

周生期におけるアンモニア代謝
—特にピリミジン体合成系と
尿素サイクル関連酵素の Ontogenesis—

岡山大学医学部産婦人科学教室 (主任：関場香教授)

長 崎 多 久 美

Ammonia Metabolism during Perinatal Period
—Ontogenesis of Enzymes in Pyrimidine
Biosynthesis and Urea Cycle System—

Takumi NAGASAKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University School of Medicine, Okayama
(Director : Prof. Kaoru Sekiba)

概要 周生期におけるラット肝臓のピリミジン体合成系 (de novo pathway), アンモニア代謝系の各酵素活性及び中間代謝産物を測定し, 次の結果を得た.

1) アンモニア代謝におけるラット胎仔肝 CPS I 活性は, 胎齢19日目までは低値であるが, 胎生末期の胎齢20日目より比活性の急激な上昇が見られた.

しかるに成熟ラット肝 CPS I 活性は, 胎齢17日目の約3倍の値を示すことより胎生期の胎仔肝 CPS I 活性は非常に低値であることを認めた.

2) ピリミジン体合成系 (de novo pathway) におけるラット胎仔肝 CPS II 活性, ATC 活性は成熟ラットに比べて一般に高値を示すが, 胎齢17日目から出生当日にかけて急激な比活性の低下傾向が見られた.

成熟ラット肝 CPS II 活性, ATC 活性は, 胎齢17日目の胎仔肝 CPS II 活性, ATC 活性の5~10%であることより, 胎生期の胎仔肝 CPS II 活性, ATC 活性は極めて高値であることを認めた.

3) オロト酸の胎仔, 新生仔期における推移は, ラット胎仔肝 CPS II 活性及び ATC 活性に同調して推移しており, オロト酸の胎生末期における急激な減少は, CPS II, ATC 比活性の急激な低下と密接に関連していることが示唆された.

以上, 各酵素の測定より胎生末期から出生当日にかけてピリミジン体合成系と尿素サイクルに関連する各酵素活性の間には比活性の転換が認められ, 胎児の成長発育における合目的代謝調節機構を想定させる非常に興味深い結果を得た.

Synopsis The enzymes and intermediate metabolite of pyrimidine biosynthesis and ammonia metabolism were studied during perinatal period in rats.

1) The activity of carbamyl phosphate synthetase I (CPS I) in fetal rat liver was low up to the 19th day of gestation, but a rapid increase was observed on the 20th day of gestation.

The activity of CPS I in adult liver was about three times as high as that on the 17th day of gestation in fetal rat liver.

2) The activities of carbamyl phosphate synthetase II (CPS II) and aspartate transcarbamylase (ATC) in fetal rat liver were much higher than those in adult liver, but a rapid decrease was observed from the 17th day of gestation up to birth.

The activities of CPS II and ATC in adult liver were about 5~10% of those on the 17th day of gestation.

3) The change in orotate content during the perinatal period in fetal rat liver was parallel to changes in the activities of CPS I and ATC, and a rapid decrease in orotate content in the last gestational stage was related to a rapid decrease in CPS and ATC activities.

These results indicate that the activities of CPS I and CPS II change from the end of the gestational stage up to birth, and the proposed metabolic regulation of fetal growth and developments of considerable

interest.

Key words: CPS I・CPS II・ATC・Ammonia metabolism・Pyrimidine biosynthesis

緒 言

近年, 低出生体重児 (small for date infant, SFD) において無症候性高アンモニア血症等の代謝障害を示唆する報告⁶⁾¹⁶⁾¹⁸⁾が見られる。すなわち, SFD 児では AFD 児 (appropriate for date infant) に比べ血中アンモニア濃度が有意に高いことを示すものであり, SFD 児は AFD 児とは異なるアンモニア代謝調節機能あるいはその障害を有するのではないかと思われる。つまり, 胎児の成長発育とアンモニア代謝の間には密接な関連があると考えられるが, 現在のところこの方面の研究は少ない。また一方では, アンモニアは本来生体にとって不可欠な代謝調節物質として重要な役割を果たしていることが強調されている²⁾ことに鑑み, 今回著者は, 胎児発育とアンモニア代謝について, 細胞レベルにおける同化経路及び異化経路を中心に酵素的検討を加え, 胎児に特有な代謝調節の機能発現の一端を解明せんと試みた。

以上の観点より, 同化経路として胎児発育に密接に関係すると思われるピリミジン体合成系 (de novo pathway) については, カルバミルリン酸合成酵素 II (CPS II), アスパラギン酸トランスカルバミラーゼ (ATC) 及びオロト酸, 異化経路については, 尿素サイクルへの初段律速酵素であるカルバミルリン酸合成酵素 I (CPS I) を測定し, 胎児発育におけるアンモニア代謝調節に関して興味深い知見を得たので報告する。

実験対象

実験はすべてオリエンタル固形飼料 (type Oriental MF) で飼育した Wistar 系ラットを使用した。胎齢の決定については交配後腔内に精子を確認した日を妊娠 0 日として算出し, 胎齢 17 日目より 21 日目までは帝王切開にて胎仔を娩出, 新生仔は生後より自由に授乳をさせ 0 日, 1 日, 3 日, 5 日, 7 日目にそれぞれ断頭脱血死させて開腹し, 可及的速やかに肝臓を剔出し実験に供した。

実験方法

1) カルバミルリン酸合成酵素 I (carbamyl phosphate synthetase I, CPS I: EC 2. 7. 2. 5) 活

性測定

剔出した肝の組織処理及び CPS I 活性測定は, Pierson の方法¹⁵⁾を用いて行つた。すなわち肝組織を 50mM triethanolamine・HCl (pH 8.0), 1mM dithiothreitol, 10 μ M ATP, 15mM magnesium acetate 液とともに homogenize した後, Ultraturax (Kontes 社) にて処理しクボタ冷却遠沈器 (type KR/180B) にて 15,000rpm 4℃で遠沈した。その上清を Sephadex G-25 column を通し得られたものを酵素液として使用した。次に酵素液に, 10 μ mol NH₄HCO₃, 1 μ mol ATP, 2 μ mol magnesium acetate, 10 μ mol triethanolamine・HCl (pH 8.0) を加え 37℃で incubate した。さらに 2.0M Hydroxylamine を 95℃で 10 分間 incubate した後 chromogenic reagent (equal volumes solution A すなわち antipyrine 0.85g/40% H₂SO₄, solution B すなわち diacetylmonoxime 0.625g/5% acetic acid) を加え, 再び 95℃で 15 分間 incubate した。次に日立比色計 (type 200-20) を用い波長 458nm で測定し, これを CPS I 活性とした。

2) カルバミルリン酸合成酵素 II (carbamyl phosphate synthetase II, CPS II: EC 2. 7. 2. 5) 活性測定

Yip and Knox の方法²²⁾を用い, 肝組織に 0.5M sucrose, 0.1M ATP-MgCl₂, glycerol, 0.03M mercaptoethanol, 0.5M KH₂PO₄-NaOH を加え, Potter-Elvehjem 型 ホモゲナイザーで homogenize した後, 冷却遠沈器にて 10,000rpm, 4℃で 30 分間遠沈した。次に得られた上清を Sephadex G-25 column に通し, さらに 100 倍量の homogenize 液中にて透析したものを酵素液として使用した。

酵素反応混合液は, Hager and Jones⁷⁾の変法により 100mM KH₂PO₄-NaOH buffer (pH 7.5), 26.7mM MgCl₂, 26.7mM ATP, 5mM glutamine, 16.7mM NaHCO₃ (pH 7.5 in 10mM KH₂PO₄-NaOH buffer) を加え 37℃で 20 分間 incubate した後 2.0M hydroxylamine を加え, 95℃

で10分間 incubate した。その後 chromogenic reagent (equal volumes solution A すなわち antipyrine 0.85g/40% H₂SO₄, solution B すなわち diacetylmonoxime 0.625g/5% acetic acid) を加え、再び95℃で15分間 incubate し、日立比色計を用い波長458nm で測定してこれを CPS II 活性とした。

3) アスパラギン酸トランスカルバミラーゼ (Aspartate transcarbamylase, ATC: EC 2.1.3.2.) 活性測定

Potter and Elvehjem¹⁰⁾の変法を用いて肝組織処理を行つた。すなわち剔出肝臓を等張 KCl 液とともに homogenize した後 Ultraturax にて処理し、冷却遠沈器にて12,000rpm, 4℃で45分間遠沈した。この上清を酵素液として使用し、7.5μmoles sodium aspartate, 4μmoles dilithium carbamylphosphate, 50μmoles Tris buffer (hydroxymethyl aminomethane pH 7.0) を加え、28℃で15分間 incubation 後氷水中に入れ反応を停止させた。

酵素反応混合液は、Koriz and Cohen の方法⁹⁾により、50% H₂SO₄, 1% sodium diphenylamine-P-sulfonate, 3% diacetylmonoxime を加え、100℃で10分間 incubate した。次に1% potassium persulfate を加え再び100℃で incubation 後氷水中にて10分間冷却し日立比色計を用い carbamylaspartate の生成を550nm の波長で測定し ATC 活性とした。

1μmol of carbamyl aspartate/15minutes=1 unit と表わし、蛋白量の測定は Lowry 法¹¹⁾で行つた。

4) オロト酸 (Orotate, orotic acid) の測定¹²⁾

摘出した肝を液体窒素凍結し10倍量の1M 氷冷却塩素酸を加え、Ultrasturax を用い処理し、冷却遠沈器にて、3000rpm, 4℃で遠沈して、その上清を KOH で中和し氷水中に10分間静置した後、濾過し過塩素酸の沈殿物を除いた。上清に Glycylglycine buffer/MgCl₂ (0.05M glycylglycine, pH 8.0, 2mM MgCl₂), さらに 0-5-MP pyrophosphorylase と 0-5-MP decarboxylase (Sigma 社) の混合酵素液を加え、

室温にて20分間静置した後日立比色計を用い波長295nm にて測定し、この値を E₁ とした。次に10 mM 5-phospho-α-D-ribose 1-diphosphate を加えて反応させ、室温にて20分間静置した後に再び波長295nm で測定し、その値を E₂ (20分間終点法) により肝組織の Orotate を測定した。

実験成績

1) 肝 CPS I 活性

発育にともなうラット胎仔肝の CPS I 活性は、胎齢19日目までは $10.61 \pm 2.64 \mu\text{mol/mg protein}$ と極めて低値であるが、胎齢の進行とともに、その値は上昇し特に胎生末期の胎齢20日目以後では、活性の急激な上昇が特徴的であつた。すなわち、胎齢19日目では $10.61 \pm 2.64 \mu\text{mol/mg protein}$ であつたものが、胎齢20日目には、 $18.00 \pm 2.53 \mu\text{mol/mg protein}$ と前日の約1.8倍と有意に ($p < 0.001$) 上昇し、さらに胎齢21日目では、 $23.10 \pm 1.44 \mu\text{mol/mg protein}$ と胎生期中の最高値を示した。新生仔期になつても、その値は徐々に上昇し続けるが生後3日目の $30.56 \pm 3.82 \mu\text{mol/mg protein}$ を peak として以後はしだいに低下する傾向にあり、成熟ラット肝 CPS I 活性は、 $18.13 \pm 3.78 \mu\text{mol/mg protein}$ となることより胎齢19日目までは成熟ラットに比べ極めて低いのが特徴であつた (図1, 表1)。

2) 肝 CPS II 活性

ラット胎仔肝 CPS II 活性の胎齢による推移は、CPS I 活性とは逆に胎齢が進むにつれて、そ

図1 Developmental change of CPS I levels in rat liver (M.±S.D.)

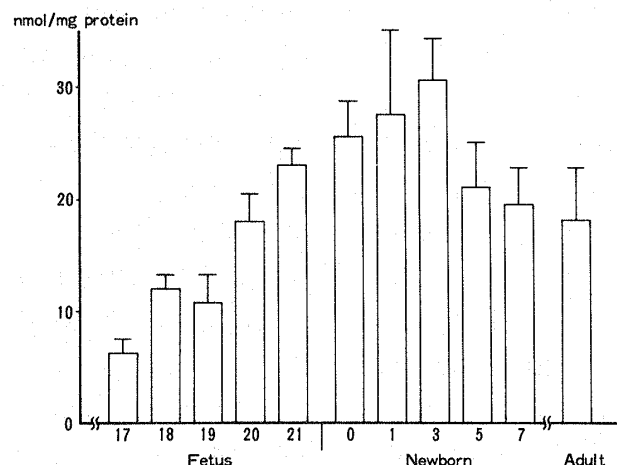


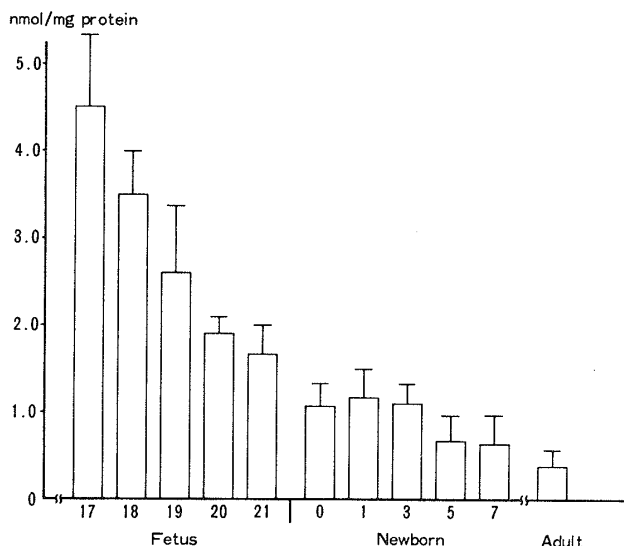
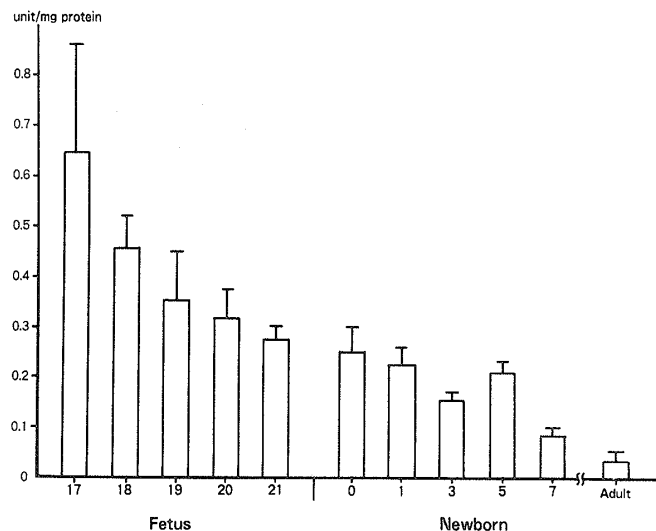
表1 CPS I activity of rat liver

	day	n	CPS I activities m μ mol/mg $\cdot$ protein
Fetus	17	6	6.45 $\pm$ 1.15
	18	7	12.02 $\pm$ 1.21
	19	6	10.61 $\pm$ 2.64
	20	10	18.00 $\pm$ 2.53
	21	6	23.10 $\pm$ 1.44
Newborn	0	5	25.45 $\pm$ 3.38
	1	6	27.48 $\pm$ 7.59
	3	7	30.56 $\pm$ 3.82
	5	7	20.49 $\pm$ 1.95
	7	6	19.47 $\pm$ 3.26
Adult		7	18.13 $\pm$ 3.78

(Mean $\pm$ S.D.)

表2 CPS II activity of rat liver

	day	n	CPS II activities m μ mol/mg $\cdot$ protein
Fetus	17	7	4.55 $\pm$ 0.81
	18	7	3.51 $\pm$ 0.48
	19	7	2.58 $\pm$ 0.77
	20	8	1.89 $\pm$ 0.21
	21	6	1.82 $\pm$ 0.35
Newborn	0	5	1.07 $\pm$ 0.22
	1	5	1.18 $\pm$ 0.33
	3	6	1.09 $\pm$ 0.21
	5	5	0.66 $\pm$ 0.28
	7	6	0.63 $\pm$ 0.34
Adult		7	0.38 $\pm$ 0.20

(Mean $\pm$ S.D.)図2 Developmental change of CPS II levels in rat liver (M. $\pm$ S.D.)図3 Developmental change of ATC levels in rat liver (M. $\pm$ S.D.)

の値は減少し特に胎齢17日目より出生当日にかけて急激に減少するのが特徴的であつた。すなわち胎齢17日目は、 $4.55 \pm 0.81 \text{ m}\mu\text{mol/mg protein}$ であつたものが、出生当日では、 $1.07 \pm 0.22 \text{ m}\mu\text{mol/mg protein}$ と約1/4となり、胎生末期から出生当日にかけて有意な ($p < 0.001$) 減少傾向が認められた。その後新生仔期3日目までは、ほぼ出生当日のレベルで推移するが再び新生仔期5日目より減少する傾向を示し、成熟ラット肝のCPS II活性は、 $0.38 \pm 0.20 \text{ m}\mu\text{mol/mg protein}$ となつた。胎生期のCPS II活性は胎齢とともに減少する傾向はあるけれども、成熟ラット肝に比べれば極めて高値であるのが特徴である (図2, 表2)。

3) 肝 ATC 活性

ラット胎仔肝ATC活性の胎齢による推移もCPS II活性と同様に胎齢の進行とともにその値は急激に減少し、特に胎齢17日目より胎生末期にかけて激減するのが特徴的であつた。すなわち胎齢17日目では、 $0.64 \pm 0.22 \text{ unit/mg protein}$ であつたものが、胎齢21日目では、 $0.30 \pm 0.04 \text{ unit/mg protein}$ と約50%となり胎生末期にATC活性の有意な ($p < 0.001$) 減少を認めた。出生当日より5日目にかけては、ほぼ同レベルで推移し、新生仔期7日目ではほぼ成熟ラットレベルに近づいた。成熟ラット肝ATC活性は、 $0.03 \pm 0.02 \text{ unit/mg protein}$ であり、ちなみに胎齢17日目のATC活性

表3 ATC activity of rat liver

	day	n	ATC activities unit/mg · protein
Fetus	17	7	0.64 ± 0.22
	18	6	0.45 ± 0.07
	19	7	0.35 ± 0.10
	20	10	0.32 ± 0.06
	21	6	0.30 ± 0.04
Newborn	0	6	0.25 ± 0.05
	1	6	0.23 ± 0.04
	3	6	0.16 ± 0.02
	5	6	0.21 ± 0.02
	7	7	0.09 ± 0.02
Adult		7	0.03 ± 0.02

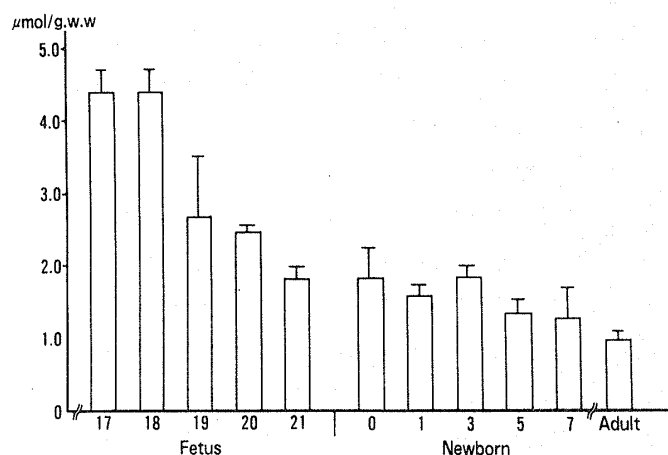
(Mean±S.D.)

表4 Orotate in rat liver

	day	n	Orotate in rat liver ($\mu\text{mol/g.w.w}$)
Fetus	17	8	4.41 ± 0.35
	18	6	4.41 ± 0.32
	19	7	2.67 ± 0.54
	20	12	2.42 ± 0.31
	21	6	1.80 ± 0.10
Newborn	0	7	1.81 ± 0.23
	1	7	1.56 ± 0.11
	3	8	1.92 ± 0.13
	5	12	1.32 ± 0.16
	7	7	1.26 ± 0.36
Adult		7	0.91 ± 0.14

(Mean±S.D.)

図4 Developmental change of orotate level in rat liver (M.±S.D.)



は、成熟ラット肝の約20倍の値をとることにより、胎仔期のATC活性は非常に高値であることが認められた(図3, 表3)。

4) 肝 Orotate 量

ラット胎仔肝オロト酸の胎齢による推移もCPS II活性、ATC活性と同様に胎齢の進行とともに急激に減少し、特に胎齢17日目と18日目は同程度に高値で、その後胎生末期にかけてしだいに減少するのが特徴的であった。すなわち胎齢17日目では、 $4.41 \pm 0.35 \mu\text{mol/g.w.w}$ であったものが、胎齢19日目には約60%に相当する $2.67 \pm 0.54 \mu\text{mol/g.w.w}$ となり、さらに胎齢21日目では、 $1.80 \pm 0.10 \mu\text{mol/g.w.w}$ と胎生期中の最低値を示した。出生から新生仔期3日目までは、胎齢21日目とほぼ同レベルで推移するが、新生仔期5日目

より再び減少し7日目ではほぼ成熟ラットレベルに近づいた。すなわち成熟ラット肝オロト酸は、 $0.91 \pm 0.14 \mu\text{mol/g.w.w}$ であり、胎齢17日～18日目肝オロト酸は、成熟ラット肝の約5倍の値をとることより、胎生期肝臓には高濃度にオロト酸が存在することが認められた(図4, 表4)。

考 案

胎児は発育にともない細胞増殖、組織の増大などに関与する核蛋白質及び体蛋白質、酵素蛋白を産生するが、そのアミノ窒素源は専ら母体に依存している。そして母体から胎児へのアミノ酸の供給は、胎盤において濃度勾配に逆らった能動輸送の様式で行なわれており、特にグルタミンやアラニンが胎児に大量に取り込まれ nitrogen carrier として重要である²¹⁾。すなわちグルタミンやアラニンは、弱アルカリ性や中性である点で組織から組織あるいは臓器から臓器への窒素源の輸送型としては大変有利であり、このことは胎児自身の窒素代謝に都合のよい素材を母体から選択的に摂取していることを表現していると考えられる。

この様に母体から大量に取り込まれたアミノ酸は、胎児で活発に代謝されていると思われるが、その際正常代謝産物として必然的に発生するアンモニアは、胎児ではどの様に代謝調節されているか興味深い所である。アンモニアは過剰になれば細胞毒性を発揮するが、これは何らかの原因によつて代謝異常が起こりアンモニア濃度が異常に増大した場合にのみ起こる現象であり、特に最近で

はアンモニアは本来生体にとって不可欠な代謝調節物質として重要な役割を果たしていることが強調されている²⁾。

以上の点から著者は、胎児に大量に取り込まれるグルタミンの代謝経路のひとつであるピリミジン体合成系 (de novo pathway) と胎児期におけるアンモニア代謝調節、特に尿素サイクルの関連について検討を加え、発育にともなう胎児に特有な代謝機能発現の一端を解明せんと試みた。

ピリミジン体は、胎児の自己増殖に密接に関係する核酸の前駆物質としてプリン体とともに重要な代謝産物であるが、ピリミジン体合成系としては、de novo pathway と salvage pathway の2つの経路の存在が知られている。哺乳動物組織においては、この2つの代謝系は加齢とともに活性の転換が生じて来ることが報告されており¹⁹⁾、特に胎仔新生仔ラット脳においては、de novo pathway の代謝系優位であり、一方成熟ラット脳においては、salvage pathway の代謝系優位となることが報告されている²⁰⁾。すなわち胎児発育に密接に関与するのは、de novo pathway であり、著者はラット肝臓においてこの経路の CPS II 活性、ATC 活性及び中間代謝産物であるオロト酸を測定し検討を加えた。

まず CPS II 活性は細胞可溶性分画に局在し、 $\text{glutamine} + \text{HCO}_3 + 2\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{carbamylphosphate} + 2\text{ADP} + \text{Pi} + \text{glutamate}$ の反応を触媒することにより、グルタミンのアミド N、 CO_2 および ATP よりカルバミルリン酸 (carbamylphosphate, CP) を生成する de novo pathway の初段酵素である。

ラット胎仔肝の CPS II 活性は、新生仔期、成熟期に比べ高値であるが、胎齢の進行とともに減少し、特に出生当日になると胎齢17日目の約1/4と急激な低下を認めた。さらに成熟ラット肝では、胎齢17日目の約8%程度に過ぎないことより、胎生期での CPS II 活性は極めて高値であることを確認した。

ATC も CPS II と同様に細胞可溶性分画に局在し $\text{carbamylphosphate} + \text{aspartate} \rightarrow \text{carbamyl aspartate}$ の反応を触媒することにより、

CPS II の作用で生成されたカルバミルリン酸とアスパラギン酸よりカルバミルアスパラギン酸を生成する。ラット胎仔肝 ATC 活性も胎生期に高値を示すが、胎齢とともに減少傾向を示し、特に出生当日では胎齢17日目の約40%と急激な低下を認めた。さらに成熟ラット肝 ATC 活性は胎齢17日目の約5%程度であり、胎生期では肝 ATC 活性は非常に高値であることが認められた。

次いでオロト酸は、カルバミルアスパラギン酸より dehydroorotase の触媒により生成されるが、ピリミジン体合成系 (de novo pathway) は別名オロト酸経路とも呼ばれる¹⁷⁾ことから、オロト酸の測定は、de novo pathway の代謝機能を知る上で重要である。肝細胞膜は、オロト酸に対する透過性が高く、これをよく取り込みヌクレオチドに転化する能力が高いが、他の臓器では桁はずれに低い¹⁴⁾と言われており、肝臓のオロト酸濃度はピリミジン代謝を反映する。

ラット胎仔肝における肝オロト酸量は、CPS II 活性、ATC 活性と同様に高値であるが、胎齢とともに減少する傾向を示し、特に胎齢21日目では17日目に比べ約40%と急激な減少を認めた。なお成熟ラット肝のオロト酸量は、胎齢17日目の約20%とさらに低値であり、一般に胎仔肝は、高濃度のオロト酸を含有していることを示すものであつた。このオロト酸の胎仔、新生仔期における推移は、CPS II 活性及び ATC 活性に平行して推移しており、特にこのオロト酸の胎生末期の急激な減少は、CPS II 活性及び ATC 活性の急激な低下と密接に関連している事がうかがわれた。

以上ピリミジン体合成系 (de novo pathway) の酵素である CPS II 活性、ATC 活性及び中間代謝産物であるオロト酸の成績より、ラット胎仔ではピリミジン体合成能の亢進を認めた。すなわちこのことは胎児自身で産生、あるいは母体から取り込まれたグルタミンが、アンモニア供与体としてピリミジン体合成系を経て核酸合成のため利用されていることを示唆するものである。この様に生体のアンモニア代謝という観点から見れば、細胞可溶性分画のアンモニアは前述した如くピリミジン体合成にも利用されており、特に胎生期にお

いては成熟期に比べこの代謝は活発であることより、胎児自身の成長発育にとって有意義なことでありとえられる。

一方、ミトコンドリア内のアンモニア代謝調節にあずかる代表的な酵素として、CPS I とグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) などがあげられるが、今回著者はラット肝における CPS I の活性を測定し検討を加えた。

CPS I は、 $\text{NH}_3 + \text{HCO}_3^- + 2\text{ATP} \rightarrow \text{carbamyl-phosphate} + 2\text{ADP} + \text{P}_i$ を触媒し、アンモニアよりカルバミルリン酸を生成し尿素サイクルへ導入する初段律速酵素であり、アセチルグルタミン酸を必須の regulator⁵⁾ としている重要な酵素である。

ラット胎仔肝 CPS I 活性は、胎齢19日目までは低値であるが胎生末期の20日目より比活性の急激な上昇が見られた。しかるに成熟ラット肝 CPS I 活性は、胎齢17日目の約3倍の値を示すことより胎生期の肝 CPS I 活性は非常に低値であることを認めた。このことは胎生期においてはアンモニアからカルバミルリン酸の生成が低下しており尿素サイクルへの導入は乏しいことを示すものである。さらに文献的にも尿素サイクル系の酵素メンバーである arginase 活性⁴⁾, ornithine transcarbamylase 活性⁸⁾ も胎生期には低値であることから、胎仔期では尿素サイクル系のアンモニア解毒—尿素排泄機能は未発達であると考えられる。もつとも、Natale et al.(1969)¹³⁾ の報告の如くカルバミルリン酸はミトコンドリア膜を通過し細胞質中に漏出して ATC によりピリミジン体合成系 (de novo pathway) に取り込まれることも否定は出来ないが、現在のところこれを証明する明確なデータに乏しい。

従って今回の著者の成績は、胎児 (仔) では、ミトコンドリア内でアンモニアが高濃度となると GDH の触媒により積極的にアンモニアからグルタミン酸を合成し、アミノ基転移酵素により種々の非必須アミノ酸となり蛋白合成に利用されるという教室の永田の報告³⁾ と軌を一にするものである。換言すれば、成熟ラットではアンモニアは主として尿素サイクルで解毒処理されるが、発育す

る胎児 (仔) ではアンモニアをアミノ酸、蛋白合成、核酸合成に利用するという recycling system が活発であり、巧妙でしかも合目的な代謝調節が営まれていると考えられる。もつとも、胎生期の

図5 Pathway of ammonia metabolism urea cycle and pyrimidine biosynthesis (Adult)

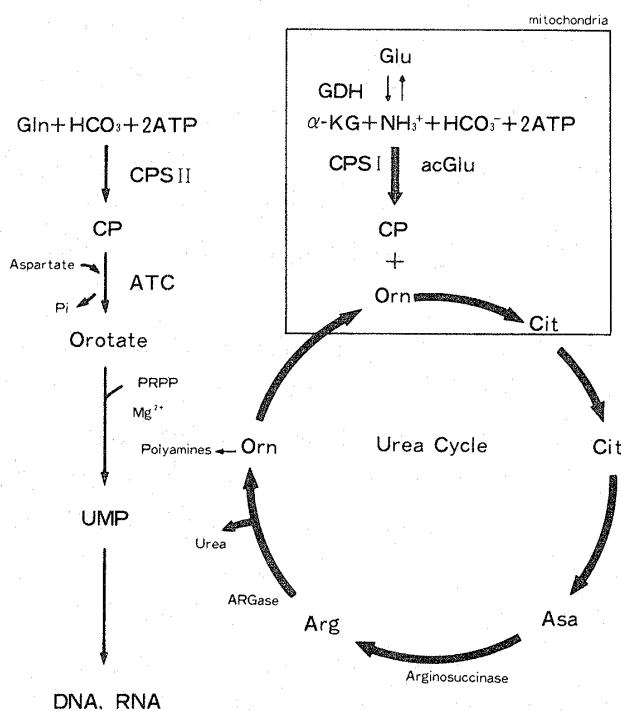
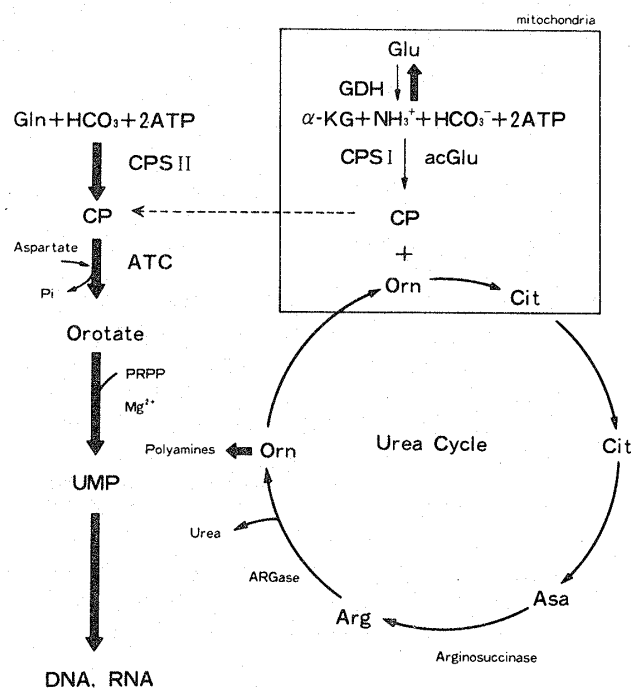


図6 Pathway of ammonia metabolism urea cycle and pyrimidine biosynthesis (Fetus)



尿素サイクルは未発達であるが、アルギニン、オルニチン、ポリアミンなど中間代謝物の供給系¹⁾として重要であると思われる。

その後、胎生末期より出生当日にかけてピリミジン体合成系の活性は急激に低下し、逆にアンモニアを尿素サイクルへ導入する初段律速酵素である CPS I 活性の急激な上昇より、アンモニア→グルタミン酸への流れは、アンモニア→尿素サイクルへの流れへと大きく変わり、さらに尿素サイクル系の酵素メンバーである Ornithine transcarbamylase⁸⁾, arginase⁴⁾などの比活性の上昇より、尿素サイクルは本来のアンモニア解毒—尿素排泄機能を獲得してくるものと考えられる。

以上著者は、ラット胎仔発育過程におけるピリミジン体合成系 (de novo pathway) とアンモニア代謝の関連について検討した結果、Adult (図5) とは大いに異なる胎児 (仔) 独自の代謝 (図6) を想定し、さらに胎生末期から出生当日にかけてピリミジン体合成系とアンモニア代謝系の各酵素活性の転換が起きてくるという胎児成長発育における合目的代謝調節を明らかにした。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導並びに御校閲を賜りました恩師関場香教授に深甚なる謝意を表します。また終始直接御指導御協力をいただいた江口勝人講師に衷心より御礼申し上げます。御助言いただいた本学生化学教室産賀敏彦教授、矢尾謙三郎講師に感謝いたします。

なお本論文の要旨は第18回日本新生児学会 (於大阪)、第19回日本新生児学会 (於東京) で発表した。

文 献

1. 江口勝人: IUGR とアミノ酸およびポリアミン代謝. 産婦人科の世界, 34: 371, 1982.
2. 勝沼信彦, 西井易穂: アンモニアの生化学. 最新医学, 20: 305, 1965.
3. 永田秀明: 胎児のアミノ酸代謝の特異性に関する研究, 特にアンモニアを中心とした代謝調節について. 日産婦誌, 32: 1811, 1980.
4. 小川達博: 周生期におけるラットの成長発育に関する生化学的研究, 特に肝 arginase 活性の変動. 日産婦誌, 32: 340, 1980.
5. 橋 正道: ピリミジン塩基獲得機構とその調節, 代謝および酵素の調節. 正常代謝と異常代謝 (その進歩より), 1976. 裕文社.
6. Batshaw, M.L. and Brusilow, S.W.: Asymptomatic hyperammonemia in low birth-weight infants. Pediat. Res., 12: 221, 1978.
7. Hager, S.E. and Jones, M.E.: A glutamine dependent enzyme for the synthesis of carbamyl phosphate for pyrimidine biosynthesis in fetal rat liver. J. Biol. Chem., 242: 5674, 1967.
8. Jones, M.E., Anderson, A.D., Anderson, C. and Hodes, S.: Citrulline synthesis in rat tissues. Arch. Biochem. Biophys., 95: 499, 1961.
9. Koritz, S.B. and Cohen, P.P.: Colorimetric determination of carbamylamino acids and related compounds. J. Biol. Chem., 209: 145, 1954.
10. Lowenstein, J.M. and Cohen, P.P.: Studies on the biosynthesis of carbamylaspartic acid. J. Biol. Chem., 220: 57, 1956.
11. Lowry, O.H., Rosenbriugh, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265, 1951.
12. Möllering, H.: Orotate determination with 0—5-MP pyrophosphorylase. Methods of Enzymatic Analysis, 4: 1959, 1974.
13. Natale, P.J. and Tremblay, G.C.: On the availability of intramitochondrial carbamyl-phosphate for the extramitochondrial biosynthesis of pyrimidines. Biochem. Biophys. Res. Commun., 37: 512, 1969.
14. Ord, M.G. and Stocken, L.A.: Uptake of orotate and thymidine by normal and regenerating rat liver. Biochem. J., 132: 47, 1973.
15. Pierson, D.L.: A rapid colorimetric assay for carbamyl phosphate synthetase 1. J. Biochem. Biophys. Methods, 3: 31, 1980.
16. Räihä, N.C.R., Heinonen, K., Rassin, D.K. and Gaull, G.E.: Milk protein quantity and quality in low birth weight infants: I. Metabolic responses and effects on growth. Pediatrics, 57: 659, 1976.
17. Reichard, P.: The enzymic synthesis of pyrimidines. Advan. Enzymol., 21: 263, 1959.
18. Rubaltelli, F.F., Formentin, P.A. and Tatò, L.: Ammonia nitrogen, urea and uric acid blood levels in normal and hypodystrophic newborns. Biol. Neonate, 15: 129, 1970.
19. Shambaugh, G.E. III: Pyrimidine biosynthesis. Am. J. Clin. Nutr., 32: 1290, 1979.
20. Tremblay, G.C., Jimenez, U. and Crandall, D.E.: Pyrimidine biosynthesis and its regulation in the developing rat brain. J. Neurochem., 26: 57, 1976.
21. Yamamoto, H., Aikawa, T., Matsutaka, H. and Ishikawa, E.: Relative uptake of plasma amino acids by fetal and tumor tissues. Metabolism, 23: 1017, 1974.
22. Yip, M.C.M. and Knox, W.E.: Glutamine dependent carbamyl phosphate synthetase, properties and distribution in normal and neoplastic rat tissues. J. Biol. Chem., 245: 2199, 1970.

(No. 5439 昭59・1・26受付)