

結核患者の尿中アミノ酸およびその INH ならびに VB₆ 投与による変動について

柿 木 ヒ デ (旧姓 橋谷田)

北海道大学医学部第一内科教室 (主任 山田豊治教授)

受 付 昭 和 35 年 2 月 20 日

緒 論

結核患者に蛋白代謝の異常ないしは偏倚の存することは、すでに周知の事実といつてよい。その原因については、結核菌毒素の直接の作用、毒素による蛋白生成組織、臓器の障害のための間接的作用、組織の崩壊、呼吸面縮小の結果としての酸化不全ならびに酸性症、抗体産生に基づく変化、また内分泌機能ことに副腎皮質機能の変化等幾多の説があるが、そのいずれによるにせよ、蛋白質の代謝の異常は当然その構成成分であるアミノ酸の異常を伴っているはずである。私は、濾紙クロマトグラフを用いて、結核患者尿中に排泄される遊離アミノ酸を種々の条件下に検索し、もつて結核患者におけるアミノ酸代謝の様相の一端をうかがおうとした。

また、イソニコチン酸ヒドラチッド (INH) が、ビタミン B₆ (VB₆) と拮抗することはすでに一般に認められている^{1)~5)} が、同時にこの薬剤は結核患者の血清蛋白像に対して顕著な影響力をもつ^{6)~8)}。しかしてこの血清蛋白への影響は VB₆ を併用した場合には認められなかつた⁹⁾。

VB₆ は多数のアミノ酸の代謝の種々の段階に助酵素として深いかかわりをもつ物質であり、同時に副腎皮質機能に対して促進的に作用するといわれている^{10) 11)}。私はこの 2 剤を同条件下に投与して尿中遊離アミノ酸への影響をみ、あわせて INH の血清蛋白像に対する影響の機転を考察した。

実 験 方 法

1) 総合アミノ酸投与

5 % ポリタミン 500 ml を肺結核患者 27 例および健康人 2 例に 1 時間の速度で点滴静注した。

2) 尿採取

総合アミノ酸注射前 24 時間の全尿 (尿 A)、注射開始後 4 時間までの尿 (尿 B)、注射開始後 4 時間より 24 時間までの尿 (尿 C) を採取し、防腐のため少量のトルオールを加えた。

3) 尿前処理

尿 A、尿 C はその量の 1/100、尿 B はその量の

6/100 をとり、倍量の無水エタノールを加え、暫時放置せるのち濾過、濾液を水浴上で蒸発乾固せしめ、残渣を蒸溜水 2 ml に溶解した。

4) アミノ酸検出

二次元濾紙クロマトグラフによつた。東洋濾紙 50 番に前記の 2 ml の試料のうち 0.05 ml を塗布、80% フェノールおよび 35 % 含水コリチン・ルチチンで展開し、顕色は 0.1 % ニンヒドリン・ブタノール溶液によつた。

18 種の純粋なアミノ酸の溶液を同条件下に展開し、それとの比較において各呈色斑を同定した。ただしオルニチンおよび β アミノイソ酪酸は純品を手許に有しなかつたので、オルニチンは 80 % フェノールおよび 35 % 含水コリチン・ルチチンによる Rf から、β アミノイソ酪酸は、さらに n ブタノール：醋酸：蒸溜水 = 2 : 1 : 1 による Rf (0.70)¹²⁾ をも参照して、それと推定した。

比較の便宜のため、呈色斑をその濃さと面積よりみて 5 段階に分ち、1 より 5 までの数値をもつて表わし、仮りに呈色度と名づけた。

(各アミノ酸はニンヒドリンに対する反応の度合いを異にする。たとえば、グリシン・グルタミン酸のニンヒドリンによる最小検出量¹³⁾ は 0.1 γ であるが、トリプトファンのは 2 γ、ヒスチチンのそれは 25 γ である。ゆえに、ニンヒドリン呈色度の序列がそのまま試料中の濃度の序列とはならない。)

5) INH 投与

1 日量 100 mg より始め 5 日ごとに 50 mg ずつ増量、250 mg にいたつてその量を持続し毎日内服、30 日間、6 例。

6) VB₆ 投与

ヘキゼルミン 20 mg 毎日皮下注射、30 日間、8 例。

実験成績ならびに考察

結核患者 27 例の尿 A に証明しえた遊離アミノ酸の呈色度の平均は、表に示すごとくである。

健康人尿中の遊離アミノ酸は、三辺ら¹⁴⁾ によればグリシン・アラニン・バリンであるといい、加藤ら¹⁵⁾ は

濾紙クロマトグラフによる人尿中の遊離アミノ酸

	結核患者尿		健康人尿	
	呈色度 平均	検出 回数	呈色度 平均	検出 回数
アラニン	2.0	27	3.0	2
アルギニン	0.2	6	0	0
アスパラギン	0.7	13	2.0	1
アスパラギン酸	0.9	19	3.0	2
β アミノイソ酪酸	1.7	22	0	0
グルタミン酸	1.7	27	3.0	2
グルタミン	0.2	3	0	0
グリシン	2.2	27	3.0	2
ヒスチジン	1.1	19	1.0	2
ロイシン	0.9	21	1.0	1
リジン	0.2	5	0	0
メチオニン	0.1	4	0.5	1
オルニチン	1.3	25	2.0	1
フェニールアラニン	0.2	5	1.0	1
セリン	1.7	23	2.0	1
タウリン	1.0	24	1.0	1
スレオニン	0.3	3	1.0	1
チロシン	0.3	9	0	0
バリ	1.1	25	1.0	1
例数		27		2

以上の3種のほかにグルタミン酸・アスパラギン酸・ロイシン・イソロイシンを認めたといひ、Stein¹⁶⁾によればさらにそのほかにヒスチジン・タウリン始め15種の遊離アミノ酸を証明しようという。Berry¹⁷⁾は357人の健康な白人の尿から15種類を確認したという。各研究者の成績にみられる相違は、主として尿に対する前処理とアミノ酸証明法の相違に基づくと考えられる。すなわち、もつとも種類の少ない三辺の成績は、濃縮その他なんらの前処理を施さぬ早朝尿0.05 mlにつき濾紙クロマトグラフを行なつたものであり、もつとも多種類のアミノ酸を証明したSteinの成績は、24時間尿を用い、イオン交換樹脂Dowex 50の円柱によるクロマトグラフを行なつたものである。

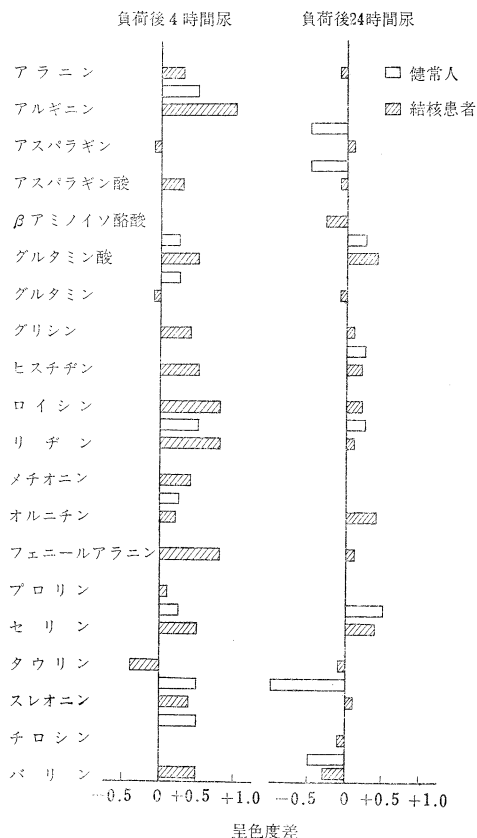
私の成績も含め健康人の各成績に共通してみられる傾向は、多量にまた頻回に排泄されるものは可欠アミノ酸であつて、不可欠アミノ酸は比較的少ないということである。

この健康人尿にみられる傾向は、疾病により若干の変化をきたす。肝疾患はそのもつとも顕著な例であるが、結核患者においてもかなりの変化のあることが報告されている¹⁸⁾。小川・石原¹⁹⁾は結核患者の尿中アミノ酸の増加とともに、デスオキシ核酸に由来するといわれる β アミノイソ酪酸が健康人に比ししばしば濃くまた

頻回に現われることに注目し、血中核酸の過剰の遊離と関連するものとみなしている。またKleinbaum²⁰⁾は結核児におけるアルギニン・バリン排泄の著しい増加およびスレオニンの出現を挙げ、これを結核性臓器における蛋白分解亢進の現れと解釈している。橋爪²¹⁾は肺結核患者におけるチロシンの尿中排泄増加を報告している。私の成績においても、総じてニンヒドリン呈色物質数は増加しており、また β アミノイソ酪酸・アルギニン・チロシンの増加という点でも、前人の得た成績と一致している。

総合アミノ酸負荷後の変動を比較すると(図1)、負荷後4時間では、健康、結核両群を通じておおむね増加の傾向を示すが、結核患者においてその傾向はより顕著である。すなわち、健康人ではアルギニン・グルタミン・リジン・チロシンが負荷後に新たに出現しているが、結核患者ではこれらアミノ酸は負荷前より存在し、この中のアルギニン・リジンおよびそのほかにロイシン・フェニールアラニンが濃度、出現回数ともに負荷後に著増し、さらに負荷前には認められなかつたプロリンの出現をみている。このことは、細田²²⁾もすでに記載しているごとく、アミノ酸の利用能の低下を示唆している。

図1 総合アミノ酸負荷後尿アミノ酸の負荷前呈色度との差



負荷後 24 時間では、両群ともにおおむね負荷前の状態に帰った。

以上のごとき結核患者尿中アミノ酸の異常の原因については、抗体産生の影響、肝障害、結核性病変に基づく組織蛋白崩壊の影響等が考えられる。そのほかに、 β アミノイソ酪酸と推定される物質の頻回の出現は、血中核酸遊離の過剰を示すものであるというが、結核にみられる血中核酸の増加について、青山²³⁾は分泌亢進せる副腎皮質ホルモンにより淋巴球が破壊されて放出された核酸がその主な給元であるとみている。また総合アミノ酸負荷後結核患者において増加排泄されるアミノ酸には不可欠アミノ酸が多く、このことは結核患者におけるアミノ酸の利用能の低下ならびに同化抑制傾向を思わせしめ、副腎皮質ホルモンの同化抑制作用²⁴⁾が思いあわせられる。すなわち、結核患者にみられる蛋白質およびアミノ酸代謝の擾乱には副腎皮質ホルモンがある役割を演じているもののごとくであるが、尿アミノ酸もある程度その

影響を受けていると考えられるのである。

以上のごとき尿アミノ酸の所見が、INH および VB₆ の 1 カ月間投与によりいかに変動するかを、次に検討した。図 2 に、両群のクロマトグラム上のニンヒドリン呈色斑の数および各アミノ酸の出現頻度の平均値を示す。

総合アミノ酸負荷前値を、投薬前後比較すると、INH 投与群において投薬後増加の傾向が認められる。個々のアミノ酸についてみるに、 β アミノイソ酪酸・リジン・メチオニン・フェニールアラニン・スレオニンにおいて増加が明らかである。これらのうち β アミノイソ酪酸以外はすべて不可欠アミノ酸である。

これに反し、VB₆ 投与群では、呈色斑数に明らかな変動なく、かつ INH 投与群で増加したものは本群ではいずれも増加を認めない。

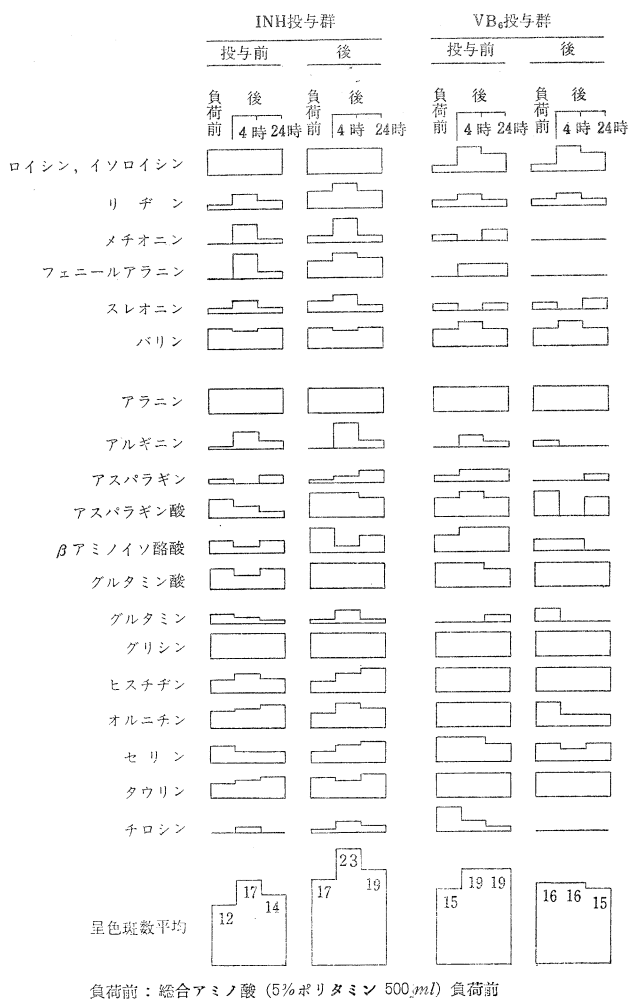
総合アミノ酸負荷後の変化は、INH 投与群では、増加傾向がかなり強められたようにみうけられ、負荷後 24 時間尿でも若干の増加傾向を残している。この負荷後増加傾向の助長は、可欠、不可欠を問わず各アミノ酸に共通して認められる。

これに対して、VB₆ 投与群では、負荷後増加の傾向は投薬後抑制されたかのごとくである。これら両群の患者について同時に血清蛋白分画を測定すると、INH 投与群においてはアルブミンの有意的増加、総グロブリンの有意的減少、VB₆ 投与群では γ グロブリンの有意的増加を認めた⁹⁾。

INH に結核患者血清のアルブミンを増加せしめグロブリンを減少せしめる作用のあることは、すでに諸家の一致した見解である。血清のアルブミンとグロブリンとは、その分子量、アミノ酸構成にかなりの相違を有するのであり、したがって血清蛋白像に大きな変動がある場合、各構成アミノ酸の集散、同化、異化は、ともに旺盛活発にならざるをえないであろう。すなわち、INH 投与によるアミノ酸の尿中排泄の増加は、血清蛋白像の変動と一連の変化と解せられる。しかして、排泄増加したアミノ酸のほとんどすべてが不可欠アミノ酸であることは、その変化が異化的傾向に偏するものであることを示唆しており、これは、INH の作用にアミノ酸代謝を阻害する一面があるのではないかという推測⁹⁾の根拠となりうると思う。

また、2 群の尿アミノ酸所見を対比するとき、随所に対蹠的な影響が観取されることは、2 剤が人のアミノ酸代謝においても相拮抗することを裏書きするものであつて、

図 2 結核患者尿アミノ酸の出現頻度およびその総合アミノ酸、INHならびにVB₆投与による変化



INH のアミノ酸代謝に及ぼす影響の少なくとも一部は、VB₆ に対する拮抗の結果であることの、一証左たうると思うのである。

結 論

1) 肺結核患者尿中には、健常人におけるよりも多種類の遊離アミノ酸が排泄される。

2) 総合アミノ酸負荷により、尿中遊離アミノ酸は、濃度、出現頻度ともにおおむね増加するが、この傾向は健康者よりも結核患者においてより顕著であり、アミノ酸利用能の低下を示している。

3) 肺結核患者尿の濾紙クロマトグラム上のニンヒドリン呈色斑数は、INH 投与により増加を示した。これは、血清蛋白像の変動と一連の変化と解せられる。VB₆ 投与では増加をみなかった。

4) INH 投与により増加の著しかつたアミノ酸は、リヂン・メチオニン・フェニールアラニン・スレオニン・β アミノイソ酪酸等主として不可欠アミノ酸である。

5) 総合アミノ酸負荷による尿アミノ酸の増加傾向は、INH 投与によつては助長され、VB₆ 投与によつては抑制された。両者は人のアミノ酸代謝においても相拮抗すると考えられる。

撰筆するにあたり、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜わつた恩師山田豊治教授に深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) Pope : Am. Rev. Tuberc., 68 : 938, 1953.
- 2) Huges, et al. : ibid., 70 : 266, 1954.

- 3) Rosen : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 88 : 243, 1955.
- 4) Lichstein : ibid., 88 : 519, 1955.
- 5) 和田 他 : 結核, 34 : 417, 昭34.
- 6) Breedhage : Beitr. Klin. Tbk., 107 : 494, 1952.
- 7) Trautwein : ibid., 114 : 441, 1955.
- 8) Baldwin, et al. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 372, 1953.
- 9) 柿木 : 結核, 35 : 313, 昭35.
- 10) Stebbins : Amer. J. Physiol., 166 : 538, 1951 ; Endocrinology, 49 : 25, 1951.
- 11) Butler, et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 83 : 655, 1953.
- 12) 石原 他 : 医学と生物学, 29 : 50, 昭28.
- 13) 佐竹 : 化学の領域, 3 : 264, 昭24.
- 14) 三辺 他 : 日本消化機病学会雑誌, 49(4) : 74, 昭26.
- 15) 加藤 他 : 信州医学雑誌, 1 : 53, 昭27.
- 16) Stein : J. Biol. Chem., 201 : 45, 1953.
- 17) Berry : Amer. J. Phys. Anthropol., 11 : 559, 1953.
- 18) 増本 : 結核, 14 : 419, 昭11 ; 京都府立医科大学雑誌, 36 : 33, 昭17.
- 19) 小川 他 : 環境医学研究所年報, 3 : 11, 昭27 ; 結核, 28 : 635, 昭28.
- 20) Kleinbaum : Monatsschr. Kinderheilkunde, 103 : Heft 1, 1955.
- 21) 橋爪 : 北海道医学雑誌, 28 : 257, 昭28.
- 22) 細田 他 : 日本内科学会雑誌, 36 : 127, 昭23.
- 23) 青山 : 結核研究の進歩, 9 : 37, 昭30.
- 24) Albright : Ann. Internal. Med., 27 : 861, 1947.