

鼠肝臓の再生に及ぼす Leucine と Isoleucine, Valine の拮抗作用の影響と Ethionine の影 響との比較

西 山 徳 平

蛋白質の栄養上其れを構成するアミノ酸特に必須アミノ酸の絶対量と共に相対量—相互比—が重要条件として考えられている今日或種の必須アミノ酸が過剰になった時動物にどんな影響があるかということは我々の知っておかなくてはならない事柄であるが之に些か関連し而も興味ある一報文が Pari D. Spolter and Alfred E. Harper によって Archives of Biochemistry and Biophysics. 100, 369~377 (1963) に発表されていたので其全文を紹介することにする。

緒 論

L-ロイシンを過剰に食餌に加えると低蛋白食で飼育された鼠の成長はひどく遅れる。併し其の成長遅延は食餌に比較的少量のイソロイシンとバリンを補うことによって余程予防せられる (Spolter 1961)。この事実はロイシンの過剰は鼠における蛋白質の合成を阻害することによりイソロイシンとバリンの拮抗物質として作用するのかも知れないということを暗示するものであった。再生中の鼠の肝臓は迅速に成長しつつある組織である。鼠の最大肝葉2個を切除すれば全肝臓の $\frac{1}{3}$ を占める残りの部分は若し其鼠が適当な食餌で飼育されるならば切除後4日にして元の肝臓重量の約75%迄大きくなる。再生はブラクチカリーには2週間で完結する。

(Higgins 1931), (Brues 1936)。此の様に非常に迅速な肝臓の成長—迅速な蛋白質の合成—は部分的肝臓切除後最初の数日中に起るものである。もし過剰のL-ロイシンが蛋白質の合成を阻害するならば部分的肝臓切除鼠における肝臓の再生速度は阻害されるであろうと思われた。

Gershbeim は1958年次の様な報告をしている。即ちエチオニンを含む食餌で飼育された鼠は自由食の対照鼠より肝臓の再生が少なかった。又予試験においては過剰のL-ロイシンは低蛋白食で飼育された部分的肝臓切除鼠の肝臓再生の速さを抑圧し其の結果再生の速さはイソロイシンとバリンを補足した同食餌で自由食飼育された対照群の速さより有意的に遅くなったと報告している。

ロイシンもエチオニンも共に食物摂取を抑圧するので我々はエチオニンと過剰ロイシンの肝

42 鼠肝臓の再生に及ぼすLeucineとIsoleucine,Valineの拮抗作用の影響とEthionineの影響との比較(69)

臓再生に及ぼす影響をペアフェッド (Pairfed) 対照群を含む実験で比較した。肝臓, 肝臓蛋白質, デゾキシリボ核酸 (DNA) 及びリボ核酸 (RNA) の再生量を測定した。

第 I 表 ロイシンとイソロイシン, バリンとの拮抗作用の肝臓再生に及ぼす影響

測 定	第一群 過剰ロイシン (食餌L)自由食	第二群 対照(食餌LⅣ) 自由食	第三群 対照(食餌LⅣ) ペアフェッド (Pair fed)	無蛋白食餌4日 (手術時)
部分的肝臓切除後4日				
鼠の No.	5	5	5	15
体重変化g	-13.6 ± 1.9 ^{a,c}	+ 2.4 ± 2.6	-15.6 ± 1.1 ^c	
総食餌摂取量g	20.7 ± 1.0 ^c	41.6 ± 3.7	20.7 ± 1.0 ^c	
肝臓増大量 ^b g	0.82 ± 0.03 ^{c,e}	1.14 ± 0.06	0.55 ± 0.06 ^e	
肝臓グリコーゲン, 含水肝臓に 対する%	2.6 ± 0.8	2.3 ± 0.4	0.6 ± 0.8	4.1 ± 0.3
肝臓蛋白質; 含水肝臓の%	10.9 ± 0.4	9.9 ± 0.2	13.1 ± 0.6	11.3 ± 0.2
再生量mg	340 ± 18 ^d	434 ± 23	325 ± 27 ^d	
Mg/100g (体重)	385 ± 17	387 ± 13	370 ± 13	458 ± 8
肝臓DNA; micromoles/g (含水肝臓)	1.89 ± 0.08	1.76 ± 0.07	2.29 ± 0.10	2.08 ± 0.02
再生量, μ moles, micromoles/100g (体重)	5.54 ± 0.37 ^d	7.53 ± 0.63	5.49 ± 0.37 ^d	8.52 ± 0.15
肝臓RNA; micromoles/g (含水肝臓)	4.50 ± 0.17	4.54 ± 0.30	4.95 ± 0.14	3.43 ± 0.07
再生量, μ moles, micromoles/100g (体重)	15.82 ± 0.46 ^f	17.77 ± 1.10	14.04 ± 0.61 ^d	14.03 ± 0.35
部分的肝臓切除後10日				
鼠の No.	5	5	4	14
体重変化g	- 1.2 ± 3.2	+21.6 ± 2.8	+ 3.2 ± 3.4 ^c	
総食餌摂取量g	93.0 ± 5.9 ^d	114.1 ± 4.5	90.7 ± 5.1 ^d	
肝臓増大量 ^{b,g}	1.26 ± 0.16	1.47 ± 0.09	0.99 ± 0.13 ^d	
肝臓グリコーゲン, 含水肝臓に 対する%	6.3 ± 0.5	6.4 ± 0.8	2.4 ± 1.2	3.4 ± 0.4
肝臓蛋白質; 含水肝臓の%	9.9 ± 0.3	10.0 ± 0.5	11.8 ± 0.6	11.6 ± 0.2
再生量mg	421 ± 33	485 ± 16	457 ± 8	
Mg/100 (体重)	361 ± 12	358 ± 7	385 ± 9	386 ± 8
肝臓DNA; micromoles/g (含水肝臓)	1.40 ± 0.07	1.37 ± 0.06	1.59 ± 0.08	1.94 ± 0.04
再生量, μ moles, micromoles/100g (体重)	5.25 ± 0.22 ^d	6.23 ± 0.20	5.61 ± 0.09 ^d	6.39 ± 0.12
肝臓RNA; micromoles/g (含水肝臓)	3.36 ± 0.10	3.50 ± 0.16	4.20 ± 0.25	3.66 ± 0.12
再生量, μ moles, micromoles/100g (体重)	15.13 ± 1.16	17.86 ± 0.45	16.53 ± 1.15	12.12 ± 0.48

部分的肝臓切除後 2 日				
鼠の No.	9	9	9	27
体重変化 g	-11.5 ± 1.2 ^e	- 3.6 ± 0.8	-11.2 ± 1.6 ^e	
総食餌摂取量 g	8.0 ± 1.1 ^e	15.0 ± 1.1	8.0 ± 1.1 ^e	
肝臓増大量 ^b g	0.41 ± 0.03 ^d	0.57 ± 0.04	0.39 ± 0.05 ^d	
肝臓蛋白質再生量	176 ± 20	196 ± 14	174 ± 14	
肝臓 DNA 再生量 μ moles	2.57 ± 0.23	3.10 ± 0.23	2.84 ± 0.23	
肝臓 RNA ; micromoles/g (含水肝臓)	5.22 ± 15	5.15 ± 0.23	4.56 ± 0.28	3.39 ± 0.09
再生量, μ moles	13.02 ± 0.97 ^f	14.65 ± 1.01	9.18 ± 1.36	
micromoles/100g (体重)	12.82 ± 0.69 ^f	13.31 ± 0.50	0.95 ± 0.50	13.68 ± 0.36

a = 平均値 ± 標準誤差 (平均値の)

b = 再生肝臓の乾物量

c = 自由食対照とは異なる P < 0.01

d = 自由食対照とは異なる P < 0.05

e = ペアフェッド対照とは異なる P < 0.01

f = ペアフェッド対照とは異なる P < 0.05

実 験

ホルツマン系の雄白鼠で体重175~205gのものを此の実験を通じて用いた。白鼠は一個宛吊した網底の籠に入れて水は自由に摂らせた。彼等を一樣の状態に持ち来しし个体差を最小にするために部分的肝臓切除を行う前4日間無蛋白食餌を投与した。蛋白合成の速さも部分的肝臓切除後蛋白質を含む実験食で飼育する時蛋白を減少させた(Protein depleted)鼠において蛋白を減少させなかった鼠より速かであった。(Rosenthal等1951)。手術時鼠の体重は156~185gであった。各群の最初の平均重量は各実験に於て3g以上の差はなかった。部分的肝臓切除はHiggins and Anderson法のPalli and Dumm変法に依って行った。

三群の鼠を各実験に用いた。

ロイシン実験(表I)に於て第一群はDiet L自由食で此の食餌はカゼイン9% DLメチオニン0.3%, L-ロイシン5%, L-グルタミン酸0.74%を含む。第二群は対照群であってDiet LIV自由食, 第一群と同食餌であったが只グルタミン酸は0.325%のDL-イソロイシンと0.3% DL-バリンで置き換えられた。第三群は第二対照群であって之も第二群と同じDiet LIVを投与されたが併し第一群とペアフェッドであった。グルタミン酸が第一群のDiet Lに加えられたのはDiet LとDiet LIVとを同N食餌にする為であった。

エチオニン実験(第II表)に於ては第一群は自由食で9%カゼイン, 0.25% DL-エチオニンを含む食餌を投与された。第二群は対照群で自由食, 第一群と同様9%カゼイン食餌を与えられたが只エチオニンは0.225%のL-グルタミン酸で置き換えられた。之は両食餌のN含量を等しくするためである。第三群は第二対照群であって第二群と同じ食餌を与えられたが併し第一群とペアフェッドであった。手術の時間は各個体毎に書きとめて置いた。そして手術後48,

96, 240 時間後にエーテルで殺して再生量を測定した。結果は表に示された通りである。

部分的肝臓切除で切除した肝葉と再生肝臓は各鼠について分析した。

肝臓は冷蒸留水で洗滌し濾紙で水分を吸取って秤量した。肝臓グリコーゲン測定の際は 40~70mg の組織を直ちに秤量し 0.5 ml の KOH 溶液の入った遠心分離管に入れた。グリコーゲンの測定は Hansen 等の方法に従って実施した。残りの肝臓又はグリコーゲンが定量されな

第 II 表 DL-エチオニンの肝臓再生に及ぼす影響 (表中 a, b, c, d 等は第 I 表と同様)

測定	第一群 0.25% DL- エチオニン 自由食	第二群 対照 自由食	第三群 対照 ペーアフエッド	無蛋白食餌 4 日 (手術時)
部分的肝臓切除後 4 日				
鼠の No.	10	10	10	30
体重変化 g	- 8.9 ± 1.4 ^{a,c}	+ 6.6 ± 1.1	- 6.7 ± 0.8 ^e	
総食餌摂取量 g	30.1 ± 1.7 ^e	50.4 ± 1.7	29.0 ± 1.3 ^e	
肝臓増大量 ^b , g	0.39 ± 0.02 ^{e,1}	1.13 ± 0.07	0.64 ± 0.03 ^e	
肝臓蛋白質 ; 含水肝臓の %	11.2 ± 0.3	10.3 ± 0.2	12.2 ± 0.4	10.7 ± 0.1
再生量 mg	234 ± 15 ^{a,1}	437 ± 21	371 ± 11 ^d	
Mg/100g (体重)	300 ± 10 ^{a,1}	381 ± 8	372 ± 6	459 ± 5
肝臓 DNA ; micromoles/g (含水肝臓)	1.76 ± 0.06	1.64 ± 0.05	2.11 ± 0.05	1.76 ± 0.02
再生重 μ moles	3.27 ± 0.26 ^{a,1}	6.96 ± 0.35	6.73 ± 0.36	
micromoles/100g (体重)	4.71 ± 0.17 ^{a,1}	6.06 ± 0.16	6.47 ± 0.23	7.55 ± 0.10
肝臓 RNA ; micromoles/g (含水肝臓)	3.94 ± 0.22	4.24 ± 0.16	4.78 ± 0.18	3.13 ± 0.07
再生量 μ moles	9.99 ± 0.99 ^{a,1}	20.81 ± 1.42	16.89 ± 0.83 ^d	
micromoles/100g (体重)	10.56 ± 0.62 ^{a,1}	15.65 ± 9.66	14.57 ± 0.41	13.38 ± 0.28
部分的肝臓切除後 10 日				
鼠の No.	10	10	10	30
体重変化 g	- 2.9 ± 2.2 ^{a,f}	+ 24.2 ± 2.4	+ 4.8 ± 2.0 ^e	
総食餌摂取量 g	104.8 ± 3.1 ^e	151.7 ± 4.7	104.8 ± 3.1 ^e	
肝臓増大量 ^b , g	0.74 ± 0.03 ^{a,1}	1.55 ± 0.07	1.06 ± 0.05 ^e	
肝臓蛋白質 ; 含水肝臓の %	11.2 ± 0.3	10.6 ± 0.3	11.8 ± 9.3	11.9 ± 0.1
再生量 mg	368 ± 11 ^{a,1}	595 ± 24	539 ± 15	
Mg/100g (体重)	349 ± 6 ^{a,1}	410 ± 8	433 ± 9	463 ± 6
肝臓 DNA ; micromoles/g (含水肝臓)	1.44 ± 0.03	1.51 ± 0.06	1.63 ± 0.04	1.85 ± 0.02
再生重 μ moles	3.90 ± 0.18 ^{a,1}	8.05 ± 0.23	6.94 ± 0.18 ^e	
micromoles/100g (体重)	4.49 ± 0.10 ^{a,1}	5.79 ± 0.11	5.94 ± 0.12	7.2 ± 0.10
肝臓 RNA ; micromoles/g (含水肝臓)	3.78 ± 0.10	3.57 ± 0.18	4.08 ± 0.12	3.41 ± 0.09
再生量 μ moles	13.41 ± 1.06 ^{a,1}	21.22 ± 0.97	20.33 ± 1.05	
micromoles/100g (体重)	11.81 ± 0.28 ^{a,1}	13.67 ± 0.45	14.93 ± 0.49	13.28 ± 0.38

かった時は各鼠から取った全肝臓はネヂ蓋のガラス瓶に入れて冷凍機中に約1週間（分析が完了するまで）貯蔵した。其の肝臓はとかして濾紙上で水分を去り種々の肝葉からサンプルを切取って秤量し20%のホモジネートを調製した。残りの肝臓は秤量して風袋を測ってあるアルミニウムの皿に入れ110°Cで24時間乾燥した。リボ核酸(RNA)とデオキシリボ核酸(DNA)はホモジネートの何分の一かを取りSchneiderの熱三塩化醋酸(TCA)抽出法によって定量した。其抽出物はオルシノールとデフェニールアミン反応によって夫々RNAとDNAとの分析を行った。DNA測定のための標準曲線はデオキシアデノシンを用い1molのDNAは2molのデオキシアデノシンと同強度の色を呈するものとして画いた。又RNA測定のための標準曲線はD-リボースを用い1molのRNAは2.6molのD-リボースと同強度の色を呈するものとして画いた。RNAの計算に際しては各サンプルに存在するDNAに対する補正を行った。各サンプルの熱TCA不溶の沈澱は定量的にキールダールフラスコに移して其N-含量を酸化第二水銀を触媒としてマイクロキールダール法で定量した。各サンプルの蛋白質含量はN量に6.25を乗じて得た。

同系統体重近似の多数の鼠(30)を無蛋白食餌で4日間飼育した。そしてその鼠に上記の如く部分的肝臓切除を行った。次に残りの肝葉を取り除いた。手術後原位置に残る部分を構成する右葉+尾状葉と部分的肝切除の際取除かれる左葉+中葉の部分との比を此の群について測定した。此の比は乾物量においても含 waters 重量においても共に0.462であることが判った。6匹の鼠の各々の右葉+尾状葉のサンプルの蛋白質、DNA及びRNA濃度を同動物から取った左葉+中葉における其等組成物の濃度と比較した。其の差は各場合2%以下であった。各列の実験に更に3匹の無蛋白食餌を投与した鼠を加え取除かれた肝臓と残った部分との比を再検討した。実験に用いられた鼠においては諸種成分の最初の値が手術中取除かれた肝臓の一部の分析によって得られた。肝臓の元の質量も亦取除かれた量から測定した。

結 果

ロイシンとイソロイシン、バリンの拮抗作用

第1表に見る様に部分的肝臓切除後4日にして第一群(過剰ロイシン投与, イソロイシン, バリン不投与)とペアフェッド対照群(過剰ロイシンと共にイソロイシンとバリン投与)とは約14gの体重を失ったが自由食対照群は2g増加した。第一群の食物摂取量は自由食対照群より約20g少なかった。且つ再生肝臓の乾物量は有意的に少なかった。併し乍ら再生肝臓の乾物量はペアフェッド対照群の場合更に少なかった。此のペアフェッド対照群において特に低い値は多分部分的飢餓に原因するものであろう。何となれば之等の鼠の肝臓のグリコーゲン含量は低くDNAの濃度は高かったからである。(表I)

部分的肝臓切除後4日では第一群の肝臓蛋白質の再生量は自由食対照群より有意的に少なかった。併しペアフェッド対照群と同量であった。体重100g当りの肝臓蛋白質量は三群同様で

46 鼠肝臓の再生に及ぼすLeucineとIsoleucine,Valineの拮抗作用の影響とEthionineの影響との比較(65)

あり、手術時の約82%であった。

Diet L を投与された鼠の肝臓 DNA 再生量は Diet L IV を投与された自由食対照群より有意的に少なかった。併し肝臓蛋白質再生の場合と同様に Diet L を投与された群の値とペアフェッド対照群の値とは同じであった。又体重 100g 当りの DNA の量は三群共同じであった。そして其量は手術時の80%であった。

肝臓 RNA の濃度は全群共部分的肝臓切除後4日には高かった。第一群の RNA 再生量はペアフェッド対照群より多かった(其差は完全に有意的ではなかったが、 $P < 0.07$)、且つ体重 100g 当りの RNA 量もペアフェッド対照群より有意的に多かった。体重 100g 当りの蛋白質と DNA の量は手術時よりも少なかったが RNA の場合は其の逆であった。之は再生中の肝臓において RNA の濃度が約 40%増加したことに依るものである。

手術後4日目と10日目との間に Diet L を投与された鼠は其食餌に適応した。併し乍ら初めの開きのために余分のイソロイシンとバリンを投与されなかった第一群と自由食対照群で余分のイソロイシンとバリンを投与された群との食餌摂取総量の差は部分的肝臓切除後4日に観察された差と同様であった。之等二群の体重は此の6日間殆んど同割合で増加した。第一群の肝臓増大と Diet L IV を投与された自由食対照群の肝臓増大との差 0.32g は手術後4日で非常に有意であったが手術後10日の差は僅かに 0.21g で而も統計的に有意ではなかった。肝臓の部分的切除後10日でもなおペアフェッド対照群は第一群より再生肝臓の乾燥量は少なかった。併し此の差は再び部分的飢餓によるものであって之は低肝臓グリコーゲン含量によって示指される通りである。

部分的肝臓切除後10日に三群によって再生された肝臓蛋白質又は肝臓 RNA の量の間には何等有意の差はなかった。手術後10日に第一群とペアフェッド対照群の肝臓 DNA 再生量は Diet L IV 自由食対照群より有意的に少なかった。併し三群の体重 100g 当りの肝臓 DNA 量の間には何等有意の差はなかった。手術後10日に再生された肝臓 DNA の量の差は第一群と自由食対照群の間では手術後4日に此の二群間に生じた差の半分しかなかった。部分的肝臓切除後10日に第一群と Diet L IV 自由食対照群の肝臓 RNA 濃度は正常値迄減少していた。併しペアフェッド対照群ではなお幾らか高かった。之は多分此の群はなお肝臓を活潑に再生しつつあったことによるものであろう。肝臓 RNA 再生の速さは部分的肝臓切除後2日にして一つのピークに達すると云う報告があるので(Novikoff 等 1948) 此の時にも動物を検査した。RNA 濃度は手術後2日にして再生中の肝臓において非常に増加した。Diet L IV を投与されたペアフェッド対照群より Diet L を投与された群により有意的に多くの RNA が再生された。Diet L 群の体重 100g 当りの肝臓 RNA の量はペアフェッド群のそれより有意的に大であった。

(手術時)蛋白質を減少した動物の肝臓グリコーゲン含量は部分的肝臓切除後10日間蛋白質を含む食餌で自由食飼育された鼠のグリコーゲン含量の約 $\frac{1}{2}$ であった。自由食で飼育された群

の肝臓グリコーゲン含量は部分的肝臓切除後4日に非常に低かったが手術後10日には非常に増加した。併しながら其量はなお手術しない対照の9%以下であった。(Spolter 等 1959)

(手術時) 蛋白質を減少した鼠と手術後2, 4日で再生中の群における蛋白質とDNAの比は(mg蛋白質/ μ mol DNAで表わす)約60であった。此の比は部分的肝臓切除後10日後全三群において約73に増加した。RNAとDNAとの比は(μ mol RNA/ μ mol DNAで示す)手術時蛋白質を減少した群において1.8であった。此の比の最大増加は自由食対照群の再生中の肝臓において手術後2日に起った。其時の値は 3.22 ± 0.11 であった。

DNAの単位量に対するRNA量はDiet L IVを投与されたペアフェッド対照群の肝臓中よりは(2.45 ± 0.15) Diet Lを投与された鼠の再生中の肝臓中に部分的肝臓切除後2日に有意的($P < 0.03$)に多かった(3.11 ± 0.09)。此の比は部分的肝臓切除後4~10日は全三群共約2.5であった。

エチオニンの影響

0.25% DL-エチオニンを含む9%カゼイン食餌を投与された第一群は部分的肝臓切除後4日に体重が減少した(表Ⅱ)。ペアフェッド対照群も似た体重減少を示した。併し自由食対照群は体重増加を示した。4日後体重の差はエチオニン投与群と自由食対照群との間では15.5gであった(表Ⅱ)。又此の二群間の食物摂取量の差は20gであった。ロイシン研究で注目された様に(表Ⅰ) ペアフェッド対照群の肝臓再生量は自由食対照群の其より少なかった(表Ⅱ)。併しながらエチオニン投与群肝臓再生量はペアフェッド対照群の其より少なかった。食餌が過剰ロイシンを含む時は其の逆であった(表Ⅰ)。エチオニンの摂取は肝臓蛋白質の再生を阻害した。而も其阻害程度は食物摂取制限による阻害程度より大であった。再生肝臓蛋白質及び体重100g当りの肝臓蛋白質量は共にエチオニンを投与された群においてはペアフェッド対照群におけるより少なかった。

食餌中にエチオニンが含有されるとDNA再生も亦阻害を受けた。しかも其程度は食物摂取量の制限による阻害よりは大であった。再生肝臓のDNAと体重100g当りの肝臓DNA量は共にエチオニンを投与された群においてペアフェッド対照群におけるより少なかった。

再生肝臓RNA及び体重100g当りのRNAは共にエチオニン投与された群においてペアフェッド対照群におけるより少なかった。類似の結果が手術後10日に殺した鼠についても得られた。そして其際観察された差は手術後4日に観察された差よりは左程大ではなかった。(表Ⅱ)

蛋白質とDNAの比はmg蛋白質/ μ mol DNAで表わすと蛋白質減少鼠(手術時)及び手術後4日の再生中の群では約62であった。手術後10日では此の比はエチオニン投与群, 自由食対照群, ペアフェッド対照群の再生中の肝臓において夫々 78.1 ± 1.6 , 71.0 ± 1.5 , 72.9 ± 1.1 に増加した。10日間エチオニンを投与された群の比は自由食対照群($P < 0.07$)又はペアフェ

ッド対照群 ($P < 0.02$) より有意的に大であった。

RNA と DNA の比は $\mu\text{mol RNA}/\mu\text{mol DNA}$ で表わす時 (手術時) 蛋白質減少群において約1.8であった。手術後4日では此の比はエチオニン投与群 (2.25 ± 0.12), ペアフェッド対照群では (2.26 ± 0.06) で有意的 ($P < 0.05$) に自由食対照群 (2.58 ± 0.10) より小であった。又手術後10日ではエチオニン投与群の比は (2.64 ± 0.08) で有意的に ($P < 0.01$) 自由食対照群 (2.36 ± 0.05) より大であった。

表には報告しなかったが手術時肝臓の水分は約73%であったが手術後4日再生中の肝臓においては約75~76%に増加していた。

論 考

肝臓と肝臓蛋白質の再生

たとえ高ロイシン食餌を投与された鼠における肝臓再生の早さはイソロイシン, バリン添加, 高ロイシン食を自由に投与された対照動物における早さより遅かったとはいえ, ペアフェッド対照動物に観察された早さより遅くはなかった。此の様に過剰ロイシンの肝臓再生遅延効果は等量の食物制限によって起る遅延効果より少しも大きくはなかった。此の事実は総肝臓, 肝臓蛋白質, DNA 及び RNA の再生を等量の食物制限によるよりも遙かに強く遅延させるエチオニンの効果と鋭い対照をなすものである。之等の観察から考えると食餌中の過剰ロイシンは直接に何等の処置を加えぬ動物における蛋白質合成を阻害するものではない様に思われる。又エチオニンの大効果と過剰ロイシンの効果は其の基礎が異なるものと思われる。

Farber と協同者等 (1950, 1958) はラベルしたアミノ酸が蛋白質に入り込むことに対するエチオニンの影響の研究から次の様に結論を下している。即ちエチオニンは雌鼠の肝臓蛋白質合成を阻害するが雄鼠では阻害しない。Gershbeim (1958) はエチオニンを含む食餌を自由に投与された雄鼠雌鼠の両方において肝臓再生が抑圧される事を観察した。彼の実験はペアフェッド対照群を含まなかったとはいえ其の差は余り大きくて食欲の抑圧だけで彼の結論が変わるとは思われなかった。

我々の実験においては雄鼠におけるエチオニンによる肝臓再生の阻害はペアフィーディングにおいて食物制限により起こった阻害より大であった。Farber等はエチオニン摂取後5時間で鼠を殺した。そして続いてエチオニンを摂取した時の影響を測定しなかった。又彼等の鼠は我々の蛋白質減少, 肝臓の部分的切除をされた鼠の如く蛋白質合成刺戟状態にはおかれていなかった。之等の実験操作の差は何故に Farber 等は雄鼠に蛋白質合成の阻害を観察しなかったかを説明するかも知れない。此の仕事が完結してから後 Farber 等は (1961) エチオニンは雄, 雌両鼠の肝臓蛋白質中に入り込むことを示している。

肝臓 RNA の再生

肝臓 RNA 濃度は全群において手術後2及び4日には高かった。併し自由食群では10日に

して正常に戻った。最も再生の速い期間中 RNA 濃度の増すことは以前 Novikoff と Potter 等 (1948) が報告している。

ロイシンの他イソロイシン, バリンを与えられたペアフェッド対照群の肝臓におけるより高ロイシン食餌を与えられた鼠の術後 2~4 日の再生中の肝臓に有意的により多くの RNA が発見された。Munro と Mukerji 等 (1958) は大量に単独に無処置の鼠に摂取された18アミノ酸の中ロイシンは肝 RNA 中に P^{32} が取上げられるのを刺戟し, そして肝臓の RNA 含量を摂取後19時間で増加した3種のアミノ酸の1つであったと報告した。其後 (1960) 彼等は此の効果は副腎皮質の分泌活度の刺戟によるとした。

我々の実験においては高ロイシン群とペアフェッド対照群とは等量のロイシンを摂取したからロイシンのイソロイシン, バリンに対する割合はロイシンの過剰其自身より RNA 合成刺戟に取ってより重要であると思われる。

DNA の再生

蛋白質 DNA の比 (蛋白質/DNA) 及び RNA と DNA の比 (RNA/DNA) は部分的肝臓切除直前4日間無蛋白食餌で飼育された鼠から取り出した肝臓中では10日間蛋白質を含む食餌で飼育された鼠から取出された再生肝臓における比より小さかった。此のことは無蛋白食餌を与えられた鼠の肝臓細胞は自分の蛋白質と RNA の一部分を失うという以前の観察と一致している。(Kosterlitz 等 1945~46), (Munro 等1960)

研究期間中に再生した肝臓蛋白質, RNA 及び DNA の量は部分的肝臓切除の時に各鼠の肝臓の残部における量を計算し之の値を再生中の肝臓に見出される量から引くことによって得られた。

肝臓中の蛋白質と RNA の分子は非常に速く変質 (Turn over) するから之等二成分に対して報告された値は退化した量は含まぬ。併し DNA は生化学的に安定性が高いことから考えて再生された DNA 量は合成された量を表わす筈である。

エチオニンは (ロイシンは異なるが) 肝臓 DNA 再生を抑制した。そしてその抑制はエチオニンによって起る食物摂取の減少から予期される抑制よりは大きであった。之は Schneider 等 (1960) によって報告された結果と良く一致する。即ち彼等は部分的肝臓切除後24時間に殺した鼠においてトリチウムでラベルしたチミヂンが DNA 中に入り込むのがエチオニンによって阻害されるという結果を得た。併し乍ら肝臓 DNA 含量の増加及びトリチウムでラベルしたチミヂンの無処置又は部分的肝臓切除鼠の肝臓 DNA への入込増加が長期に亘る実験においてエチオニンを含む食餌投与の結果として観察されている。(Stekol 等1960), (Farish 等1961)

Popper 等 (1960~62) は数週間エチオニンを含む食餌を投与された鼠の肝臓 DNA 含量の増加は管細胞数の大増加と肝臓の実質細胞数の相関減少を伴うことを発見した。

我々の実験における再生肝臓中の DNA 含量は部分的肝臓切除後4日と10日では正常以上に

50 鼠肝臓の再生に及ぼす Leucine と Isoleucine, Valine の拮抗作用の影響と Ethionine の影響との比較 (61)

は増加しなかったからエチオニンの肝臓 DNA 代謝におよぼす短期間の影響は重い病的変化に至らしめる長期の影響とは異った物である様に思われる。

肝臓蛋白質, RNA, 及び DNA の再生は総て手術後 4 日と 10 日の両方においてエチオニンによって阻害されたが DNA 合成の阻害は 4 ~ 10 日間は蛋白質, RNA 合成の阻害より比較的大であった。此結果はエチオニンを投与された鼠において部分的肝臓切除後 10 日に蛋白質 / DNA 及び RNA/DNA が有意的に増加することになった。

此の影響は X-線照射の影響と類似である様に見える。X-線照射は DNA 合成に関係する酵素の形成と其の活性を阻害し (Lancker 1960) 且つ前駆物質が DNA 中に入り込むのを阻害する程度は前駆物質が RNA 又は蛋白質中に入り込むのを阻害する程度より高い。(Beltz 等 1957), (Holmes 等 1952)

肝臓再生研究における時間因子

最も迅速な肝臓再生は部分的肝臓切除後初めの数日中に起る。其れ故若し肝臓増大が 1 つの食餌又は 1 つの化合物の阻害作用を検出するのに用いられる場合には長期間肝臓再生に任せた鼠より手術後 4 日に研究された鼠においてより大きな影響が観察される筈である。対照群は非常に速かに初めの数日中に再生する。そしてその再生は肝臓量が正常に戻った時に止まる。阻害群はより徐々に再生するが併し長期間再生を続ける。そして遂に正常肝臓重量に達する迄続ける。4 日後の再生中の群と 10 日後の再生中の群との結果の比較は此の関係を非常に明瞭に示している。過剰ロイシンを含む食餌及びペアフューディングは 4 日間に再生の著しい遅延を引き起し総ての差は有意の差であった。併し其の遅延は 10 日後には遙かに少なかった。只 DNA の値丈けは有意的に低かった。其故此の型の研究は今迄の例の様に長期間行うより Submaximal の再生期間行う方が最善の様に思われる。

要 約

鼠に部分的肝臓切除を行って 4 日後に肝臓組織, 蛋白質及び DNA の再生を見ると再生量は高ロイシン食餌を与えられた鼠ではロイシンの過剰と共にイソロイシンとバリンを与えられた自由食対照群より有意的に少なかった。併し其の再生の速さはペアフエッド対照群においても同様に抑えられた。此の様にロイシンの過剰は蛋白質と DNA の再生を阻害するが, 其の程度はロイシンの過剰によって食物摂取量が減少することによる程度を越えなかった。

ロイシン含量高くイソロイシン, バリンを添加しない食餌を与えられた鼠は有意的により多くの RNA を再生し其の鼠の肝臓は部分的肝臓切除後 2 日と 4 日にはロイシンの過剰と共にイソロイシンとバリンを投与されたペアフエッド対照群より有意的により多くの RNA を含んで居た。過剰ロイシンのみを与えられた群の RNA 含量は手術後 10 日で減少して正常になった。

部分的肝臓切除を行った雄鼠ではエチオニンは肝臓蛋白質, DNA, 及び RNA の再生を抑

(60)鼠肝臓の再生に及ぼすLeucineとIsoleucine,Valineの拮抗作用の影響とEthionineの影響との比較 51

圧するが其程度はエチオニンによる飼料摂取の減少から予期される程度より高かった。

以上が報告の全文だが結論は案外簡単なものとなっている。ロイシンとイソロイシン，バリンとの拮抗作用も肝臓組織，肝臓蛋白質，DNA の再生に対しては現われていない。只僅かにRNA の再生に対してのみ其れが現われている様に見えるにすぎない。

又エチオニンと過剰ロイシンとの作用は其の本質が異なるものと見るべきであろう。

(本学教授 栄 養 学)