

琉球大学学術リポジトリ

[原著]特異動的作用(SDA)の発現機構に関する研究(Ⅱ):
栄養素による肝組織の発熱機構とSDAの起源について

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学保健学部 公開日: 2014-07-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安里, 龍, 安良城, 旬子, 新城, 澄枝, 桜井, 隆, Asato, Liew, Arashiro, Junko, Shinjo, Sumie, Sakurai, Takashi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016296

特異動的作用(SDA)の発現機構に関する研究(II)

—栄養素による肝組織の発熱機構とSDAの起源について—

琉球大学保健学部保健栄養学教室

安里 龍・安良城 旬子・新城 澄枝・桜井 隆

序 論

特異動的作用(SDA)の発現には、種々の要因が関与しているが、¹⁻³⁾ 就中、食物の構成成分の違いによって強く影響される。⁴⁾ この場合食物の構成成分の加重平均をそのまま反映しないとされている。⁵⁾ その原因として、第一報にも述べたように、組織器官が個々の栄養素に対してそれぞれ発熱特異性や代謝特性を持っていることによると推測した。また第一報において特にタンパク合成が盛んな臓器で発熱量が高いことから、SDAはタンパク合成に強い関わりを持つ可能性があることを指摘しておいた。⁶⁾

上述のような観点から前報同様微量熱量計を用い、添加する栄養素を前報において用いたグルコースや必須アミノ酸—グリシン系の外に必須アミノ酸群および非必須アミノ酸群等々に別け、組織切片はkrebsの尿素合成仮説⁷⁾なども考慮してSDAと最もつながりの深い肝臓に限定してSDAの発現機構について検討したので報告する。さらにタンパク合成系と発熱の関係を明らかにするためにタンパク合成を抑制するピュ

ーロマイシンを添加して、⁸⁾ 肝切片が上記栄養素群と混和した際の発熱量への影響についても観察した。

実験装置および材料

1. 実験装置

本実験で使用した微量熱量計およびその構成についてはくわしく第一報に記しておいた。

2. 実験材料

1) 実験動物; 体重200~250gのウィスター系の白ネズミを用いた(雌雄を特に考慮しなかった)使用に際して48~72時間絶食させ、断頭放血し第一報に記したように肝切片を調整した。

2) 試薬(試薬は全て特級品を用いた)

グルコースおよびアミノ酸溶液またグルコースおよび必須アミノ酸—グリシン系の肝切片との混和後の濃度は第一報に示した如くである。必須アミノ酸群および非必須アミノ酸群の肝切片との混和後の濃度は表1に示した値になるように予め高い濃度の溶液を調製しておいた。溶媒はkrebs-Ringer重炭酸塩溶液を用いた。

Table. 1 Amino acid constituents added to the incubation medium

ESSENTIAL —GLY*		ESSENTIAL*		NON — ESSENTIAL*		UREA CYCLE**	
ARG***	8.0	ARG***	13.9	ALA	10.4	NH ₄ ⁺	9.0
HIS***	4.0	HIS***	6.2	ASP	1.7	ASP	99.8
ILE	5.5	ILE	5.2	ASN	2.0	ORNITHINE	21.0
LEU	12.3	LEU	5.2	CYS — CYS	1.6	GLUCOSE	180.0*
LYS***	22.3	LYS***	20.5	GLU	7.7		
MET	7.1	MET	6.0	GLN	7.4		
PHE	8.7	PHE	6.6	GLY	48.8		
THR	5.4	THR	11.9	PRO	7.5		
TRY	1.8	TRY	8.2	SER	5.5		
VAL	6.1	VAL	9.4	TYR	0.01		
GLY	10.0						
SUM	91.2		93.1		92.4		

* mg / dl

** mM

*** HCl 塩

3) ピューロマイシン溶液

0.01m molesおよび0.02m moles 量のピューロマイシン-2塩酸塩 (Boehringer Mannheim GmbH, W-Germany) を krebs-Ringer 重炭酸塩溶液 4.5mlに溶かした。混和後の濃度は 2mM および 4mMである。

実験方法

1. 試料セル中の浮置条件

肝切片の調製は前報と同じ方法で行われ、浮置条件についても第一報に示したとおりである。ただし、肝切片 500mgは試料セル中の検体室のみに入れた。対照セルの検体室には入れなかった。この方法により基質添加後の発熱量の絶対値が測定できる。

グルコースおよび各アミノ酸群の濃度は肝切片と混和した後で表 I の濃度になるように調製した。アミノ酸群にグルコースを添加する場合にも、肝切片と混和した後の濃度は表 I に示した値である。

2. ピューロマイシン添加実験における浮置条件

ピューロマイシン溶液中に肝切片を浮置する場合は、肝切片を秤量した後、予め37°Cに保温しておいた別のピューロマイシン溶液 2mM、または 4mM溶液中に10分間浮置した後、試料セルの中へ前報同様溶媒をろ紙で拭った後挿入した。

3. 尿素合成系の再構成⁹⁾

尿素合成系を組み立てるための基質は、表 I にあるように混和後の濃度はアンモニウム塩 9.0mM、アスパラギン酸 99.8mM およびオルニチン 21mM となる

Table. II Thermogenesis from rat liver slices incubated with different composition of nutrients (mcal/mg./30 min).

ESSENTIAL AMINO ACID - GLY	○							
ESSENTIAL AMINO ACID		○		○		○		○
NON-ESSENTIAL AMINO ACID			○	○			○	○
GLUCOSE					○	○	○	○
HEAT AMOUNT	98	79	77	90	47	164	56	90
UREA SYNTHESIS	26							

Open circle indicate the added substrates in the incubation medium.

ようにした。この場合グルコースはエネルギー源として添加した。

4. 反応の開始

反応の開始は第一報同様レコーダー上での基線の勾配が感度 100μV で零になるのを待って (約 2時間を要す) 行った。

5. 発熱量の計算

第一報に報告したように基準熱量による発熱量との比から算出した。

Table. III Effect of puromycin on the heat generation from rat liver slices (mcal / 30 min.).

PUROMYCIN	HEAT AMOUNT	PERCENT SUPPRESSION
NO ADDITION	113	—
2 mM	104	8.0
4 mM	64	43.4

INCUBATION MEDIUM : ESSENTIAL AMINO ACID - GLY

結 果

1. 添加基質に対する肝切片の発熱量

表 II には①必須アミノ酸-グリシン系、②必須アミノ酸群、③非必須アミノ酸群、④グルコース、⑤必須アミノ酸群と非必須アミノ酸群の混合物、⑥必須アミノ酸群とグルコース、⑦非必須アミノ酸群とグルコースの混合物、および⑧必須アミノ酸群、非必須アミノ酸群及びグルコースの混合物をそれぞれ溶液中に、肝切片を浮置した際に生ずる発熱量を、肝切片30分間にとり込まれた栄養素の1mgに対する値(mcal/mg/30min)として表わした。この値は、対照室には肝切片を加えていないので、肝切片がだす発熱量の絶対値である。表 II から明らかなようにアミノ酸群系では必須アミノ酸-グリシン系が 98mcal/mg/30min と一番高い発熱量を示した。次に高いのは必須アミノ酸であり、非必須アミノ酸は一番低い値を示していた。一方グルコースによる発熱は他の値に比べて低かった。混合系では必須アミノ酸群-グルコース系が最も高く、164mcal/mg/30min を示していた。また尿素合成系については、26mcal/mg/30min とわずかししか発熱がみられなかった。

2. ピューロマイシン添加による発熱量の変動

必須アミノ酸-グリシン系による発熱量は 113mcal

／30minであった。ピューロマイシンを添加することによる発熱量は、ピューロマイシンの濃度が2mMの際は104mcal／30min、4mMでは64mcal／30minとなっていた。ピューロマイシン添加による発熱量の抑制をパーセントであらわすと、2mMでは8.0%、4mMでは43.4%になっていた。

考 察

アミノ酸ではグリシン、アラニンおよびフェニールアラニンがSDAを高めるという報告があり、¹⁰⁾ 特にその中でもグリシンが顕著であるといわれている。¹¹⁾ 本実験においても必須アミノ酸—グリシン系が発熱量が大きい点からみても、これはグリシン添加による発熱量の増大とみられ、SDAに対する影響と同様な効果がでているものと考えられる。

ところで必須アミノ酸が一つでも欠けると窒素平衡が負になることや、幼児の成長がかなり阻害されることが知られている。このようなことは必須アミノ酸がタンパク合成と深い係りを持っていることを示している。しかし非必須アミノ酸であっても、グリシンなどは急速な成長期にかなり要求されることが明らかにされている。¹²⁾ 以上のことを考慮すると本実験において必須アミノ酸—グリシン系が高い発熱量を伴っていることはタンパク合成がSDAに深く関与していることを示唆しているといつてよいであろう。

一方グルコースのみによる発熱量は一番低いが、これにアミノ酸群を混じた場合発熱量が増加している。特に必須アミノ酸群とグルコース混合物による発熱量が著明に高く、164mcal/mg／30minを示している。このことは力源としてグルコースが解糖系を経てミトコンドリアで酸化され、そのエネルギーがATP、GTPなどを生成し蓄積され、さらにそれにアミノ酸が添加されると、ATP、GTPなどにたくわえられたエネルギー（ $\sim p$ ）がタンパク合成のため消費され、その際に熱の生成を伴ってくるものと解釈される。その点グルコースのみを添加した場合の発熱量が少ないのは糖が解糖系、TCA cycleを経て酸化され、酸化的リン酸化が行われる過程でATP産生へとりこまれたエネルギーは発熱量としては現れず、有効なエネルギーとして蓄積される。即ちジュール熱として出る部分（fraction）がタンパク合成などで $\sim P$ が利用される過程に比べ比較的少ないものと考えられる。これはエールリッヒ腹水癌を用いた発熱実験で、癌細胞を酸素の存在下にグルコースと混和浮置する際 $\sim P$ 産生をおさえる除共役剤である2・4ジニトロフェノ

ールの存在下では著しい発熱量が観察されるという実験結果とも矛盾しない。¹³⁾

一方タンパク合成阻害剤であるピューロマイシンを添加すると、例えば2mMおよび4mMの存在下において、それぞれ8%および43%の発熱抑制効果が現われている。このようなピューロマイシンの効果はタンパク合成に発熱が伴っていることを明らかに示すものであり、グルコースと比較した場合の発熱量の差はタンパク合成に起因するものと言える。

KrebsはSDA、特にタンパク質、アミノ酸による著明なSDAの発現を尿素合成系におけるATP消費の結果であるとの仮説を提唱した。これを検証するため尿素合成系を再構成し、⁹⁾ 発熱量を測定したが、意外にも低く、このことはKrebsの仮説を否定するものである。これは尿素合成自体がタンパク合成に比べ量的に少ないことを考慮すると一応理解できるが、生体が老廃物の排泄過程ではエネルギーを節約するようにしくまれているのかも知れない。前報⁶⁾ において高タンパク食では肥満が起らないと言う事実而言及しておいたが、低栄養状態からの回復期や成長速度と関連してSDAについてAshworthは興味深い報告を提出している。¹⁴⁾ 即ち栄養失調（Protein—calorie Malnutrition, 略号；PCM）からの回復期にある幼児と回復後の幼児に対し、195カロリー（タンパク質4.5g）または146カロリー（タンパク質3.3g）を与えたところ回復期にある幼児では両食に対し食後1～1.5時間で基礎代謝が最高に達し、およそ30%も増加した。一方回復後の幼児では同じメニューの食事に対しこのような増加はなかった。このような事実はPCMからの回復期に摂取した食物成分の多くはタンパク合成に利用されその結果SDAの上昇となって現われると推測される。反面、回復後はタンパク合成の速度が低下しその結果SDAも低下すると考えられる。いずれにしろ食後タンパク合成の急増（spurt）現象がSDA上昇を惹起すると言えよう。

このような観点から本研究の結果を考察するに、肝臓などのタンパク合成の盛んな臓器や組織では熱効率を犠牲にするというよりむしろ、必然的な熱放散（Obligatory heat release）を伴いタンパク合成が行われ、その結果SDAが現われるということができる。以上のことを生体エネルギー論的に総括してみると図Iのようにまとめられる。すなわち栄養素の代謝により得られるエネルギーの流れを $\sim P$ 産生を伴う過程と産生された $\sim P$ が他の目的即ち、生合成や中間代謝に利用される過程とにわけると、SDAによる熱

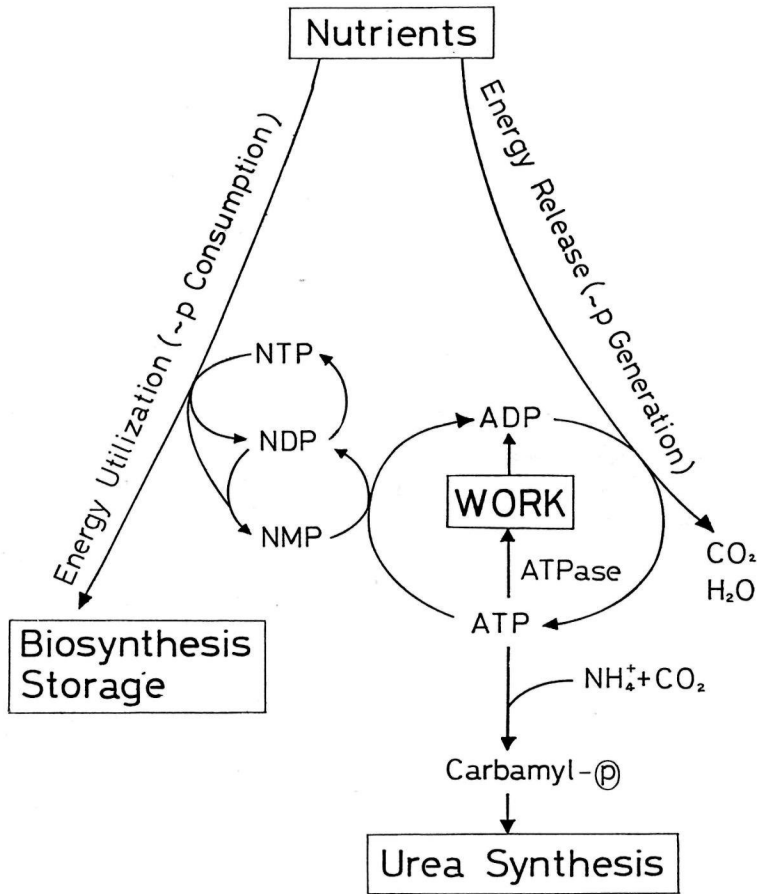


Fig. I Summary of the energy flow in the nutrient metabolism.

産生は前者よりもむしろ後者即ち生体の目的を達するため、換言すれば負のエントロピー産生 (negative entropy production) のため必然的に要求される過程に付随して現われる効果であると考えてよいであろう。

一方食物摂取後の代謝亢進、即ち特異動的作用は、栄養学的に全く利用されないものとして摂取カロリーの決定において補正されねばならないとされている。食品中のタンパク質がS D Aの主体をなすことを考慮すると、タンパク合成に伴う発熱過程がS D Aに関係して問題となる摂取カロリーの補正因子と深い係わりをもつと考えられる。この場合、タンパク合成に伴う過程を2つに分類して考えなければならない。即ち先ずアミノ酸の活性化からATP, GTPを消費してペプチドを合成する過程と合成されたペプチドが二次構造、三次構造を経て機能性タンパク質分子となる過程

である。後者はタンパク合成過程では二次的過程に属するが、生体側からみると最も重要な段階とも考えられ、エンタルピー、エントロピー及び自由エネルギーの変化を伴って安定な生体高分子 (low energy conformation) になっていく過程である。この場合生成する熱は摂取カロリーの補正と無関係であるから、前者と後者の割合が問題である。勿論前者の方が大きいと考えられるが高次構造、特に所謂 "low energy compact conformation" に至る過程で著しいエンタルピーの変化があるのでタンパク合成の盛んな組織では無視できないことになる。¹⁵⁻¹⁹⁾

以上のように複雑な因子もからんでいるのでS D Aの本質はホルモンや神経系の関与した代謝調節系全体の動力学の中で把握されねばならないが、本実験の結果はタンパク合成の過程がS D Aの発現機構の主要なものである事を暗示していると言えよう。

また尿素合成系による発熱は少ないところから、SDAは排泄過程よりむしろ同化過程に随伴するものと考えらるべきであろう。

田中らは²⁰⁾²¹⁾SDAの発現を、タンパク質代謝に先だつ糖代謝によると報告している。この事実は、我々の今回の実験結果にみるように機能的に言って糖質代謝はアミノ酸からタンパク質に至る過程へのエネルギー供給源となっていると解釈すれば、今日まで種々の説が唱えられてきたSDAに関する発現機構が矛盾なく説明できると考えられる。

要 約

1) 微量熱量計を用いて、肝臓切片がアミノ酸群、グルコースおよびそれらの混合物と混和した際に生ずる熱量を測定した。その結果発熱量(m cal/mg/30 min)は次のような順序になっていた。

$$\begin{array}{ccccccc} G & G & E & & G & & \\ + & > + & \sim + & > E & > NE & > + & > G \\ E & + & NE & & & & NE \\ & & NE & & & & \end{array}$$

但し、Gはグルコース、Eは必須アミノ酸群、NEは非必須アミノ酸群を示す。

2) 肝臓切片は必須アミノ酸-グリシン系と混和することにより113mcal/30minの熱を生ずるが、これにピュロマイシンを2mM、または4mM添加することにより、発熱量がそれぞれ8%、および43%抑制された。

3) 肝臓切片が栄養素と混和した際に発する熱は以上の事からタンパク合成と深い関係があることを強く示唆するものと考えられる。その際グルコースはアミノ酸がタンパク質になる過程で力源として利用される可能性が高い。

4) 尿素合成系を再構成して、その発熱量を測定した。発熱量はアミノ酸や糖を添加した場合に比べ少なかった。これはSDAが尿素合成系におけるATPの消費に関係ありとするH, A, Krebsの仮説を否定する結果である。

5) SDAの発現をタンパク合成等のanabolic processに由来すると解釈すれば、これまで論争の多かったSDAの起源に関して、矛盾なく説明がつくと考えられる。

文 献

1) 安里 龍, 桜井 隆: 特異動的作用の起源をめぐって, (I), 臨床栄養, 50, 305, 1977.

- 2) 安里 龍, 桜井 隆: 特異動的作用の起源をめぐって, (II), *ibid*, 50, 405, 1977.
- 3) 安里 龍, 桜井 隆: 特異動的作用の起源をめぐって, (III), *ibid*, 50, 505, 1977.
- 4) Rubner, M.: *Die Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung*. Leipzig, 1902.
- 5) Harper, H. A., Rodwell, V. W., Mayes, P. A.,: *Review of Physiological Chemistry*, 16th Ed. p 546, Lange Medical Publications, California. 1977.
- 6) 安里 龍, 安良城旬子, 新城澄枝, 桜井 隆: 特異動的作用(SDA)の発現機構に関する研究(I) 一栄養素による諸臓器組織の発熱量と特異動的作用の関連について一, 琉球大学保健医学雑誌, 1, 6~13, 1978.
- 7) Krebs, H. A.,: *The metabolic fate of amino acids In "Mammalian protein metabolism"*, vol 1, p125-176, Munro, H. N, and Allison, J. B. Eds., Academic Press, N. Y., (1964).
- 8) Nathan, D.,: *Puromycin inhibition of protein synthesis: The incorporation of puromycin into peptide chains*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, 51, 585-592, 1964.
- 9) 勝沼恒彦, 佐伯武頼, 勝沼信彦: 無細胞系における物質代謝の研究法実例, 「代謝および酵素II, 医学実験法講座, 2B, 和田 博編集, p 128-132, 中山書店, 東京, 1971.
- 10) Wilhelmj, C. M., Bollman, J. L.,: *The SDA and Nitrogen elimination following intravenous administration of various amino acids*. *J. Biol. Chem.* 77, 127-149, 1928.
- 11) Mulert, E.,: *SDA of intravenously injected amino acids*, *Arch. ges. physiol. (Pflüger's)* 221, 599-604, 1929.
- 12) Davidson, S., Passmore, R., Brock, J, F.,: *Human Nutrition and Dietetics*, 5th Ed. p56, Churchill Livingstone, London, (1972).
- 13) 安里 龍, 安良城旬子, 新城澄枝, 桜井隆: エールリッヒ腹水癌細胞をモデルとした真核細胞における発熱機構と特異動的作用の起源に関する研究,

- 第55回日本生理学会大会発表予定, 新潟, 1978.
- 14) Ashworth, A., : Metabolic rates during recovery from Protein-Calorie Malnutrition: The Need for a New Concept of Specific dynamic action. *Nature*, **223**, 407-409, 1969.
- 15) 大井龍夫: タンパク質化学第3巻, 高次構造, 安藤鋭郎, 他編 p 349-432, 共立出版株式会社, 東京, 1973.
- 16) Timasheff, S. N., : Structure and Stability of Biological Macromolecules, Marcell Dekker, INC., New York, 1969.
- 17) 高木俊夫: タンパク質化学第3巻, 高次構造, 安藤鋭郎, 他編 p 349-432 共立出版株式会社, 東京, 1973.
- 18) 伊勢村寿三: タンパク質化学第3巻, 高次構造, 安藤鋭郎, 他編 p 521-626 共立出版株式会社, 東京, 1973.
- 19) Isogai, T., Nemethy, G., Scheraga, H. A., : Enkephalin; Conformational analysis by means of empirical energy calculations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **74** (2), 414-418, 1977.
- 20) 矢野敦雄, 田中武彦 タンパク質の特異動的作用の機序, 臨床化学シンポジウム, **11**, 216-221 1971.
- 21) 矢野敦雄: タンパク質の特異動的作用の機序, 大阪大学医学雑誌, **24**, 51-61, 1972.

Abstract

Studies on the Origin and Mechanism of Specific Dynamic Action (II)

— On the mechanism of thermogenesis
in liver slices and the origin of SDA —

LIEW ASATO, JUNKO ARASHIRO, SUMIE SHINJO and TAKASHI SAKURAI

Department of nutrition, College of Health Sciences, University of the Ryukyus.

The amounts of heat generated by the liver slices incubated with glucose, amino acids, and glucose-amino acid mixtures were measured by using a micro-calorimeter.

The order of magnitude in thermogenesis of the tissue slices with the various kinds of substrate composition, was as follows:

$$G + E > G + E + NE \approx E + NE > E > NE > G + NE > G$$

where G stands for glucose, E for essential amino acid group and NE for non-essential amino acid group, respectively.

Forty seven mcal. of heat per 30 minutes which was generated by liver slices incubated with essential amino acids-glycine mixtures was suppressed by 8 and 43 per cent in the presence of 2mM and 4mM of puromycin, respectively.

The results mentioned above indicate that the relatively higher heat generation in the presence of glucose plus essential amino acid group would involve the contribution of the process of biosynthesis, particularly of the protein synthesis. In this case, glucose might have a role on supplying energy on the anabolic process.

The amount of heat generated by the liver slices in the reconstructed system of urea synthesis was unexpectedly smaller than those in any other systems. This result apparently contradicts H. A. Krebs' hypothesis that urea synthesis is mainly responsible for the origin of SDA.