



Title	尿素合成の日周リズムに関する研究：特に尿素サイクルの律速酵素Argininosuccinate synthetaseを指標として
Author(s)	加藤，秀夫
Citation	大阪大学，1977，博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31568">https://hdl.handle.net/11094/31568</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏 名・(本籍)	加 <sup>か</sup> 藤 <sup>とう</sup> 秀 <sup>ひで</sup> 夫 <sup>お</sup>
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 8 7 7 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系 学位規則第5条第1項該当
学 位 論 文 題 目	尿素合成の日周リズムに関する研究——特に尿素サイクルの 律速酵素 Argininosuccinate synthetase を指標として——
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中 川 八 郎 (副査) 教 授 田 中 武 彦 教 授 吉 田 博

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目的〕

尿素サイクルの律速酵素である Argininosuccinate synthetase (ASSと略す) に日周リズムを見出した。この日周リズムの発生機構と、その生理的意義を明らかにすべき以下の研究をおこなった。

### 〔方法ならびに成績〕

実験動物には雄性 Wistar 系 HLA ラット、初体重 120~140 g を選んだ。すべての動物は恒温恒湿室 (25℃, 50~60%RH) で飼育された。また午前8時から午後8時まで点灯し、午後8時から午前8時まで消灯する照明条件下においた。Argininosuccinate synthetase の活性測定法は、Kato ら (J. Biochem., 79, 945-953 (1976)) の方法でおこなった。

すなわち、〔カルバモイル-<sup>14</sup>C〕シトルリンを基質とし、反応生成物である <sup>14</sup>C-アルギノスクシナートを無水物に転換した後、Dowex 50W-X 8 (ピリジン型) を用いてシトルリンと分離後定量した。

- ① 10日間標準固型食を与えて飼育したラットの肝臓および血液中の尿素量には、いずれも午後2時に最高を示す日周リズムが認められた。
- ② 肝臓に存在する尿素サイクルを構成する5つの酵素活性のうち血中の尿素量の変動と一致した日周リズムを示すものは、ASSのみであった。
- ③ 肝臓のASS活性は食餌中の蛋白質含量に依存していると報告されているので、肝ASS活性の日周リズムと食餌蛋白質量との関係について検討を加えた。無蛋白食 (0%カゼイン食) 投与群ではASS活性は、全般に低くなり、日周リズムは認められなかった。しかし、25%カゼイン食投与群では、

標準固型食投与群と同様の日周リズムが認められた。高蛋白食（50%カゼイン食）投与群では24時間を通して酵素活性が高くなったが、25%カゼイン食群と類似した日周リズムを示した。血液中の尿素量もASS活性と平行したリズムと振幅の増加を示した。

④ ラットは夜行性であるので消灯下（午後8時から午前8時）に集中して摂食頻度が増加するがこの摂食頻度と一致してASS活性が増加するので、その日周リズムが摂食の学習に基づくのか、内因性のものかを以下の実験から検討した。まず明暗条件をそのままとし、自動給餌装置を使用して午後1時から午後7時までの6時間のみ標準固型食を投与し、ASS活性を測定した。その結果、ASS活性は新しい食餌条件に変更した3日目には点灯下にかかわらず、摂食開始とともに増加することが明らかになった。この場合の血液中の尿素量も、ASS活性の変動とほぼ一致することを証明した。しかし、この場合の特徴は必ず摂食に先立って「予知反応」と呼ばれるべき活性の高まりを示す事である。動物を絶食にしてもASS活性は最初の24時間のみは、摂食によるリズムと同様のリズムを示した。これら両実験の結果から、ASS活性の日周リズムは、動物が摂食を学習することによって生じたことを示唆している。しかし、上記の摂食条件を10日間続けると、摂食を誘因とする活性のピークとは別に、もとの活性ピークの存在した午前2時にも高い活性が再現した。したがって、内因性の生物時計による部分の存在することも否定できない。

⑤ われわれの研究室では、肝臓・腎臓のPhosphoenolpyruvate carboxykinaseの相反的なリズムが自律神経系の相反機能によることを明らかにしているので、ASS活性の日周リズム発生に対する自律神経の役割を解析した。ASS活性の摂食による増加は、副交感神経遮断剤のAtropineによって抑制されたが、いわゆる「予知反応」による活性増加は、 $\alpha$ -adrenergic blockerであるPhenoxybenzamineで抑制された。

## 総 括

① 肝臓の尿素サイクルの律速酵素と考えられるASS活性の日周リズムは、肝臓、血液中の尿素量の日周リズムの原因と考えられる。

② 肝臓のASS活性の日周リズムの振幅は、摂食蛋白量に比例して増加した。しかし、無蛋白食投与群では日周リズムは認められなかったので、日周リズムの形成には蛋白質の存在が必要であると考えられる。

③ ASS活性の日周リズムは、摂食の学習と内因性の生物時計の2つの因子によって形成される可能性を示唆した。

④ 摂食とともに増加する酵素活性は、副交感神経が、関与する可能性を示唆する実験成績を得た。

⑤ 肝臓のASS活性は摂食とともに増加するにもかかわらず、摂食時間を制限すると摂食開始直前にすでに増加している（「予知反応」）ことが明らかとなった。しかも、摂食後の増加と対照的にこの増加には交感神経が関与している可能性を示唆した。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は尿素合成の調節機構をASSの日周リズムの発生機構に焦点をあて、解析することを目的として以下の知見を得た。

- ① 尿素合成の日周リズムはASS活性の日周リズムに依存していることを明らかにした。
- ② ASS活性の日周リズムの形成には蛋白質の存在が必要である。
- ③ ASS活性の日周リズムは、摂食の学習と内因性の生物時計の2つの因子によって形成される可能性を示唆した。
- ④ ASS活性の日周リズム発生に対する自律神経の役割を解析し、摂食とともに増加する酵素活性は副交感神経が、摂食開始直前に増加する酵素活性は交感神経が関与する可能性を示唆した。

以上の知見から、ASS活性の日周リズムの発生機構とその生理的意義を明らかにし、日周リズムの研究に寄与するところ大であり、博士論文として評価される。