵素が関与して変動したかどうかどうか判明しない。B₆欠乏により他に障害が現われ、二次的に尿中遊離アミノ酸の排泄が増加したことを示唆していると考える。

文 献

- 1) Kotake, Y. : J. Biochem., 41, 255 (1954)
- 2) D. B. Hope : Biochem. J., 66, 486 (1957)
- 3) Meister, A., et al : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 82, 301 (1953)
- 4) V. F. Thiele and M. Brin : J. Nutr., 90, 347 (1966)
- 5) Moore, S. and Stein, W. H : J. Biol. Chem., 211, 907 (1954)