

アミノ酸栄養研究の源流

名古屋大学名誉教授 吉田 昭

日本栄養・食糧学会中部支部設立 40 周年記念講演会に当たり、支部設立に大変ご尽力いただきました芦田 淳先生、古武弥人先生はじめ諸先達に心から敬意と感謝の意を表したいと存じます。

芦田先生、古武先生共にアミノ酸、タンパク質の分野で偉大なご功績をあげられ、本日このような講演会が開かれますことは大変意義深く感じる次第です。

1. アミノ酸の発見と栄養

アミノ酸の発見は意外と早い。Cys は 1810 年に胆石から発見され、Leu は 1820 年に羊毛の加水分解物から発見されている。Met、Thr 以外の必須アミノ酸は、大体 1910 年以前に発見されていたが、直ちにアミノ酸栄養研究に結びついていたわけではない。

Kossel と Kutcher ならびに Fischer らは、タンパク質の加水分解物から個々のアミノ酸の分画、定量法の開発に大きく貢献した。Fischer はまた Val の単離、同定をするとともに Pro も発見している。

タンパク質に含まれるアミノ酸の定量法の進歩からタンパク質の栄養的良否がそれに含まれるアミノ酸の量に影響されるのではないかと考えられるようになり、Kauffman (1905) は、ゼラチンで動物が生育できないのは特定のアミノ酸の欠乏によるのではないかと考えから、自分自身を被験者として食事の唯一のタンパク質源としてゼラチンを用い、これに Trp、Cys、Tyr を加えることによって N-平衡が保たれると報告したが、学会で受け入れられなかった。

アミノ酸の添加でタンパク質の栄養価が改善されることを示す初期の学術論文として引用されるのは、次の Willcock と Hopkins (1906) の研究である。彼らは、とうもろこしタンパク質 zein を唯一のタンパク質源としてマウスを飼育するとマウスは生存できないが、これに Trp を添加すると、成長はしないが生存日数は大きく延びることを示した。

次いで、Osborne と Mendel (1914) は、zein に Trp だけでなく Lys も添加するとラットの体重が増加することを示し、Lys と Trp は食事の "indispensable constituents (不可欠成分)" であることを明らかにした。

タンパク質に 1 つのアミノ酸が全く含まれないことは少ないから、アミノ酸の 1 つ 1 つについて何が "不可欠成分" であるかの総合的研究は、Rose の Thr の発見(1935) によって、タンパク質の代わりにアミノ酸混合物を用いて動物が飼育できることによって初めて可能になった。Thr 発見の栄養学的意義は非常に大きい。

2. 日本におけるアミノ酸混合物による動物の飼育実験と "不可欠因子" の探究

今から約 100 年前の 1907 年（明 40）頃、わが国では、鈴木梅太郎の研究室ではタンパク質の代わりにアミノ酸混合物を用いて動物の飼育実験が行われていた（前田司郎 1938 の論文による）。約 10 種のアミノ酸混合物でハトを飼育しようとしたが、ハトを成長させることはできなかった。しかし、無窒素飼料の場合に比べると、はるかに長く生存した。ラットについても同様で、飼料中に何らかの新因子が必要であろうと考えられた。鈴木梅太郎はビタミン B₁（オリザニン）の発見者としてあまりにも有名であるが、アミノ酸の研究についてはビタミンほどには知られていない。

当時、すでにタンパク質は消化管でアミノ酸に分解されて吸収されるものと考えられており、鈴木研究室の前田らは、適当な条件ではアミノ酸混合物はタンパク質に置き換えうるものと推定した。事実、フィブリンやカゼインの消化酵素による分解物でもラットが成長することが示された。さらに、魚肉の硫酸分解物と水酸化バリウム分解物の混合でも、タンパク質に置き換えうるということが分かった。同様の実験は、鈴木研究室では早くから行われていたが、動物の成長実験に成功したのは前田が最初である。それまで成功しなかったのは、微量の残留バリウムの毒性によって動物が成長できなかったようで、僅かな実験技術の差が成功に大きく影響することを示している。

同じころ、ドイツでは Abderhalden (1912) が結晶アミノ酸 16 種を混合してイヌに与え 1 週間 N-平衡が維持されると報告したが、Osborne と Mendel によって実験条件が不十分であると批判された。Abderhalden と鈴木梅太郎は、ドイツの Fischer の研究室での同僚である。

ついで前田らは、精製したアミノ酸混合物を用いてラットの飼育実験を行った。用いたアミノ酸には Leu、Phe、Trp、His、Lys、Arg など 14 種が含まれていた。Thr が含まれていないのは当然であるが、不思議なことに Met、Ile、Val が記載されていない。

このような飼料でラットを飼育したところ体重は急速に減少し、タンパク質の加水分解物から得た”モノアミノモノカルボン酸”分画の添加で正常に成長した。前田はこれから有効成分を取り出し、元素分析の結果 C₅H₁₁O₃N (oxyamino-valerianic acid) と推定した。後に Rose が発見した Thr より炭素鎖が 1 つ長いものであった。真に残念なことである。もし前田の発見したものが Thr であつたら、わが国のアミノ酸研究も大きく変わっていたかもしれない。

3. Rose による Threonine の発見

前田と同じころ、アメリカでは Rose (Mendel の弟子) が、やはりアミノ酸混合物でラットを飼育することを試みていた。Rose は、膨大な実験経験から、未知の必須アミノ酸の存在を固く信じていた。前田の報告した hydroxyvaline (Rose はこのように記載している) は未知の必須アミノ酸ではないと考えていたので、前田の報告を見て非常に驚いたようである。

Rose は、1 kg のフィブリンから 0.8 g の有効成分を得たが、精製は極めて困難であったと述べている。この有効成分は、aminohydroxy-n-butyric acid の 4 つの異性体の 1 つで、Threonine と命名された(1935-36)。

前田も Rose の結果を見て直ちに追試し、これが必須の有効成分であることを確認

した。その数年後の1941年、前田は“蛋白質の分解物を用いる動物飼育試験（第16報）の実験中に病気で急逝し、必須アミノ酸に関する研究はその後Roseの独り舞台となった。

アミノ酸はその後も長い間、貴重な試薬であった。アミノ酸が工業的に大量生産することが可能になり、わが国でも一般に動物実験に用いられるようになったのは、1950年代後半のことかと思われる。前田やRoseが如何に困難な中で実験したかが想像される。

4. ラットにおける必須アミノ酸の決定

RoseのThr発見(1935)以前に、ラットに対する必須アミノ酸として知られていたのは

Trp : Willcock and Hopkins (1906-7), Osborne and Mendel (1914)

Lys : Osborne and Mendel (1914)

His : Aekroyd and Hopkins (1916)

Met or Cys : Jackson and Block (1931)

などである。RoseによるThrの発見によって、20種のアミノ酸混合物から1種のアミノ酸を除いてその影響をみることは容易になり、ラットについてRose(1948)は必須アミノ酸と非必須アミノ酸の分類を行った。必須アミノ酸は、Lys、Trp、His、Phe、Leu、Ile、Thr、Met、Val、(Arg)であり、Argは幼ラットの最大成長にのみ必要で、これを必須とするか非必須とするかは”定義”の仕方によると述べている。非必須アミノ酸としてあげているのは、Gly、Ala、Ser、Cys、Tyr、Asp、Glu、Pro、Hpr、Citなどである。Rodwell(1988)は、栄養学で用いている必須アミノ酸(essential, or indispensable amino acids)の用語は生化学的には曖昧であると述べている。

5. 非必須アミノ酸、アンモニウム塩、尿素の効果

タンパク源として必須アミノ酸混合物のみを用いた場合より、非必須アミノ酸を加えた場合の方が、ラットの成長は明らかに良くなる(Rose 1948)。アンモニウム塩や尿素でも効果がみられる。また、重窒素で標識した尿素をラットに与えると、体タンパク質のアミノ酸に重窒素はとりこまれる(Rose 1956)。尿素は、消化管で微生物の作用でアンモニアに分解され、アミノ酸に取り込まれると考えられている。

Krebsは、”高等動物で、アンモニア-Nをアミノ酸のアミノ基に取り込む唯一の酵素系は、Glutamic dehydrogenase systemである”と述べており、一般にそのように理解されている。しかし、近年Katagiri and Nakamura(2003)は、この反応系に疑問をもち、”高等動物では、Glutamic dehydrogenaseの作用で α -ケトグルタル酸とアンモニアからグルタミン酸は合成できない。 α -アミノ基の生成は、専ら植物、微生物に依存している。”と述べている。このような基礎的問題に現在なお疑問があることは興味深い。

6. 成人の必須アミノ酸としてのヒスチジン

ラットでの実験を基に、Roseは成人男子について、主としてN-出納を指標とし

て必須アミノ酸を決定した。ラットとよく似ているが、His、Arg が含まれていない。Arg は、ラットでも最大成長にのみ必要であるのでそれ程不思議ではないが、His が必須でないことには非常に不思議であると述べている。その後、Snyderman ら (1963) によって、乳幼児では体重増加や体窒素の蓄積に His が必要であることが示された。

Bergstroem ら (1970) は、尿毒症患者に輸液で栄養補給をした際、His を含まない場合に比べ His を添加した時はN-出納が幾分改善されることを観察し、尿毒症患者には His が必須であると報告した。さらに、Swendseid ら (1975) は、健常な成人でも His を含まない食事では血中の遊離ヒスチジン、ヘマトクリット、血清アルブミンが減少し、His の添加で回復することを示し、N-出納以外の指標を用いて、His が成人でも必須であると考えた。これらのことから、FAO/WHO/UNU (1985) の報告でも、His が成人の必須アミノ酸として取り扱われるようになった。

7. 非必須アミノ酸の多様な機能と栄養的重要性

通常非必須アミノ酸と考えられているものの中でも、代謝系の未発達な未熟児や、代謝障害のある患者で長期経静脈栄養補給を受けている場合など、種々な条件で必要になるアミノ酸があり、Conditionally Indispensable Amino Acids (条件付き必須アミノ酸) と呼ばれるようになってきた。Arg、Tau、Gln、その他多くのアミノ酸について報告されている。ここでは、日本で発見されたシトルリン(Cit) について考えてみたい。

Cit は、1930年に鈴木梅太郎研究室の和田光徳によって構造決定されている。鈴木梅太郎研究室の関係者によって編集された鈴木梅太郎先生伝(1967)によると、当時、西瓜(Citrullus vulgaris)が糖尿病に有効といわれていたので、西瓜の果汁成分の研究が行われ、有効成分は見出されなかったが、新アミノ酸 Citrulline が発見された(1914)。しかし、その生理機能はよく分からなかったため、十数年放置され、ビタミン研究をしていた和田が関東大震災で動物実験ができなくなったため、その構造決定をしたと書かれている。その僅か2年後に Krebs (1932) は尿素サイクルを発見し、Cit がその重要な中間代謝物であることを示した。もし、Cit が発見されていなかったら、Krebs の尿素サイクルの発見はどのようになっていたのだろうか、興味深い。

その他、アミノ酸栄養研究の流れの中で、特筆すべきものとして Elvehjem らによるアミノ酸インバランスの研究 (1945) がある。これはカゼイン食にトウモロコシ粉を加えた場合にニコチン酸の欠乏が起こるという現象から始まっていることも次第に歴史の彼方に忘れられつつあるような気がする。