

ビタミン B₁ 附燐化に対する副腎皮質 ホルモン乃至 ACTH の影響

金沢大学医学部第二内科教室(主任 日置教授)

西 田 隆 一

(昭和31年12月12日受付)

The Effect of Adrenocortical Hormones and ACTH on the Phosphorylation of Thiamine Ryūichi Nishida

*The Second Medical Clinic, School of Medicine, Kanazawa University
(Director : Prof. Dr. M. Heki)*

緒 言

諸ホルモンの本態に関しては、今や漸次解明せられ、又その消長についても或る程度精細な報告があるが、さてこれらのものが生体内において行われる諸化学反応のいずれに作用するかという作用機転になると、研究者達の多大の努力に拘らず、未だ決定的なものが寡い。我が副腎皮質糖質ホルモンについても、又然りである。爾来しかし本問題については、二つの方向に関する推定が為されている。その一つは特定化合物の附燐作用にどの程度にか関与しているのではなからうかということであり、今一つは *sulfhydryl* 基を中心とする生体の酸化還元反応に関するものではなからうかということである。今日 *sulfhydryl* 基をその中に包含し、これにより酵素作用の活性を呈すると目される酵素は可成りの数に上っており、その活動範囲も多岐に亘るので、若し皮質ホルモンにしてこのことに関与するとすれば、その影響の及ぶべきことは蓋し甚だ大なるものがあろう。

附燐作用に及ぼす影響についての推論が進められた原因に関しては多々あろうが、糖質ホルモンの名称そのものが示すように皮質ホルモンの或るものは特に深く糖質代謝に関係し、その進行は糖質 *phosphate* の介在なくしては考えられぬからである。

然るに、両説とも未だ確たる結論を得ざることは周知の如くであるが、若し後者に関係し、有機物の附燐作用に密接なる関連ありとすれば、或いはビタミン

B₁ の附燐化について何程かの関係が認められても可成りであろう。殊に最近教室竹内¹⁾が多数のヒポビタミンノーゼ B₁ 患者について、血中焦性葡萄糖量に及ぼす B₁ の影響を観察中、大多数のものは後者の影響を受けて漸次焦性葡萄糖の分解する傾向を示したが、中に頑強な低抗を呈するものがあり、漸く副腎皮質製剤を同時に与えることによつて、焦性葡萄糖の低下並びに症状の軽快を見たことは、或いは B₁ の活性化の衰えた者に対して、皮質ホルモンが何らかの作用を及ぼすものでなからうかということをも多分に想像せしめるものがあつた。

又その他の文献に徴するに、これより先、井上²⁾もかつて栄養失調患者について、B₁ を或いは単独に投与、又或いはこれに副腎皮質製剤を併用して両者の比較を行つたところ、後者の方が前者に比し血中及び尿中の遊離 B₁ を減少せしめることが遙かに大であつたに拘らず、Co-carboxylase (Co-C) を単独に、及び Co-C と副腎皮質製剤とを同時に使用せる場合には血中、尿中 B₁ 量に大差を認めなかつたという。更に近くは cortisone を投与せる場合、然らざるものに比し血中 B₁ 濃度の上昇が著明であり、かつ ester 型の増加が目されたという尾山³⁾の成績、ACTH, cortisone, interenin, T. T. G. 等注射により B₁ 排泄減少を見たという小黒⁴⁾の成績、いずれも亦 ester 型 B₁ 生成に本ホルモンが与かるべきことを強く示唆するも

の如くである。

しかし、或る agent の特定の作用を、結果として観察し得た成績から帰納するということは、殊にそれが生体を借りた実験である場合甚だ困難で、果して結果に直結した system に影響があつたものか、或いは間接の影響であつたかを知ることが出来ない。著者は

ここにおいて副腎皮質ホルモン乃至 ACTH の B₁ 附磷作用に及ぼす影響を前記物質を生体に投与して検討すると共に、in vitro における B₁ 附磷化について下の如き試験を行つて、如上の問題に関する解決を得んとした。

実 験

I. ACTH 乃至副腎皮質糖質ホルモン投与後の血中 co-carboxylase (Co-C) の変動

実 験 方 法

1. 被検体

健康人及び成犬を対象とする。

2. 使用薬物

ACTH は Schering A. G. Berlin 製のものを、compound F (cpd. F) は Scheroson F (Schering 製) を使用した。

3. 薬物の投与並びに採血法

薬物は皮下、筋肉内、或いは静脈内に注射し、一定時間経過後採血す。人においては肘静脈よりし、犬においては股動脈又は股静脈よりした。

なお、犬においては isomytal 麻酔 (Pro Kg 0.04g, 筋注) の下に注射並びに採血操作を行つた。

4. 血中 Co-C 定量法

山下法⁵⁾によつてこれを行つた。その仔細を示すに次の如くである。

材 料

(1) Co-C

Weijlard⁶⁾の改良法により合成した。純度を thiochrome 螢光法により測定せる所、結合型 B₁ 含量 75%、遊離型 B₁ 含量 5%であつた。結晶 10mg/dl 水溶液を原液とし、100 倍に稀釈して実験に供した。

(2) 酵母及び etiozymase 調整法

压榨ビール酵母 (下面酵母、大日本ビタミン製薬吹田工場) を 25~28°C の通風乾燥器にて乾燥し、微細粉末とし真空乾燥器中冷所に保存した。

Etiozymase の調整は特に山下に従つて次の如く行つた、即ち乾燥ビール酵母 1g を M/10 Na₂ HPO₄ 50cc 中に投じ、28°C の恒温槽中で約 10 分間洗滌すること 2 回、次いで 50cc の蒸溜水を加えて 28°C で 1 回短時間洗滌し遠心する。次いで上澄液を捨て、沈澱酵母に 1cc の MgCl₂ · MnCl₂ 混合溶液及び 1cc の B₁ 溶

液 (100γ/cc) を加え、pH 6.2 の M/10 磷酸緩衝液で全量 10cc とし、乳鉢中に移し、充分磨砕し均等な懸濁液とした。

(3) 焦性葡萄糖ソーダ溶液

純焦性葡萄糖ソーダ 63mg を蒸溜水 3cc に溶解した。

(4) ビタミン B₁ 溶液

和光純薬の B₁ 塩酸塩を使用し、10mg/dl 水溶液を調製して氷室中に保存した。

(5) MgCl₂ · MnCl₂ 混合溶液

MgCl₂ · 6H₂O (純品) 0.84g 及び MnCl₂ · 4H₂O (純品) 10.7mg を蒸溜水に溶解し、100cc とした。

(6) M/10 Na₂ HPO₄

(7) M/10 磷酸緩衝液 (pH 6.2)

(8) N/10 HCl

器 具

(1) Warburg 検圧計は 1/6 円周、水平回転運動のものを使用した。計測容器としては 16.5cc 前後の円錐状容器を用い、ガス腔は単に空気をもつて充した。

(2) pH は島津製 GU-1 型ガラス電極 pH メーターで測定した。

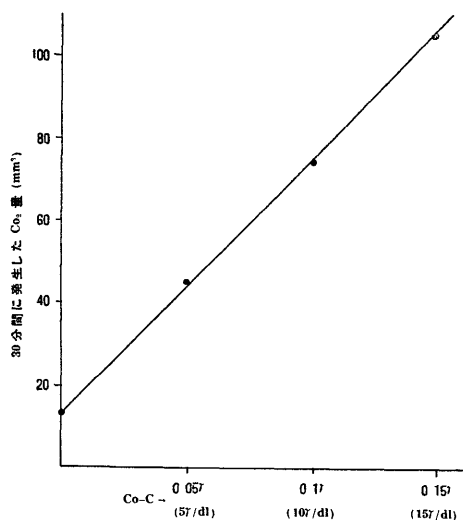
実 施

脱線維血液又は heparin 凝固阻止血液 1.2cc を 5cc ビーカーに入れ、N/10 HCl で pH 6.2 に調整、純血液 1cc 相当量を探り、Warburg 装置の主室中に入れ、70°C 温浴中に 2 分間浸漬する。別に基準曲線作製のために主室中に既知濃度の Co-C (100γ/dl 溶液 0.0, 0.05, 0.1, 0.15cc) を入れた対照管を毎時用意する。次いで前述酵母懸濁液 1cc を全容器に加え、pH 6.2 の M/10 磷酸緩衝液を加えて全量を 2.7cc とする。側室には焦性葡萄糖ソーダ溶液 0.3cc を入れる。かくて容器を検圧計に連結し、28°C の恒温槽中に浸漬、温度平衡に達したのち、側室内容を主室中に混和し、30 分間の発生 CO₂ 量を測定する。

基準曲線は前記既知濃度の Co-C 溶液による発生 CO₂ 量を plot して作製せられる。第 1 図に 1 例をもつて示すように、本術式による場合少なくとも Co-C 0.15γ までの量において正しい直線が描かれる。試料を投じた場合の CO₂ 発生量により、求める Co-C γ/dl が直ちに得られることはいうまでもない。

山下は血中の Co-C 量を表わすに、Co-C 指数の必要なることを力説したが、今の場合前後を比較するだけだから、特にこれを算出する要はない。

第 1 図 標準曲線



実験成績

(1) ACTH 投与の影響

正常犬 4 例、健康人 2 例に ACTH 投与を行った。犬においては 2 例に ACTH の 5 I. U. (単位) と 10 I. U. を夫々筋注し、他の 2 例にはいずれも 10 I. U. を静注、人においては 25 I. U. を筋注した。

結果は第 1 表に示す如く、犬においては第 1, 2, 3 例に血中 Co-C の増量を来たしたが、静注せる他の 1 例においては変動が認められなかつた。第 1 例においては 5 I. U. 筋注 2 時間後に至るまで上昇を続けたが、第 2 例では 10 I. U. 筋注するに拘らず、2 時間目には低下した。第 3 例即ち、10 I. U. を静注せるものにあつては第 1 例同様 2 時間後までは高い値を示し、3 時間後投与前に復した。採血が股動脈より行われた場合にはいずれも上昇したが、股静脈より行われた場合の 1 例においても高い値が得られたので、残る 1 例において上昇を見なかつたことは静脈から採血が行われたということではなく、個性差によるものと思われる。又これら犬血中 Co-C 量と同時に測定した血漿螢光コルチコイドの変動を検するに、第 1, 2, 3 例においては血中 Co-C の変動と螢光コルチコイドの増量とが略々平行するようであるが、Co-C の変動を来たさなかつた第 4 例でも螢光コルチコイドの型の如き上昇が認められた。

注. 螢光コルチコイド測定は織田氏⁷⁾法による。

次に、人において ACTH を上記の如く投与せる場

第 1 表 ACTH を投与せる後の血中 Co-C 及び螢光コルチコイドの変動 (犬の場合)

犬 No.	体重 kg	性	投与量 I. U.	投与方法	採血部位	測定物質	前	10分	1時間	2時間	3時間
1	10	♂	5	筋注	股動脈	Co-C γ/dl	8.7	10.2	12.1	15.0	—
						螢光コルチコイド γ/dl	8.4	20.7	19.4	18.9	—
2	9.6	"	10	"	"	Co-C γ/dl	8.4	8.8	9.9	7.3	—
						螢光コルチコイド γ/dl	6.2	9.0	--	8.4	—
3	15	"	10	静注	股静脈	Co C γ/dl	5.7	7.7	7.0	7.1	5.9
						螢光コルチコイド γ/dl	10.5	11.2	20.4	14.5	11.8
4	15	"	10	"	"	Co-C γ/dl	6.2	—	5.2	6.2	5.8
						螢光コルチコイド γ/dl	6.0	—	16.5	8.5	6.5

合、血中 Co-C に関し何らの変動も見られなかつた (第 2 表参照)。ACTH のこの量において血中螢光コルチコイドの上昇が毎常認められることは既に知られ

た事実である。

附 Adrenalin

なお参考として犬 2 例、人 2 例について 1000 倍

第2表 ACTH を投与せる後の血中 Co-C の変動 (人の場合)

例	年齢	性	投与量 l. U.	投与法	採血部位	前	10 分	1 時間	2 時間	3 時間
1	35	♂	25	筋注	肘静脈	8.3	8.0	8.2	8.3	—
2	30	♀	25	〃	〃	7.5	7.8	7.4	7.4	7.6

adrenalin の表掲の如き容量を投与し、その後の血中 Co-C の変動を追及せるに、第3、4表に示した如き結果を得た。この場合も犬においていづれも Co-C の多少の増加が見られたが、人においては何らその変動を見る事がなかつた。尤も後者における場合 adre-

naline は 1000 倍溶液を 0.3cc 投与するにとどまつたので、この量では既知の如く、血中螢光コルチコイドの上昇は生起しない。犬でも 0.1cc を皮下注射しては螢光コルチコイドの上昇を認めず、0.2cc を皮注するに及んで1時間後に多少増加を示したが、Co-C 量は

第3表 Adrenalin を投与せる後の血中 Co-C 及び螢光コルチコイドの変動 (犬の場合)

犬 No.	体重 kg	性	投与量 cc	投与法	採血部位	測定物質	前	10分	1時間	2時間	3時間
1	10	♂	0.2	皮下注	股動脈	Co-C γ /dl	10.0	10.0	11.8	13.3	—
						螢光コルチコイド γ /dl	12.8	8.8	16.7	—	—
2	10	♀	0.1	〃	〃	Co-C γ /dl	7.8	8.0	8.1	8.7	8.0
						螢光コルチコイド γ /dl	5.9	5.9	4.4	4.4	—

第4表 Adrenalin を投与せる後の血中 Co-C の変動 (人の場合)

例	年齢	性	投与量 cc	投与法	採血部位	前	10 分	1 時間	2 時間	3 時間
1	38	♀	0.3	皮下注	肘静脈	10.4	11.0	10.5	10.9	—
2	30	♂	0.3	〃	〃	8.3	—	8.4	8.5	8.3

0.1cc 皮注せるものにおいて既に多少増加しており、Co-C 増加と螢光コルチコイドの増量との間には密接

な直接関係は認められぬようである。

(2) Compound F 投与の影響

第5表 Compound F を投与せる後の血中 Co-C 及び螢光コルチコイドの変動 (犬の場合)

犬 No.	体重 kg	性	投与量 mg	投与法	採血部位	測定物質	前	10分	30分	1時間	2時間	6時間
1	15	♂	50	筋注	股静脈	Co-C γ /dl	5.0	5.4	4.8	5.5	5.2	4.5
						螢光コルチコイド γ /dl	8.1	—	16.0	16.2	15.3	—
2	15	♂	50	〃	股静脈	Co-C γ /dl	6.5	—	—	6.4	6.5	—
						螢光コルチコイド γ /dl	10.0	—	—	18.4	16.0	—

第6表 Compound F を投与せる後の血中 Co-C の変動 (人の場合)

例	年齢	性	投与量 mg	投与法	採血部位	前	10 分	30 分	1 時間	2 時間
1	30	♂	50	筋注	肘静脈	7.3	—	7.3	7.4	7.5
2	35	♀	50	〃	〃	9.8	10.0	—	9.8	10.1

犬、人共に hydrocortisone 50mg を筋注したが、いずれも血中 Co-C の変動を来たさざることと同じであつた。(第5表, 第6表参照) 本成績により cpd. F の増量と Co-C 量上昇との間には直接関係の存せざること今は明瞭といわねばならぬ。

小 括

以上により、(1) 犬に ACTH を注射せる場合、血中 Co-C は屢々一旦上昇を示したが、人においてはかかることは見られなかつた。

(2) 犬、人とも cpd. F を注射しても血中 Co-C 量に変動を見ることはなかつた。

(3) 従つて、ACTH 注射により当然糖質ホルモンの上昇があるが、後者の増量と Co-C の増量との間には犬における場合と雖も直接の相関はない。

II. In vitro におけるビタミン B₁ 附燐化に対する ACTH 乃至副腎皮質ホルモンの影響

実験方法

1. 管内 B₁ 附燐化検定方法

前述山下の術式による Co-C 測定法をそのまま利用する。但し Co-C 乃至 Co-C を含有する試料を特に加えず、B₁ のみを添加し、これに対するホルモンの影響を検し、又 B₁ と ATP 乃至 ADP 若しくは、adenosine を加えたる場合のこれに対するホルモンの影響を検する。

a) 主室に前記によつて調製した酵母懸濁液 (B₁, 鉍質を含む) 1cc 及び所要量のホルモンを含有する溶液 0.2cc を入れ、M/10 燐酸緩衝液を加えて全量を 2.7cc とする。対照にはホルモン溶液の代りに溶媒 (ACTH, adrenalin の場合は蒸溜水, cpd. E, cpd. F, DOC のときは 50% アルコール) 0.2cc を加える。而うして側室に焦性葡萄糖溶液 0.3cc を入れ、各容器を検圧計に連結し、28°C の恒温槽中に移し、温度平衡に達した後、側室内容を主室中に混和し、30分間の発生 CO₂ 量を測定する。実験は同一材料について 2 乃至 3 回繰返し行つた。

b) 次に上記酵母懸濁液 1cc と ATP (10mg/cc) 又は ADP (1mg/cc) 或いは adenosine (4mg/cc) の溶液 0.5cc とを混和主室中に入れ、更に ACTH, 皮質ホルモン溶液 0.2cc を入れ、M/10 燐酸緩衝液を加えて全量を 2.7cc にする。ホルモンを加えない容器にはホルモン溶液の代りに溶媒 (前記同様) 0.2cc を加える (対照₂)。対照₁には ATP, ADP, adenosine 及びホルモンのいずれも加えず、蒸溜水 0.5cc 及び溶媒

(前記同様) 0.2cc を添加する。側室には焦性葡萄糖ソーダ溶液 0.3cc を入れ、前記の如くして両者を混和せる後30分間の CO₂ 発生量を測定した。添加した各ホルモンの量に関しては以下実験成績を紹介するに當つて同時にこれを記載する。この場合においても亦同一実験を兩三四繰返して結果に誤りなきを期した。

2. 供試材料

(1) ACTH

Schering A. G. Berlin 製注射用 ACTH の 101U./cc 水溶液を原液とし、用時表掲の ACTH 所用量が溶液 0.2cc に含有せられるよう更に蒸溜水にて稀釈し実験に供した。

(2) Compound E (cpd. E)

Merck 製純品の 10mg/dl 50% アルコール溶液を原液とし、50% アルコールで稀釈し溶液 0.2cc に所要量の cpd. E を含有せしめた。

(3) Compound F (cpd. F)

Merck 製純品の 10mg/dl 50% アルコール溶液を原液とし、溶液 0.2cc に必要量を含むように 50% アルコールで稀釈して用いた。

(4) Desoxycorticosterone (DOC)

前二者と同様、Merck 製純品 DOC の 10mg/dl 50% アルコール溶液を原液とし、溶液 0.2cc に表掲の必要量を含有するよう 50% アルコールで稀釈した。

(5) Adenosine triphosphate (ATP)

和光純薬の ATP-Na 塩の 10mg/dl 水溶液を作り、実験に供した。

(6) Adenosine diphosphate (ADP)

和光純薬の ADP-Ba 塩 10mg を N/10 HCl 1cc に溶解し、8mg の硫酸ソーダを加えて生ずる硫酸バリウムの沈澱を遠心分離し上清を他の容器に移し、沈澱を N/10 HCl 2cc で 2 回洗い、上清を先の上清に加えた後、N/10 NaOH で中和し、蒸溜水を加えて全量を 10cc にする。これをそのまま実験に用いた。

(7) Adenosine

和光純薬の adenosine の 4mg/cc 水溶液を作り実験に供した。

なお参考として adrenalin の 1000 倍溶液をも実験に供した。

実験成績

(1) ATP, ADP, adenosine を添加しない場合

Etiozymase に B₁, 鉍質及び ACTH, cpd. E, cpd. F, DOC 或いは adrenalin のみを添加し、ATP 等を

第7表 Etiozymase, B₁, 鉍質系に ACTH, cpd. E, cpd. F, DOC, adrenalin
を添加した場合の発生 CO₂ 量 (mm³)

試番 驗号	対 照	ACTH			cpd. E			cpd. F			DOC			adrenalin	
		5γ	10γ	20γ	5γ	10γ	20γ	5γ	10γ	20γ	5γ	10γ	20γ	0.1cc	0.2cc
1	16	16	18	17											17
2	17				18	17	18								
3	18							18	18	17					
4	18										18	18	19		
5	16		18											17	17
6	20						21			20			20		

第8表 Etiozymase, B₁, 鉍質, ATP 系に ACTH その他
ホルモンを添加した場合の発生 CO₂ 量 (mm³)

試 験 番 号	対 照 ₁	ATP 5mg					
		対 照 ₂	ACTH	cpd. E	cpd. F	DOC	adrenalin
			100γ	5γ	5γ	5γ	0.1cc
1	30	63	63		64		64
2	34	69		68	65	68	
3	21	43		42	43		42
4	15	25	24			24	26

第9表 Etiozymase, B₁, 鉍質, ADP 系に ACTH その他
ホルモンを添加した場合の発生 CO₂ 量 (mm³)

試 験 番 号	対 照 ₁	ADP 0.5mg				
		対 照 ₂	ACTH	cpd. E	cpd. F	adrenalin
			20γ	5γ	5γ	0.1cc
1	32	30	31			30
2	45	41		43	46	
3	21	20	20		20	

第10表 Etiozymase, B₁, 鉍質, adenosine 系に ACTH その他
ホルモンを添加した場合の発生 CO₂ 量 (mm³)

試 験 番 号	対 照 ₁	adenosine 2mg				
		対 照 ₂	ACTH	cpd. E	cpd. F	adrenalin
			100γ	20γ	20γ	0.1cc
1	33	34	33			33
2	25	24		25	25	
3	20	19	19		20	

加えなかつた場合、結果は第7表に示す如くであつた。即ちいずれのホルモンを加えても発生 CO₂ 量を増加せしめることはなかつた。

(2) ATP, ADP, adenosine を添加した場合

Weil-Malherbe⁹⁾ による B₁ の附磷は ATP の力によつて始めて行われる。それは著者の第8表にもこれを示すが如くである。ADP, adenosine いずれにもその作用はない。今 etiozymase, B₁, 鉍質系に ACTH ほか前記の諸ホルモンを添加した場合、ATP 添加による B₁ 附磷化は認められたが、ADP, adenosine 添加によつてはなんら CO₂ 発生を見ず、ホルモンのこれに及ぼす影響を証し得なかつた。成績は第8, 9, 10表に示すが如くである。

小 括

(1) ビール酵母 etiozymase を用い、これに B₁ 及び必要なる鉍質を添加し、更にこれに ACTH 乃至諸副腎皮質ホルモンを加えるも Co-C 生成は新たに見られない。

(2) 上記 system に adenosine, ADP を加えても Co-C 生成は見られないが、ATP を加えれば活潑な B₁ 附磷化が起ることは、先人の示すが如くである。

次いで更に ACTH 乃至諸皮質ホルモン及び adrenalin を加えても、ホルモンによるなんら認めるべき影響の加わることを見ない。

Ⅲ. 血球の Co-C 生合成能に及ぼす ACTH 乃至副腎皮質ホルモンの影響

実験方法

1. 供試材料

(1) ACTH 乃至副腎皮質ホルモン

第Ⅱ項の実験に使用せるものと同一のものを使用した。

(2) ATP, ADP, adenosine

又Ⅱ項におけると同一のものを使用した。但し ATP, ADP, adenosine の濃度をそれぞれ 20mg/cc, 1mg/cc, 20mg/cc とした。

(3) 血球

人、犬、白鼠の血液を使用した。人では肘静脈、犬では股静脈、白鼠では心臓より採血した。

2. 血球の Co-C 生合成能測定法

泊⁹⁾ の方法に準じて行つた。即ち heparin にて凝血を阻止せる血液 1.5cc 宛を3個の Warburg 装置主室中にとり、B₁ 溶液 0.15cc (15γ) を加え、更にホルモン溶液(溶液 0.2cc に所要量のホルモンを含有せし

める) 0.3cc を入れる。対照には B₁ 溶液 0.15cc のみを加え、ホルモン溶液の代りに溶媒 (ACTH は蒸溜水, cpd. F は50%アルコール) 0.3cc を入れる(対照₂)。又、B₁ 溶液、ホルモン溶液いずれも加えず、蒸溜水 0.15cc 及び溶媒 0.3cc を加えたものを血球の Co-C 生合成能測定用の対照(対照₁)とする。次いで各容器を検圧計に連結し、37°C の恒温槽中で振盪する。1時間後取り出し、純血液 1.2cc に相当する量(1.56cc)を5ccのピーカーに移し、N/10 HCl で pH 6.2 に調整し、純血液 1cc 相当量を取り、他の Warburg 容器の主室中に入れ、70°C 温浴中に2分浸漬する。

次いで各容器中の B₁ 量及びホルモン量を一定にする。即ち対照₁には B₁ 溶液 0.1cc 及びホルモン溶液 0.2cc を、対照₂には蒸溜水 0.1cc 及びホルモン溶液 0.2cc を、第3の容器には蒸溜水 0.1cc 及び溶媒(前期同様) 0.2cc をそれぞれ加える。次いで前記方法によつて調製した酵母懸濁液 1cc を全容器に加え、pH 6.2 の M/10 磷酸緩衝液を加えて全量を 3.5cc にする。側室には焦性葡萄糖ソーダ溶液 0.3cc を入れ、次いで各容器を検圧計に連結し、28°C の恒温槽中で温度平衡に達した後、側室内容を主室中に混和し、30分間の発生 CO₂ 量を測定する。

なお、更に ATP, ADP, adenosine 等を添加する場合は、B₁ 及び ATP 等を加えてホルモンを加えないもの(対照₃)を2個用意し、その中の1個及びホルモンを加えた容器には 37°C 恒温槽中 incubate 前に、ATP, ADP, adenosine 等の溶液(溶液 0.1cc に表掲の容量を含有せしめる) 0.15cc を加え、対照₃の他の1個には振盪後にこれら溶液の 0.15cc を加えた。他の操作は上記同様に行つた。

実験成績

(1) ATP, ADP, adenosine 等を添加しない場合

B₁ と共に ACTH 又は cpd. F を加えた人血液を 37°C 恒温槽中にて incubate し、ホルモンを加えないで incubate した血液と比較したが、これらホルモンが血球の Co-C 生合成能を促進させることはなかつた。第11表にその結果を示した。

又血球の Co-C 生合成能は犬血球、白鼠血球において特に著明に見られるので、犬血液、白鼠血液についてもホルモンを加えた場合と加えない場合とを比較したが、前者が後者に優るといふ結果は得られなかつた。これらの成績はこれを第12表に示した如くである。

第11表 人血球の Co-C 生合成能に対する ACTH, cpd. F の影響 ($\text{mm}^3 \text{CO}_2$)

例	年齢	性	対 照 ₁	対 照 ₂	ACTH	cpd. F	
					2 γ	2.5 γ	20 γ
1	28	♂	35	42	38		
2	30	〃	37	49	50		
3	23	♀	49	59	66		
4	28	♂	38	42		39	41
5	30	〃	45	50		54	
6	30	〃	54	60			62

第12表 犬血球, 白鼠血球の Co-C 生合成能に対する ACTH, cpd. F の影響 ($\text{mm}^3 \text{CO}_2$)

種 類	番 号	体重犬 はkg 白鼠はg	性	対 照 ₁	対 照 ₂	ACTH	cpd. F		
						10 γ	0.2 γ	2 γ	20 γ
犬	1	10	♂	43	91	117			
	2	10	〃	48	172	177			
	3	10	〃	45	95		100	102	
白 鼠	1	180	〃	69	172	165			
	2	200	〃	66	183		183	195	165
	3	180	〃	69	170				

(2) ATP, ADP, adenosine 等を添加した場合

B₁ と共に ATP 或いは ADP 或いは adenosine を加えた上, 更に ACTH 又は cpd. F を添加した人血液を 37°C の恒温中にて incubate し, ホルモンを加えないで incubate した血液と比較せるに, 矢張り ATP, ADP, adenosine 等の存在のもとにおいても, これらホルモンが血球の Co-C 生合成を促進することはなかつた. 唯, ATP を加えて incubate した場合は incubate の後に ATP を添加した場合に比較して, 血球の Co-C 生合成が僅かに加速される傾向を示した. これらの結果は犬血球を用いても結局同一であつた. 人血球の Co-C 生合成に対する成績は第13表に, 犬血球のその成績は第14表にこれを示した.

小 括

(1) 一般に血球に B₁ を添加し一定時間 incubate せる場合, Co-C の生合成を証する. この場合 B₁ の附磷化は人血球では微力で, 犬及び白鼠血球において比較的強力に行われる.

しかし, 人血球たると犬血球たるとを問わず, これに ACTH 乃至副腎皮質ホルモンを加えても, Co-C 生合成を殆んど促進することがない.

(2) 人及び犬血球に B₁ と同時に ATP を添加せる場合, Co-C 生成は僅かに加速せられる傾向を示すが, ADP, adenosine にはそれがない.

又, 人及び犬血球に ATP, ADP, adenosine をそれぞれ加え, 更に ACTH, cpd. F を加えても, 結果において Co-C 生成を促進することはない.

第13表 人血球 Co-C 生合成能に対する ACTH, cpd. F の影響 (ATP, ADP, adenosine 等を添加せる場合) (mm³ CO₂)

例	年齢	性	対照 ₁	対照 ₂	ATP 2mg				ADP 0.1mg				adenosine 2mg					
					対照 ₃		ACTH cpd. F		対照 ₃		ACTH cpd. F		対照 ₃		ACTH cpd. F			
					incubate 後 ATP 添加	incubate 前 ATP 添加	2γ	2.5γ	incubate 後 ADP 添加	incubate 前 ADP 添加	2γ	2.5γ	incubate 後 adenosine 添加	incubate 前 adenosine 添加	2γ	2.5γ		
1	28	♂	48	54	66	71	69											
2	28	♀	49	51	63	68	69											
3	30	♀	40	49	67	71	70											
4	30	♀	45	52	63	68	71											
5	30	♂	63	67				68	61	62								
6	30	♀	43	45				42	40	40						42	40	
7	30	♀	38	42														
8	30	♀	35	40													39	41
																		41

第14表 犬血球 Co-C 生合成能に対する ACTH, cpd. F の影響 (ATP, ADP, adenosine 等を添加せる場合) (mm³ CO₂)

番号	体重 kg	性	対照 ₁	対照 ₂	ATP 2mg				ADP 0.1mg				adenosine 2mg						
					対照 ₃		ACTH cpd. F		対照 ₃		ACTH cpd. F		対照 ₃		ACTH cpd. F				
					incubate 後 ATP 添加	incubate 前 ATP 添加	2γ	2.5γ	incubate 後 ADP 添加	incubate 前 ADP 添加	2γ	2.5γ	incubate 後 adenosine 添加	incubate 前 adenosine 添加	2γ	2.5γ			
1	10	♂	35	75	85	90	91												
2	10	♀	40	73	83	89	91												
3	10	♀	35	89															
4	10	♀	42	78					90	86									
5	10	♀	43	90					80	83									
6	10	♀	38	91															
																	89	92	
																	90	92	
																			91
																			92

考 按

緒言にこれを述べたように、栄養失調患者に B_1 を単独に投与した場合に比して、 B_1 に副腎皮質製剤を併用投与した時の方が血中及び尿中の遊離 B_1 を減少せしめることが遙かに大であり、かつ Co-C を単独に或いはこれと副腎皮質製剤とを併用した場合には血中、尿中 B_1 量に大差を認めなかつたという井上²⁾の成績、又 cortisone を投与せる場合、然らざるものに比し血中 B_1 濃度の上昇が著明であり、かつ ester 型の増加が目されたという尾山³⁾の成績、ACTH, cortisone, interenin, T. T. G. 等の注射により B_1 排泄減少を見たという小黑⁴⁾の成績から、副腎皮質製剤がヒポビタミンーゼ B_1 症に対して、本症の恢復に有効に働くという考えが行われており、臨床的にも広い意味における B_1 欠乏症の或る場合に B_1 と皮質製剤との併用は実効あるが如くである。これに対し人々はひそかに皮質ホルモンが B_1 附磷化に関係するのではなからうかと思つてゐるが、直接の証明は未だない。

今これを立証する方途はいろいろあるであろう。まず第一に生体に皮質ホルモンを附加した場合に、たとえ正常体であつても Co-C の増量を来たさねばならない。従来諸実験は多く Co-C そのものの変動を追及したのではなく、結合型 B_1 の消長如何を論じたので参考にはならない。

由来 Co-C 定量法は早く Lohmann, Schuster¹⁰⁾等によつて拓かれたのであつたが、微量に存する血中のそれを検するには未だ充分でなかつた。然るに我が教室においては同僚山下の検討によりその道が拓かれたので、今目的とする皮質ホルモンその他の血液 Co-C に及ぼす影響を仔細に検し得る機会が与えられた。

しかしその成績は上に示す如くで、皮質ホルモンそのものを附加した場合、人においても亦犬においても血中 Co-C の増量はなんら認められなかつたのである。唯犬における場合 ACTH を注射してしばしばその増量を証したが、皮質ホルモンそのものを投与しても増量がなかつたのであるから、これは ACTH が皮質ホルモンの増生を来たしたためではなく、今一つの別の原因によるものとなさざるを得ない。

証明の 2 は etiozymase に B_1 その他必要な因子更に諸ホルモンを配して Co-C 生成が行われるか否かを検すればよいであろう。然るにこの場合も期待する成績は陰性に終つた。無論 ATP を更に添加するならば

Weil-Malherbe⁹⁾の示した如く Co-C の生成が行われるが、諸ホルモンのこれを促進する成績は更にない。ATP に変えるに ADP, adenosine をもつてしても、 B_1 の附磷化を助けず、この条件においてもホルモン添加はなんらの影響を認めしめなかつた。

In vitro の上記試験はあまりにも人工的に過ぎると人或いは難ずるかも知れない。又酵母より製せられる etiozymase は生体中に存する carboxylase と同一でない。Carboxylase の抽出は甚だ困難であるが、幸い我々は今日哺乳獣の血液を用いて、その比較的強烈な Co-C 生成能を利用することが出来る。これなれば検体を直接生体内に挿入せる場合と異なつて条件は比較的単純であり、一応諸臓器を離れた試験を行い得る。もしこれに及ばず諸ホルモンの影響を検してなんらこれを認め得なければ、少なくとも B_1 の附磷化に対してこれらホルモンの関与せざることは愈々明らかであるに相違ない。しかも実験の結果は上掲の如く尽く陰性に終つたのである。

人体に対して B_1 を投与しても頑強に焦性葡萄糖の減少傾向を認めざりしに、同時に皮質製剤を投与してその消失を促し、生体に好影響を与えた場合があつたとしても、今やそれは B_1 欠乏そのものでは勿論なく、又 B_1 の附磷化とも凡そ無関係に、異種の代謝障礙に影響を及ぼしたものと断ぜざるを得ない。況んや竹内¹⁾がヒポビタミンーゼ B_1 患者を主たる対象として検索したとはいうものの、偶々皮質製剤を併用して好結果を得たと信ぜられるものが、その僅かに数パーセントに過ぎなかつたということは、対照がない成績であるので、もしヒポビタミンーゼ B_1 に属しないその他の人々を検索対象としたならば、或いは略々同様な率にかような代謝障礙例に遭遇したかも知れない。

皮質ホルモン製剤を使用して B_1 結合型の増加を証したとなすものに至つては、Co-C そのものの測定に関する報告ではないので、その抱合が果して何ものであつたか、検討を要すべく、又同日にこれを論ずることは難しい。

かくして著者は副腎皮質ホルモン乃至 ACTH の焦性葡萄糖処理に対する影響を全面的に否定するものでは決してないが、少なくとも B_1 の phosphorylation に皮質ホルモンが直接関与するであろうという説には以上の理由をもつてこれに組せざるものである。

結 論

従来副腎皮質製剤は B₁ の附燐化を促進するのではなからうかという考えが行われているが、これに対し著者が直接 co-cardoxylase (Co-C) 測定を実施し、各様の条件において皮質製剤、ACTH のこれに及ぼす影響を検索した成績は凡そ次の如くであつた。

1) 健康人、正常犬に副腎皮質ホルモン、cpd. F を投与しても血中 Co-C は特に増加しない。ACTH を投与する時は犬血中 Co-C の増加は屢々認められるが、人血中 Co-C の増加はない。従つて ACTH 投与時の犬血中の Co-C 増加は ACTH 投与による cpd. F 増量のためではない。

2) Etiozymase としてビール酵母のそれを用い、これに B₁ その他の要素を加えて所謂 *in vitro* の Co-C 生合成を検するに、ATP 添加が Co-C 増加を招致し、ADP, adenosine にその作用を認めぬことは既知の如くであるが、この際皮質製剤として cpd. E, cpd. F, DOC 又 ACTH を更に加えても ATP の上記影響

をなら促進することもなければ、ADP, adenosine に活性を附与することもない。

3) 血液はその種を異にするに従つて多少の相違があるが、これに B₁ を添加する場合 Co-C の生合成能を有することを証せしめる。換言すれば血液中には Co-C 合成のあらゆる要素が一応具備されている。即ち哺乳動物血に B₁ を加え一定時間 *incubate* して後 Co-C の生成量を測定する場合、予めこれに皮質ホルモン乃至 ACTH を加えたものと然らざるものとを比較するに、両者になら差異の存するを認め得なかつた。

以上により上掲副腎皮質ホルモンにも将又 ACTH にも少なくとも B₁ の附燐化に直接関与する作用因子は存せざるものと認められる。

擧筆するに当り終始御懇篤なる御指導及び御校閲を賜つた恩師日置教授に深甚の謝意を表します。

文 献

1) 竹内： 十全医学会雑誌, 56, 67, 1954.
 2) 井上： ビタミン, 1, 24, 1948. 3) 尾山： 日新医学, 42, 17, 1955. 4) 小黒： 内分泌, 3, 177, 1956. 5) 山下： ビタミン, 9, 487, 1955. 6) J. Weijlard： J.

Am. Chem. Soc., 63, 1160, 1941. 7) 織田： 内分泌, 2, 465, 1955. 8) H. Weil-Malherbe： Biochem. J., 33, 1997, 1939.
 9) 泊： 未発表. 10) K. Lohmann u. Ph. Schuster： Biochem. Z., 294. 188, 1937.