

栄養学的にみた体力向上の意義および
脱体質的体力指標の設定に関する研究
—— acidosis に対する体の反応と栄養 ——

梶山女学園大学 芦田 淳

(共同研究者) 同 山下京子

**Possible Useful Criteria for Judging
Nutritional Adequacy to Vital Force**

by

Kiyoshi Ashida, Kyoko Yamashita
Sugiyama-Jogakuen University

ABSTRACT

The adaptive response to acidosis was selected as one of useful criteria for judging nutritional adequacy to vital force. Acidosis was made by giving 1.5% NH_4Cl solution as a drinking water.

Four-five weeks-old male Wistar rats were fed 15% casein diet, 5% casein diet, protein-free diet, mineral-deficient diet, vitamin-deficient diet and energy-deficient diet with 1.5% ammonium chloride solution for 9 days. Urinary ammonium ion excretion, renal glutaminase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities were determined. The ratio of urinary ammonium ion excretion to renal glutaminase activity was reduced in protein-, vitamin-, and mineral-deficiencies, but not affected in energy-deficiency.

要 旨

体力に関連する基準の一つとして、acidosis に対する体の適応反応を選んだ。1.5% NH_4Cl 溶

液を drinking water として与え、acidosis をおこさせた。

4～5週齢雄の Wistar ラットに15%カゼイン飼料、5%カゼイン飼料、無タンパク質飼料、ビ

タミソ欠乏飼料，無機質欠乏飼料，エネルギー不足飼料を与えると同時に NH_4Cl を与えて9日間飼育し，尿 NH_4^+ 排泄量，腎 glutaminase, phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) 活性を測定した。

また，11～13週齡ラットに15%カゼイン飼料を与えてしらべる実験も行った。

15%カゼイン飼料を与えた場合に比較して，タンパク質不足あるいは欠乏，ビタミン欠乏，無機質欠乏では腎 glutaminase 活性に対する尿 NH_4^+ 排泄量の比が低下したが，エネルギー不足の場合には15%カゼイン飼料を与えた場合と変わらなかった。また，11～13週齡ラットの場合にも腎 glutaminase 活性に対する尿 NH_4^+ 排泄量の比が低下した。

以上の結果から，acidosis に対する体の適応反応はビタミン，無機質，あるいはタンパク質の欠乏，さらに加齢により低下するが，エネルギー不足によっては影響も受けないことが明らかとなった。

ま え が き

実験動物栄養学における栄養価値の判断基準は物質増加量，すなわち，成長速度が主である。もちろん，窒素バランス，血中成分，代謝の変動などが用いられているが，これも栄養素の質と量を判定するためのものである。

これに対し，寿命，感染に対する抵抗性，傷の治癒速度など体力と関連すると考えられる基準も用いられることがある。このような体力と関連すると考えられる基準が他にないものかと，二，三の実験を行ってきた。

体力には，持久力と変化に対する即応力がある。栄養学において，寿命と栄養素との関係がしらべられているが，これは持久力に属するものと言えよう。これに対し，環境の影響を受けて後，もとにもどる速度は変化に対する即応力と言える

もので，体力に關係すると考えられる。この変化に対する即応力に關して，わたくしどもは數年來実験を重ねている。

最初に行ったのは，ラットを 15°C の水槽につけると，直腸温が低下するが，ラットを室温にもどすと，直腸温は直線的に上昇する。この直腸温上昇の速度を測定した。

ついで，ラットを 5°C の水槽につけると，血中乳酸量が上昇する。この血中乳酸量のもとにもどる速度も測定した。そして，加齡の影響，栄養素との関連をしらべた。

上記の二つの方法においては，環境の変化は物理的なものであったが，今回は acidosis をおこした場合の体の適応反応をしらべた。すなわち，acidosis を正常にもどすための代謝變動の速度が，体力と関連する栄養状態の判断基準になるかどうかを確かめようとするものである。

acidosis 時の代謝變動について，Rector ら¹⁾ は，1955年，ラットに NH_4Cl を飼料とともに与え，acidosis をおこさせると，尿中 NH_4^+ の上昇とはほぼ平行して，腎 glutaminase 活性が上昇することを認め，腎で glutamine が glutaminase によって NH_4^+ を生成し，尿中に排泄されるものと考えた。

1978年，Brosnan ら²⁾ は 1.5% NH_4Cl 溶液を drinking water としてラットに与え，acidosis をおこさせると，腎 glutaminase のみならず，腎 PEPCK (phosphoenol-pyruvate carboxykinase) 活性が上昇することを知った。

これは，glutamine から glutaminase によって NH_4^+ が生成されると同時に glutamate が生成され，この glutamate の陰イオンを消失してはじめて NH_4^+ が acidosis の中和に役立つことができるために，腎 PEPCK 活性が上昇するのだと解釈している。

そこで，わたくしどもは，acidosis をおこさせ

たラットの尿中 NH_4^+ , 腎 glutaminase, PEPCK 活性の変動を測定して, 代謝変動の速さをしらべることとした。

実験方法

基本飼料は, 表1に示すように, 15%カゼイン飼料とした。

表1 Composition of 15% Casein Diet

	(g/100g diet.)
Casein	15.00
α -Starch	74.35
Corn oil	5.00
Mineral Mixture*	3.50
Vitamin A, D, E in Corn oil	1.00
Vitamin Mixture**	1.00
Choline Chloride	0.15
	100.00

* AIN-76TM Mineral Mixture

** AIN-76TM Vitamin Mixture

5%カゼイン飼料, 無タンパク質飼料, ビタミン欠乏飼料, 無機質欠乏飼料も用いた。エネルギー不足の条件を与えるためには, 飼料摂取量を15%カゼイン飼料摂取自由食群の半分とした。その際, 飼料中のタンパク質含量を30%として, タンパク質摂取量を基本飼料である15%カゼイン飼料投与群と同じになるようにした。

acidosis をおこさせるには, drinking water として 1.5% NH_4Cl 溶液を与えた。水を与えたものを対象群とした。

これらの飼料を 4~5 週齢ラット (雄の Wistar) に与え, ステンレス網を備えた合成樹脂製の代謝かごで約 9 日間, 場合によってはさらに長期間飼育した。加齢の影響をしらべるためには, 11~13 週齢ラットを用いた。尿中 NH_4^+ 排泄量は毎日測定した。藤井奥田法変法のキットを使用した。

腎 glutaminase 活性は Carthoys と Lowry の

方法³⁾, PEPCK 活性は Utter と Kurahashi の方法⁴⁾により測定した。

実験結果

最初に加齢の影響をしらべた。4~5 週齢あるいは 11~13 週齢ラットに 15%カゼイン飼料を与えた場合の尿中 NH_4^+ , 腎 glutaminase および PEPCK 活性の経時的变化を体重 100g 当りで示すと, 図1のようである。

4~5 週齢ラットの尿 NH_4^+ 排泄量は約 1 週間上昇を続けた後 plateau に達した。それと平行して, 腎 glutaminase 活性も上昇した。この結果は Rector ら, Brosnan らの結果と一致している。

しかし, 11~13 週齢ラットの場合には, 尿 NH_4^+ 排泄量は NH_4Cl 投与後 2 日で plateau に達し, かつ少なかった。腎 glutaminase 活性も NH_4^+ 排泄量と平行していた。11~13 週齢ラットの腎 glutaminase 活性は 4~5 週齢ラットの活性に比べて低かった。しかし, 低下の程度は NH_4^+ 排泄量の場合ほどではなかった。

腎 PEPCK 活性の NH_4Cl 投与あるいは加齢による変化は小さかった。

acidosis 時の適応反応に対するタンパク質の影響をしらべるために, 無タンパク質飼料および 5%カゼイン飼料を 4~5 週齢ラットに与える実験を行った。その結果を図2に示す。

無タンパク質飼料あるいは 5%カゼイン飼料を与えた場合には, NH_4Cl 投与による尿 NH_4^+ 排泄量の増加は少なく, かつ, NH_4Cl 投与 2 日ぐらいで plateau に達した。

腎 glutaminase 活性は, NH_4Cl 投与 7~9 日後測定したに過ぎなかったが, いずれも NH_4Cl 投与によって上昇した。しかし, 上昇の程度は 15%カゼイン飼料投与ラットの場合に比べて小さかった。

PEPCK 活性も, NH_4Cl 投与によって上昇の

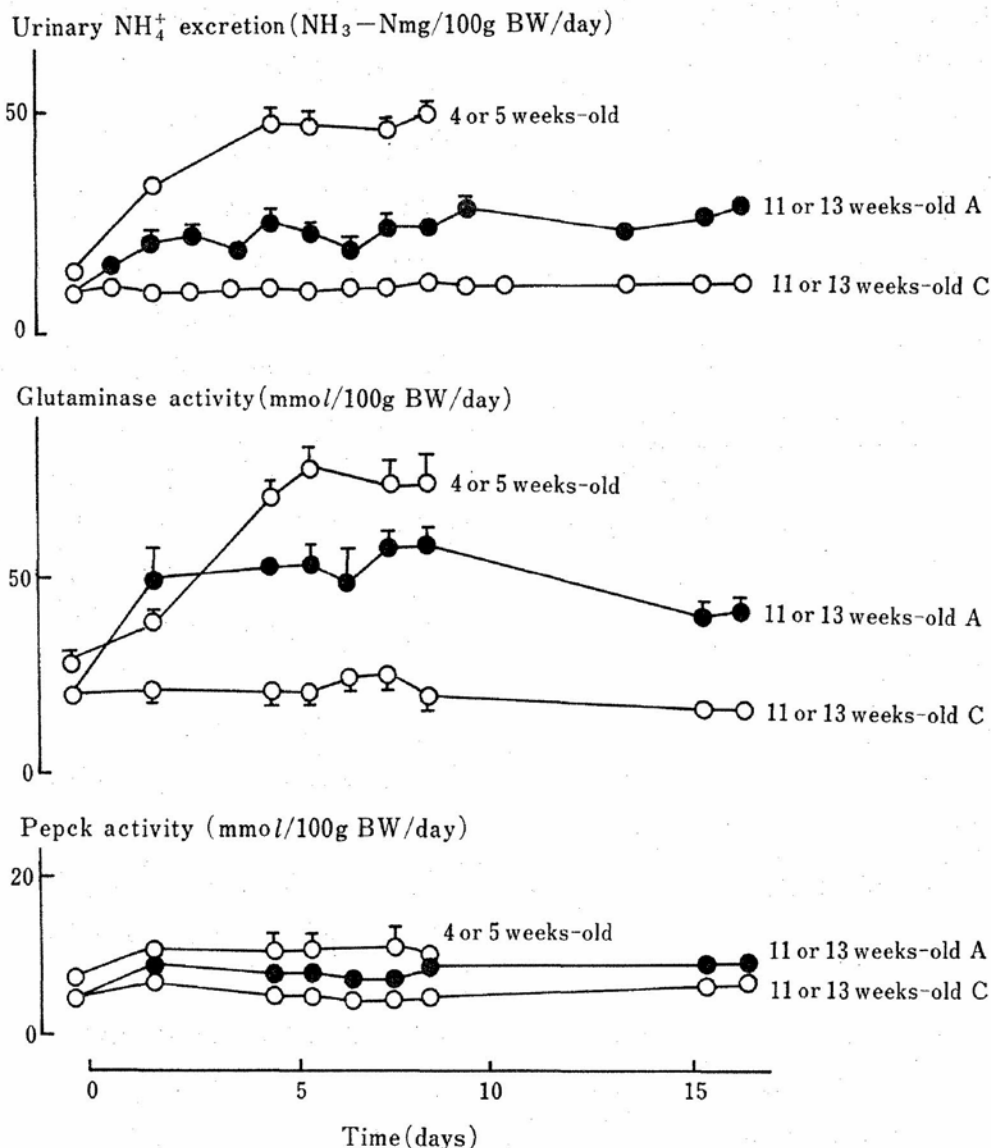


図1 Urinary NH₄⁺ excretion, renal glutaminase and PEPCK activities during NH₄Cl-induced acidosis in 4 or 5 weeks-old and 11 or 13 weeks-old rats fed control diet. (The vertical lines 1 SE.)

傾向を示したが、上昇の程度は glutaminase ほどでなかった。

acidosis 時の適応反応に対する無機質あるいはビタミンの影響をしらべるために、無機質欠乏飼料、あるいはビタミン欠乏飼料を与える実験を行った。その結果を図3に示す。

無機質欠乏飼料を摂取するラットに NH₄Cl を与えると、尿 NH₄⁺ 排泄量は急激に上昇するが、その後は変化しないか、減少傾向を示した。無機質欠乏飼料を与えて8~9日目に腎 glutaminase

活性を測定すると、NH₄Cl を与えない対象群でも、15%カゼイン群よりも高い値を示した。これは恐らく無機質の摂取がないために、体内で電解質をつくりだす必要が生じたため、glutaminase 活性を上昇させたのではないかと想像される。無機質欠乏飼料を与えたラットに NH₄Cl を与えると、腎 glutaminase 活性はさらに上昇し、尿中 NH₄⁺ 排泄と平行していた。PEPCK 活性は、この場合にも変化は少なかった。

ビタミン欠乏飼料に NH₄Cl を与えた場合に

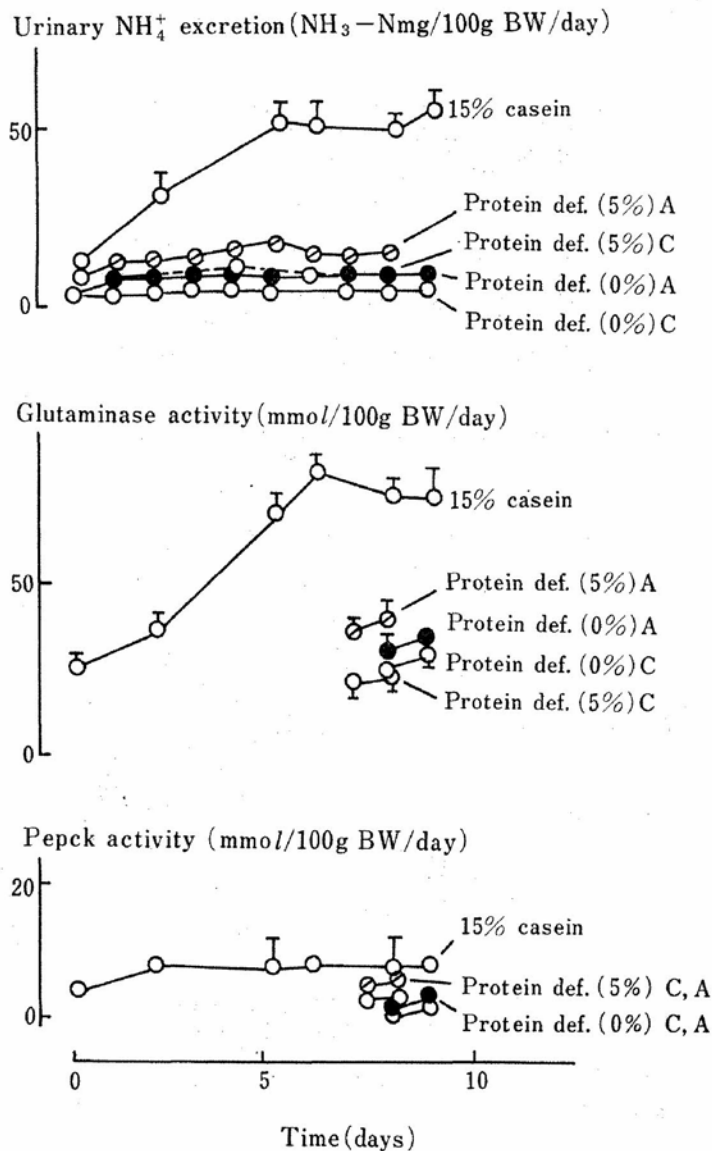


図2 Urinary NH₄⁺ excretion, renal glutaminase and PEPCK activities during NH₄Cl-induced acidosis in 4 or 5 weeks-old rats fed control diet and protein deficiency (5%, 0%) diets. (The vertical lines 1 SE.)

は、無タンパク質飼料あるいは5%タンパク質飼料に NH₄Cl を与えた場合と同様に、尿 NH₄⁺ 排泄量の増加は少なかった。ビタミン欠乏飼料に NH₄Cl を与えて 4, 6, 8 日目に腎 glutaminase 活性を測定したところ、いずれも対象群より高い値を示した。この場合にも PEPCK 活性の変化は少なかった。

つぎに、エネルギー摂取量に不足した場合に、acidosis に対する体の適応反応がどのように変わるかをしらべる目的で、飼料摂取量を50%に制限

して与えた。この際、タンパク質摂取量は、15%カゼイン飼料摂取群と同じとなるようにした。この実験の結果も図3に記入した。

このようなエネルギー欠乏飼料を摂取したラットに NH₄Cl を与えると、無機質欠乏飼料を摂取したラットに NH₄Cl を与えた場合、あるいは15%カゼイン飼料摂取 11~13 週齢ラットに NH₄Cl を与えた場合と同様に、急激に尿 NH₄⁺ 排泄量が増加し、以後その量が保たれた。この排泄量は15%カゼイン飼料摂取ラットに NH₄Cl を与え

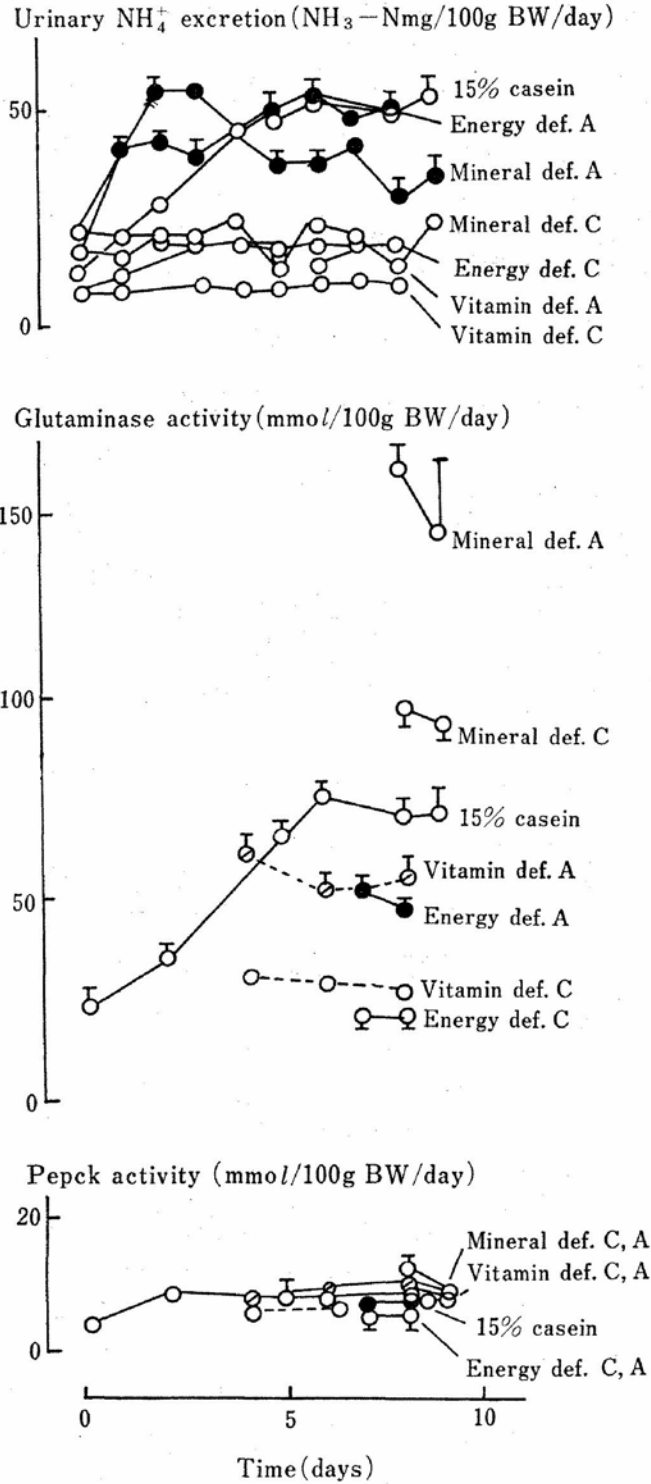


図3 Urinary NH₄⁺ excretion, renal glutaminase and PEPCK activities during NH₄Cl-induced acidosis in 4 or 5 weeks-old rats fed control diet and several deficient (vitamin-, mineral-, energy- deficient) diets. (The vertical lines 1 SE.)

た場合と同じであった。エネルギー摂取不足ラットに NH₄Cl を与えて 8, 9 日目の腎 gluta-

minase 活性は, NH₄Cl を与えない対象群に比べて高い値を示した。PEPCK 活性の変化は少なか

った。

考 察

最初に、acidosis に対する適応反応が加齢によってどのように変わるかをしらべた。15%カゼイン飼料摂取4~5週齢ラットおよび11~13週齢ラットに NH_4Cl を与えたときの尿 NH_4^+ 排泄量と腎 glutaminase 活性との関係を見るため、腎 glutaminase 活性に対する尿 NH_4^+ 排泄量を plot すると、図4のようである。

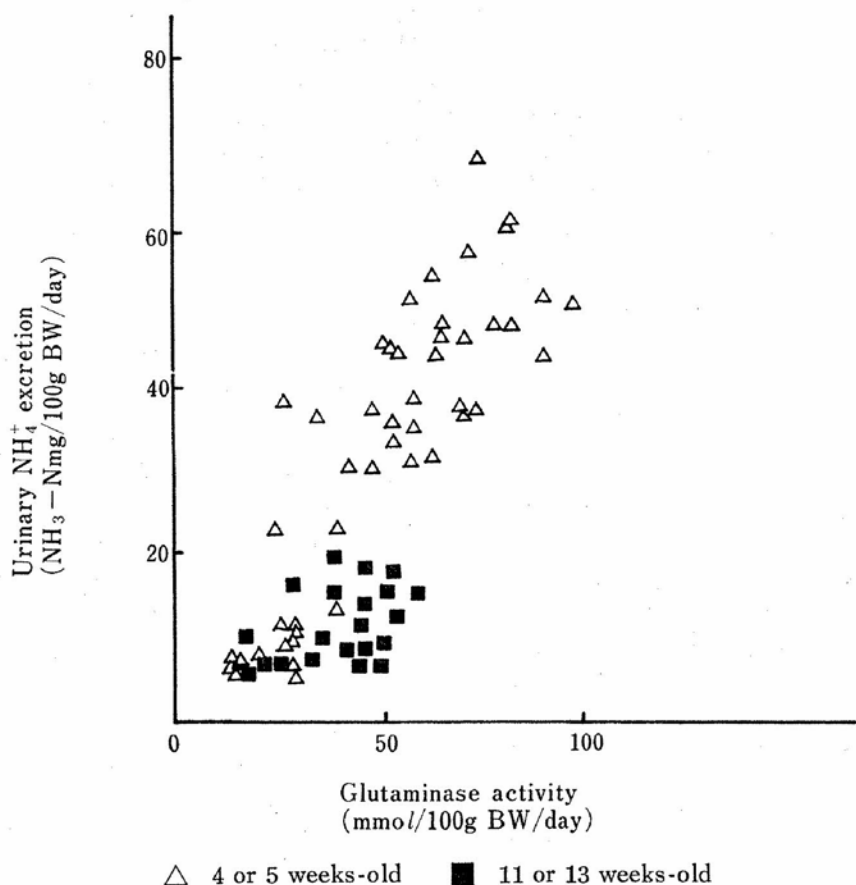
この図からわかるように、加齢によって glutaminase 活性に対する尿 NH_4^+ 排泄量は少なくなった。

つぎに、栄養素の欠乏飼料あるいはエネルギー不足飼料を摂取したラットに NH_4Cl を与えた場合の腎 glutaminase 活性に対する尿 NH_4^+ 排泄

量を比較すると、図5のようである。

この図から明らかのように、異なった飼料を与えられた6群の腎 glutaminase 活性に対する尿 NH_4^+ 排泄量の比は2種類に分かれた。

15%カゼイン群とエネルギー不足群では、この比が大きいのにに対し、5%タンパク質群、無タンパク質群、ビタミン欠乏群、無機質欠乏群ではこの比が小さかった。タンパク質、ビタミン、あるいは無機質が欠乏した場合には、腎 glutaminase 活性が上昇した割には尿 NH_4^+ 排泄量は少なかった。すなわち、acidosis 時の体の適応反応に異状が認められた。しかし、エネルギーが不足した場合には、カゼイン15%群と同じであり、acidosis に対する体の適応反応に影響はなかった。したがって、タンパク質、ビタミン、無機質などが存在すると、エネルギーが不足しても、acidosis



△ 4 or 5 weeks-old ■ 11 or 13 weeks-old
 図4 Relationship between urinary NH_4^+ excretion and renal glutaminase activity of 4 or 5 weeksold and 11 or 13 weeks-old rats fed 15% casein diet during NH_4Cl -induced acidosis.

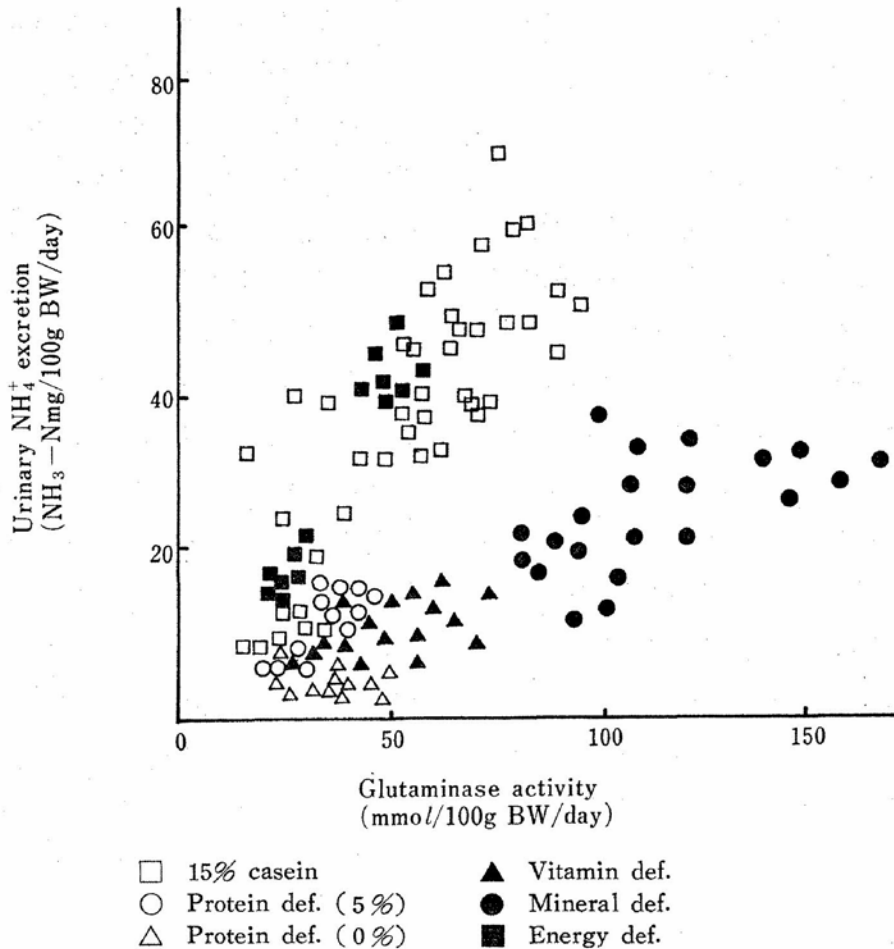


図5 Relationship between urinary NH₄⁺ excretion and renal glutaminase activity of 4 or 5 weeks-old rats fed control (15% casein) diet and several deficient (vitamin-, mineral-, energy-deficient) diets during NH₄ Cl-induced acidosis.

に対する体の反応は正常に保たれることを知った。

結 論

変化に対する即応性が体力と関連するとの考えのもとに、これをしらべる一つの方法として、acidosis に対する体の適応反応を尿 NH₄⁺ 排泄量と腎 glutaminase 活性からしらべた。

その結果、acidosis に対する体の適応反応は、加齢によって低下するとともにタンパク質、ビタミンあるいは無機質の欠乏、さらに加齢により低下するが、エネルギー不足の場合には影響を受けず、正常に保たれることが明らかとなった。

文 献

- 1) Rector, F.C. Jr., Seldin, D.W. and Copenhagen, J.H.; The mechanism of ammonia excretion during ammonium chloride acidosis, *J. Clin. Invest.*, **34** : 20—26 (1955)
- 2) Parry, D.M. and Brosnan, J.T.; Glutamine metabolism in the kidney during induction of and recovery from, metabolic acidosis in the rat, *Biochem. J.*, **174** : 387—396 (1978)
- 3) Curthoys, N.P. and Lowry, D.H.; The distribution of glutaminase isoenzymes in the various structures of the nephrons in normal, acidic, and and alkalotic rat kidney, *J. Biol. Chem.*, **248** : 162—168 (1973)
- 4) Opie, L.H. and Newsholme, E.A.; The activities of fructose 1,6-diphosphate, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate-carboxykinase in white muscle and red muscle, *Biochem. J.*, **103** : 391—399 (1967)