The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	アミノ酸の腸管吸収とビタミン : その関与型式について
Author(s)	植田, 啓嗣
Citation	大阪大学, 1962, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28417
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【11】

氏　名・(本籍)	植　田　啓　嗣（うえだ　けいし）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　280　号
学位授与の日付	昭和37年3月26日
学位授与の要件	医学研究科　内科系 学位規則第5条第1項該当 B_6
学位論文題目	**アミノ酸の腸管吸収とビタミン** —その関与型式について—
論文審査委員	(主　査) 教授 木谷　威男 (副　査) 教授 須田　正己　教授 西沢　義人

論文内容の要旨

〔目　　的〕

アミノ酸の腸管吸収時に，ビタミンB_6が関与することは，すでにJacobs, 明渡等によって報告されている。本論文は，その関与ビタミンが活性B_6 3型の内でも，pyridoxal phosphate(PALP) であることをさらに確めんとするため，かつまたそのPALP関与が protein bound form であることを示唆させるため，行った実験結果を記したものである。

〔方法並びに成績〕

I　pyridoxal azine による methionine, histidine の吸収阻害とPALPによる阻害回復効果について

被検動物には純系白鼠を，実験方法には須川等の方法 (in vivo method) および Wilson-Wiseman's method (in vitro method) を用いた。pyridoxal-kinase の阻害剤である pyridoxal azine の合成は和田の方法に順じた。なお histidine の定量は，Macpherson 氏法で，methionine のそれは，Bolling 氏法，および S^{35}DL-methionine の count を gas-flow-counter で infinite thinness として測定することより換算して，それぞれ定量した。

azine (30mg/rat) を腹腔内に注入した動物での methionine, histidine の腸管吸収量 (μ moles/wet weight/45 min) は，その対象（リングル氏液のみの注入動物）に比して，約½にまで低下していた。(in vivo method)

この azine 注入後 3hr で，腸管を切り出し，PIX, PAL, PALP, FAD, VB_1 pyrophosphate による吸収回復効果をみたが，PALPのみで回復し，他では効果は認め得なかった。(in vitro method)

II　PALP に対する penicillamine の態度について

VB_6酵素として，transaminase (GPT), tryptophanase を使用することとした。

transaminase の酵素源としては，白鼠の liver homogenate, 並びに勝沼等によって豚心より約300倍精

製されている酵素標品を用い，特別の目的以外の場合は，酵素反応および測定の条件は Du Vigneau の方法に順じた。

tryptophanase は，基質に適応させた大腸菌アセトン粉末より，酸性ストマイ，熱，ca-po_4 吸着残液，硫安（55～60％）等の操作を加えて，約10倍精製したものを酵素源として用いた。酵素反応および測定の条件は，和田，後藤等の方法に modification を加えて使用した。

1．free の PALP に対しては

A）紫外部の吸収から PH 7.4 で，380mμ に最大吸収をもつ PALP の山は，penicillamine(PN) を加えることによって消失し，thiazolidine compound の吸収曲線に変化する。この際その山の消失速度およびに変化後にみられる紫外部の吸収曲線には，PN の D および L-isomer で差は見出し得ない。

B）酵素活性から　PALP と PN とを混在させた後，apo-tryptophanase を加えても，酵素活性が見出し得ない点では，D-PN L-PN とも，共通であった。

2．protein-bound の PALP に対しては，

A）tryptophanase に対して　PALP と apo 酵素とを結合させた後，PN を加えると，L-PN では活性の阻害が認められるが，D-PN では阻害効果が無かった。

B）transaminase に対して

(イ) 酵素源として，liver homogenate を用いた場合も，上記精製酵素を用いた場合も，L-PN では活性阻害が認められたが，D-PN ではかえって activation を生来した。

(ロ) D-PN による activation の意味（以下上記精製酵素使用）

D-PN では，グルタチオン添加時に認められると同様の，本酵素に対する失活阻害が認められ，グルタチオン添加酵素では D-PN による activation は見出し得なかった。

(ハ) L-PN による阻害様式

① dilution effect—L-PN の阻害は，L-PN と酵素液との混液に，dilution をかけることによって阻害が解かれてくる。

② aldehyde reagent による回復—PN のモル濃度を越える PAL, PALP を添加することによって，PN 阻害の回復を生ぜしめ得るが，PAMP では回復効果が認められない。

③ 基質による回復効果—酵素に対する飽和量の基質（alanine, αketo-glutarate）の存在下でかけた L-PN の阻害は，さらに基質を加えても解け無かった。つまり基質との拮抗阻害とは考えられない。

④ L-cysteine による阻害効果—L-cys でも，L-PN と同じモル濃度で，同程度の阻害が認められた。一方 D-cys では阻害効果がなかった。

Ⅲ　アミノ酸の transfer 時に認められる cys, PN の態度について

被験動物および実験方法は，azine の回復実験の際に用いたのと同様である。valine の定量は C^{14} L-val を使用し，前記S^{35} DL-methionine のそれに順じた。

1．met の transfer に対する L-cys, D-cys の影響については阻害が認められるが，D-cysでは阻害が認められない。

2．val の transfer に対する L-cys, D-cys の影響について—val の transfer に対しては，D-cys は阻害が

なく，L-cys で阻害をうける。

3. val の transfer に対する L-PN, D-PN の影響について—PN の場合も，cys のそれに比して作用は弱いが，L-isomer で阻害され，D-isomer では阻害をうけない。

〔総　　括〕

1) アミノ酸の腸管吸収時の VB_6 の関与は，PALP の型であることが示唆された。

2) 吸収および酵素実験の comparative study によって，吸収時に関与する PALP は，蛋白結合体であることが示唆された。

3) L-PN の VB_6 酵素阻害は，L-cys においても認められ，かつその阻害は，thiazolidine 結合によるものでないことが明らかにされた。

論文の審査結果の要旨

小腸腸管においては，L 型アミノ酸のみが能動的に吸収される。この能動的な吸収に，ビタミン B_6 が関与していることは，すでに明渡，Jacobs等が報告しているが，その詳細については明らかではなかった。

本論文は切り出し腸管を使用し，L型アミノ酸の active な transfer が DNPによって阻害され，その阻害が pyridoxal phosphate (PALP) のみによって回復すること，また PALP の産生酵素である pyridoxal-kinase の阻害剤〔pyridoxal-azine〕の投与によっても in vivo の条件下で吸収阻害がおこり，またその時にとり出された腸管で in vitro の条件下での transfer rate は，PALP のみによって促進されるという結果を得ている。

以上の知見からアミノ酸の active な transfer には PALP が関与し，その際 PALP の再生反応が transfer に coupling していること，およびその PALP の再生には active な transfer に必要なエネルギーの少くとも一部が使用されていることが明らかにされた。

一方著者は，PALP と penicillamine (PN) による紫外部吸収および酵素活性の阻害実験から，遊離の PALP に対して，PN-の両 isomer は全く同じ結合をおこすにもかかわらず，酵素蛋白と結合している PALPでは，L型のみが阻害作用をもっていることが明らかにされた。

また，D-PN は SH 活性賦活剤として作用することを，transaminase に対する D-PN の activation の結果で報じている。

これらの知見により VB_6 酵素実験にPNを使用する場合，PN の立体異性と VB_6，PN の賦活作用と酵素蛋白といった両面に今後注意が払われなければなるまい。特に酵素蛋白に依存した阻害剤の立体的特異性の知見は，VB_6酵素の活性中心の分析に一つの足がかりを与えている。

以上の PN と同様の作用を，天然アミノ酸である D および L-cysteineにおいて見出し得たことも重要である。

アミノ酸の transfer が L-cys または L-PN によってのみ阻害されているということ，および以上の酵素実験との比較から，transfer 時に carrier system としての protein（おそらく PALP を補酵素とするごとき）の存在を示唆している。

以上，著者の実験は腸管におけるアミノ酸の積極的なとり込み機作について，PALP の関与の問題を中心に，新知見を加えたものであって，学位論文としてここに推せんしたい。