

Title	TryptophanおよびPhenylalanineの過剰投与による血中Vitamin Cの変動
Sub Title	Studies on the change of blood vitamin C content by oral administration of an excess amount of tryptophan and phenylalanine.
Author	宮本, 貞一 (Miyamoto, Sadaichi) 三島, 和子 (Mishima, Kazuko) 田丸, 美也子 (Tamaru, Miyako) 回陽, 栄子 (Kaiyo, Eiko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1965
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.10 (1965. ) ,p.24- 27
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000010-0024">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000010-0024</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

**Tryptophan および Phenylalanine の過剰投与による血中 Vitamin C の変動**

宮本貞一, 三島和子, 田丸美也子, 回陽栄子

Studies on the Change of Blood Vitamin C Content  
by Oral Administration of an Excess Amount of  
Tryptophan and Phenylalanine.

Sadaichi MIYAMOTO, Kazuko MISHIMA, Miyako TAMARU, and Eiko KAIYO

An observation was made on the changes in the blood vitamin C content of a guinea pig after oral administration of an excess amount of tryptophan and phenylalanine. The blood vitamin C content was found to increase by tryptophan and to decrease by phenylalanine.

Vitamin C (V.C) は比較的早期に発見されたにもかかわらずその作用機序の詳細は今日なお明らかでない。V.C 欠乏症を結締組織に現われる組織学的変化の面についてのみ重視していた傾向から転じて生化学的代謝異常について注目せしめた最初の研究は Sealock, Silberstein ら<sup>1)</sup> の V.C 欠乏モルモットに tyrosine を与えて実験的 alcapton 尿を生ぜしめた実験であつた。以来 V.C と蛋白質, アミノ酸代謝との関係について数多くの研究が行なわれ, V.C の作用機序を一層明らかにしようとしている。Cooper<sup>2)</sup> はモルモット, ラットの腎および小腸から tryptophan の hydroxylation を触媒する酵素系を分離し, この酵素の cofactor は V.C および  $\text{Cu}^{++}$  であるとしている。須田<sup>3)</sup> は homogentisic acid の開裂反応に関与する homogentisicase が  $\text{Fe}^{++}$  を cofactor とし, その鉄の mobilization の面で V.C が重要な役割を演ずるとしている。また homogentisic acid のような物質が V.C 欠乏の結果体内に蓄積することは, これからキノン体が形成され有害な作用をもつようになると考えられることから, 宇山ら<sup>4)</sup> はこのような条件下でモルモットに容易に白内障を起こすことができるといつている。Tryptophan 投与が V.C 存在下に kynurenine を生ずることは *in vitro*<sup>5,6)</sup> および *in vivo*<sup>7)</sup> で報告されているが, Moriyama<sup>6)</sup> は V.C は酵素系を活性化するのではなく tryptophan 分子に直接反応して pyrole 環を開裂せしめるのであろうとしている。いずれにせよ tryptophan 代謝に V.C が密接な関係をもつことが想像される。V.C はまた phenylalanine にも関与し, 従つて tyrosine より DOPA, adrenaline 生成についてもなんらかの形で影響をもつであろうと思われる。

私共は V.C の作用機序を究明しようとしてアミノ酸のうち最も V.C が関与するであろうと考えられる tryptophan および phenylalanine をモルモットに投与してその血中 V.C 濃度の変動を測定しいささかの知見を得たので, その結果を報告する。

- 1) R. R. Sealock, H. E. Silberstein : J. Biol. Chem., **135**, 251 (1940).
- 2) J. R. Cooper : Ann. N. Y. Acad. Sci., **92**, 208 (1961).
- 3) 須田正己 : 生化学 **28**, 261 (1956).
- 4) 宇山安夫, 荻野周三, 他 : Medical J. Osaka Univ., **6**, 619 (1955).
- 5) K. Torii, T. Moriyama : J. Biochem., **42**, 193 (1955).
- 6) T. Moriyama : *Ibid.*, **44**, 289 (1957).
- 7) *Idem* : *Ibid.*, **44**, 293 (1957).

### 実験方法

1. 実験動物は体重 300 g 以上の雌モルモットをオリエンタル固型飼料 RC-5 で 1 週間以上飼育したものをを用いた。

2. Tryptophan および phenylalanine の投与量は成人女子 (体重 50 kg) に対する 1 日最低必要量<sup>8)</sup> をそれぞれ 0.16 g, 1.12 g としこれより体重 300 g のモルモットに相当する量を算出して 1.0 mg, 6.7 mg とし, その 10 倍量すなわち tryptophan 10 mg および phenylalanine 67 mg を投与した. 投与法は tryptophan 10 mg を希塩酸 1 滴を添加した酸性の水 1 ml に溶解し, 胃ゾンデを用いて口腔内に注入した. Phenylalanine 67 mg は少量の水に溶解しないため, 粉末のままミクロスパーテルで少量ずつ口腔内に投与した.

3. 採血法は心臓穿刺法を用いた. これによると動物を殺さずに無菌的に採血できる. モルモットの胸部～腹部をアルコール綿でよく消毒し, 人差指, 中指で心搏動の著明な位置を確かめ, 指を固定させる. 一般に心臓は左胸部というよりは正中線に近く胸骨下にある場合が多い. 予め煮沸滅菌した  $\frac{1}{2}$ ～ $\frac{1}{3}$  注射針を用い, 胸骨最下部よりやや下から突き上げる気持で肋間の軟部を静かに貫いて心臓の鼓動が針先に触れるまで人差指あるいは中指の方向に静かに刺し込む. 針先に鼓動が触れ, その方向に心臓があると思われたら, ここで少々強く針を突き刺して心臓内に入れる. 一度で入らない時, 胸腔内で針の方向をあちこち変えると動物を傷けることが多いので, 一たん針を抜きとり改めてやり直した. こうして 1 回の採血で 3～5 ml のシュウ酸塩添加血液を得た.

4. V.C の定量は Roe らの 2,4-dinitrophenylhydrazine 法<sup>9-12)</sup> に拠った. 血液 1.0 ml に水 8.0 ml を加え, さらに 2,6-dichlorophenylindophenol 0.3 ml を加えて V.C を酸化し, 30% メタ磷酸 1.0 ml を徐々に滴下, 充分混和して蛋白を沈殿せしめる. 1 時間放置後 24% SnCl<sub>2</sub> 0.7 ml および 30% メタ磷酸 1.0 ml を加え 15 分遠心分離し, 上澄液を濾過する. 2 本の共栓試験管に上澄液 4.0 ml ずつをとり, 一方に 2,6-dinitrophenylhydrazine (DNP) 液 1 ml 加え, 他方 (盲験) はそのまま, とともに 37°C に 3 時間放置後, 氷水で冷しつつ 85% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5.0 ml を徐々に滴下して 30 分室温に置く. 盲験も同様に 85% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加えた後, DNP 液を加えて混和し 30 分後 540 m $\mu$  で比色定量する.

### 実験結果および考察

#### 1. Tryptophan 投与群

全体を 2 群に分け, tryptophan 10 mg を 1 回投与して, その後交互に 3 日毎に採血し (1 匹については 6 日毎となる) 血中 V.C 濃度を定量した. その結果を Table I に示す.

#### 2. Phenylalanine 投与群

全体を 3 群に分け, phenylalanine 67 mg を 1 回投与し, その後 1 日目, 2 日目, 3 日目にそれぞれ採血し, 血中 V.C を定量して Table II に示す結果を得た.

Tryptophan 投与群と phenylalanine 投与群の血中 V.C 濃度は実に対象的な結果を示し, 前者では投与後わずかの例外を除いて血中 V.C は増加しているのに反し, 後者においては著明に低下している. Tryptophan 投与で V.C が血中に増加するのは, tryptophan の hydroxylation に V.C が cofactor として関与するという説<sup>2)</sup>と関連して考えられることであるし, 血中 tryptophan の値が V.C 添加によつて減少し<sup>13)</sup> tryptophan, tyrosine, histidine など

8) 宮本貞一: 生化学 p. 335 (1959).

9) J. H. Roe, C. A. Kuether: Science, 25, 77 (1942).

10) Idem: J. Biol. Chem., 147, 399 (1943).

11) J. H. Roe, M. Oesterling: Ibid., 152, 511 (1944).

12) J. H. Roe, et al.: Ibid., 174, 201 (1948).

13) K. Torii, T. Moriyama, I. Tsubomura, I. Shimamoto: Nara Igaku Zasshi, 8, 4 (1947).

Table I. Tryptophan 投与による血中 V.C の変動  
(V.C mg/dl)

経過日数 モルモット No.	投与前	3日	6日	9日	12日	15日	18日	21日	24日
1	0.69 (100%)		1.19 (172.5%)		1.03 (149.3%)		1.25 (181.2%)		1.52 (220.4%)
2	0.98 (100%)		1.09 (111.2%)		0.96 (97.9%)		1.13 (115.3%)		1.21 (123.7%)
3	0.89 (100%)		0.96 (107.8%)		1.09 (122.5%)		0.73 (82.0%)		1.14 (128.1%)
4	0.79 (100%)	0.40 (50.6%)		0.70 (88.6%)		0.66 (83.4%)		1.30 (164.6%)	
5	1.30 (100%)	1.19 (91.5%)		0.96 (73.8%)		1.49 (114.6%)		1.65 (126.9%)	
6	0.70 (100%)	0.70 (100%)		0.96 (137.1%)		0.79 (112.9%)		0.89 (127.1%)	
平均	(100%)	(80.7%)	(130.5%)	(99.8%)	(123.4%)	(103.6%)	(126.2%)	(139.5%)	(157.4%)

Table II. Phenylalanine 投与による血中 V.C の変動  
(V.C mg/dl)

経過日数 モルモット No.	投与前	1日	2日	3日
1	0.40 (100%)	0.33 (82.5%)		
2	0.11 (100%)	0.56 (50.5%)		
3	0.51 (100%)	0.33 (64.7%)		
4	0.80 (100%)	0.55 (68.7%)		
5	0.80 (100%)		0.48 (60.0%)	0.21 (26.3%)
6	0.80 (100%)		0.29 (36.3%)	
7	0.56 (100%)		0.56 (100%)	0.25 (42.9%)
8	0.72 (100%)			0.16 (22.2%)
9	1.08 (100%)			0.80 (74.0%)
10	0.88 (100%)			0.47 (53.4%)
11	1.33 (100%)			0.56 (42.1%)
平均	(100%)	(66.6%)	(65.4%)	(43.1%)

V.C 存在下に空気にさらすと各アミノ酸は V.C 添加量の増加に比例して減少する<sup>5)</sup>という報告などと一致する。そして tryptophan は V.C 体内貯留作用をもつともいえそうである。

これと反対に phenylalanine 投与群において血中 V.C 濃度が低下するのは、おそらく V.C 欠乏モルモットに tyrosine を与えてその尿に増加する homogentisic acid が V.C 投与により消失することによつても推測されるように、phenylalanine→tyrosine→DOPA 以後、種々の代謝過程に V.C が多量に必要とされるためであろう。Klinger<sup>14)</sup> は phenylalanine→tyrosine→DOPA の変化は零次反応で行なわれ、この際 V.C は破壊されず catalyst として作用するといっているが、phenylalanine 代謝の複雑な過程のどこかで V.C が大量に消費される個所があるように思われる。壊血病の幼児に phenylalanine の過剰量を投与すると phenylalanine それ自身および tyrosine やその代謝産物などが正常児に比し多量に尿中に排泄される<sup>15,16)</sup>という報告もある。Fellman ら<sup>17)</sup>によれば、人、牛、サル、ウサギ、モルモット、羊などの副腎には遊離 phenylalanine が高濃度に存在し、これは皮質より髄質に多い、そして髄質の切片を培養し V.C を添加することによつてより多くの tyrosine が得られたと述べている。さらに煮沸した切片も煮沸しない切片と同様に phenylalanine の hydroxylation が行なわれたといっているが、このあたりに V.C が phenylalanine 代謝に大きな weight をもつて関与していることを窺わせるものがある。

本研究に当り実験に協力された玉村静香、田中靖子および阿部邦子の諸嬢に感謝申し上げます。

- 
- 14) W. Klinger : Wiss. Z. Friedrich Schiller Univ. Jena/Thüringen, Math. Naturwiss. Reihe, 9, 545 (1959/60).  
 15) T. H. J. Huisman, J. H. P. Jonxis : Congr. intern. biochem., Résumés Communs. 3<sup>e</sup> Congr., Brussels 1955, 139.  
 16) J. H. P. Jonxis, T. H. J. Huisman : Maandschr. Kindergeneesk., 25, 130 (1956).  
 17) J. H. Fellman, M. K. Devlin : Biochem. et Biophys. Acta., 28, 328 (1958).