

Biochem J., 646, 56 (1954). @Juchi, I., and Miyazi R., medicine Biology (Japan) 36, 121, (1955)

On the Effect of Ascorbic Acid upon the Nitrogen Metabolism

Takehiko Sakurai, Tsutomu Watanabe, and Bunya Ikegami
Biochemical Institute, Faculty of Medicine, Shinshu University

The effect of ascorbic acid upon the nitrogen metabolism was studied in guinea pigs and the results could be concluded as follows.

At the end stadium of ascorbic acid deficiency

the content of non-protein nitrogen (N. P. N.) in the sera of guinea pigs increased remarkably. The increase of N. P. N. was almost due to that of urea. Also the cathepsin activity of the liver, kidney, spleen, and muscle, and the arginase activity of the liver increased conspicuously at the end of ascorbic acid deficiency. But these phenomena occurred also in the guinea pigs fasting for a long time on an excess of ascorbic acid, therefore the change of N. P. N. content in the sera and the cathepsin and arginase activity were not considered to be due to the effect of ascorbic acid deficiency itself but rather due to the effect of starvation caused by an anorexia following ascorbic acid deficiency.

Vitamin C と脂肪代謝について

(第一報)

昭和33年12月25日受付

信州大学医学部生化学教室 (主任: 藤村紫郎教授)

内 藤 実 桜 井 武 彦 手 塚 晃 次

Ascorbin 酸の脂質代謝に及ぼす影響に関しては多数の実験が行はれているが、必ずしも一定の結果が得られていない。且つ Ascorbin 酸缺乏動物については食欲の減退、壊血症及び脂質以外の養素の代謝異常の発現により、又その軽重によつて第二次に種々の程度の現象が現はれて真実の Ascorbin 酸缺乏の脂質代謝に及ぼす影響はとらえることは容易ではない。

v. Pantschenko-Jnreuck 及び Krant^①は Ascorbin 酸は脂肪酵素の Co-enzyme となると称し、Lanber^②、Master^③は Ascorbin 酸缺乏により体内 Esterase の減少を来すが、Ascorbin 酸代謝が上昇する時には血液、肝腎等の Esterase 量は増加すると称へている。

Felix, Mager^④は Ascorbin 酸を Clupein に結合せしめて脂肪分解酵素作用を有する物質を得たと報告している。

体内脂肪代謝に関しては Terbrüggen^⑤は Ascorbin 酸缺乏により、肝の脂肪変性を来すことを認めた。又他方 Kreitmeier, Steep は Ascorbin 酸は脂肪代謝に影響を与へないと報告し、Sbeppard, Mc. Henry^⑥は肝臓に於ける脂肪代謝に重要な作用を果すと報告している。

著者等は本実験に於て先ず Ascorbin 酸缺乏動物について肝臓血液の各種脂肪含有量、並びに副腎 Cholestrin 含有量を測定し、正常時の夫等と比較検討した。

実験及び結果

実験動物

実験動物としては成熟健康海狼を用い、教室内に於ける基礎飼料に2乃至3週間馴れしめて後実験に供した。Ascorbin 酸缺乏飼料には次の合成食を用いた。

麦	糖	50g
魚	粉	25g
小麦	粉	25g
大豆	油	3g
粗製	食塩	1g
肝	油	1g

この混合物を 100°C, 60分間 Autoclave 内で加熱したものを十分に投与する。別に水は飲むにまかせて与へる。

対照動物には上記 Ascorbin 酸缺乏食の外に Ascorbin 酸 1日 10mg. を毎日経口投与する。

実験方法

脂肪の定量は安田、大野両氏の「脂肪分割の同時定量法 (1939)」に依り測定した。

肝臓 2~5g を Homogenizer にて細碎してその一定量を取り、Alcohol を約 50c.c. 加へて、水浴中で10分間煮沸する。抽出液を濾別し、残渣に更に 50cc. の Alcohol-ether 混合液 (1:1) を加へ水浴中にて30分間加熱抽出する。抽出液は前の Alcohol 抽出液と合し Alcohol を加へ 100c.c. とする。この溶液につき磷脂質、総脂質及び総脂酸等を測定した。

磷脂質

44c.c. の抽出液を水浴中で炭酸ガスを通じつゝ 70°C 以下の温度に加熱し蒸発乾固させ、石油-ether を加へて溶解し遠心沈澱にて不溶物を除く。不溶物を更に 2 回石油-ether で抽出し、抽出液を前の抽出液と合する。之を 1c.c. に濃縮し Aceton 5c.c., 飽和 $MgCl_2$ Alcohol 溶液を加へ混和し 10分間放置後遠沈する。その上清につき遊離 Cholesterin を測定し、沈澱は Aceton 3c.c. 加へよく混和し遠沈を行いその沈澱に Chloroform 10c.c. 加へ遠沈し上清をとる。同様にして更に 1 回 Chloroform で洗い上清を Messcylinder にとり 22 c.c. 迄 Chloroform を加へその 20c.c. について磷脂質の沃度数を測定する。即ち Rosemund 試薬を正確に 2c.c. 宛加へ暗所へ 15分放置し 10g/dl KI を 1c.c. 宛加へ、水 20c.c. 追加し $\frac{N}{100} Na_2S_2O_3$ で滴定し 1% 澱粉液 5滴加へ無色となる終末点で滴定値を読み、計算により磷脂質の沃度数を知る。又 Chloroform 溶液 2c.c. につき磷脂質を定量する。即ち完全に蒸発乾固し Bloor 酸化剤 5c.c. を加へ、対照として Chloroform 2c.c. に酸化剤 2c.c. を加へ、之等を 2 時間水浴中で煮沸した後約 20c.c. の蒸溜水を加へ次に 40g/dl KI 1c.c. 宛加へ $\frac{N}{100} Na_2S_2O_3$ で滴定し 1% 澱粉液 5 滴を途中で加へ暗黒褐色から黄緑色に変る点で滴定値を読み、計算から磷脂質を求む。

総脂酸

前述の抽出液 100c.c. を 25c.c. 宛 Flask にとり飽和 KOH 6 滴加へ水浴中で加熱し蒸発乾固せしめ、稀塩酸 (1:5) 2c.c. 及び石油-ether 10c.c. へ混和し数分間放置し石油-ether 層を Messcylinder にとる。更に下層液を石油-ether 10c.c. で更に一回洗滌し ether 層を集め 25c.c. とする。この 3c.c. について総 Cholesterin を測る。残りの 22c.c. を蒸発乾固し Chloroform 約 7c.c. 宛加へ溶解し別の Messcylinder に移す。同様にして 3 回洗滌し合せて 22c.c. とする。之の 20c.c. について総脂酸沃度数を、2c.c. につき総脂酸を磷脂質測定の方法で夫々定量する。

総脂肪

前述の抽出液 100c.c. を 2c.c. 宛有栓三角コルペン (2 本) にとり蒸発乾固し Bloor 酸化剤を 5c.c. 加へ総脂酸、磷脂質と全く全様にして測定値から計算で求める。

総 Cholesterin

総脂酸を求める途中から得た石油-ether 溶液 3c.c. に Aceton 1.5c.c. 加へ Digitonin 0.2g/dl Alcohol 溶液を 2c.c. 加へ一昼夜放置する。翌日之を送気加温して蒸発乾燥させ ether-aceton (2:1) 3c.c. 加へ、よく混和し 15 分間遠沈し上清を捨てその沈澱に氷醋酸 1c.c. 加へ加温して溶解し冷却してから ether 10c.c. 宛加へ 30 分間放置する。之を濾過し濾液を加温し乾固させ Chloroform 5c.c., 無水醋酸 1c.c., 濃硫酸 0.2c.c. 加へ 25°C に 10 分間保ち直ちに Filter 430 を用い光電比色計により読みを見る。標準液として Chloroform 4.5c.c., Cholestesin-Chloroform 溶液 (1mg/c.c.) 5.5 c.c. を混じたものを用ふ。

遊離 Cholesterin

磷脂質を求める途中から得た Aceton 上清液に Digitonin を加へ一昼夜放置し、総 Cholesterin と全く全様にして比色法により求める。

副腎の場合も全様にして行う。血清の脂質定量にはその 1 乃至 2c.c. を用いた。

脂肪酵素の定量

点滴法によって求めた、Stalagmometer にガラス円筒の外套をつけ、内に 20°C の水を入れ温度を一定に保ち、100% Tributylin 液に各種臓器の抽出液を一定量加へ、加へた直後、15分後、及び 30分後の点滴数を測定した。予め Tributylin 飽和度 (%) を横軸にとり点滴数を縦軸にとつて検量曲線を出し、点滴数から直ちに Tributylin 飽和度を知る様にした。脳、肝臓、腎臓は homogenizer を氷で冷却しながらすりつぶし、0.5g 宛とり之に蒸溜水 10c.c. 加へよく混じ、一重ガーゼで濾過しその 1c.c. を Tributylin 100% 溶液 9c.c. と混じ Stalagmometer で測つた。

脾臓は 0.3g. を材料として用い、之を 10c.c. の蒸溜水で溶解し、その濾液 2c.c. を Tributylin 100% 溶液 9c.c. と混じたものにつき測定した。血清は 0.5c.c. を Tributylin 100% 溶液 9.5c.c. と混じたものにつき脂肪酵素を定量した。

A) Ascorbin 酸缺乏食飼による体重及び肝臓の減少について

Ascorbin 酸缺乏食飼投与 1 日目は食慾不振のためか体重が減少するが以後は 20 日近くまで比較的体重の減少が徐々となる。20 日過ぎると急に著明な体重減少が

始り、1ヶ月足らずで死亡するものが殆んどである。大体始めの体重の2/3位までに減少してくると死亡の危険がある。

Ascorbin 酸缺乏食開始後25日に於て Ascorbin 酸缺乏海狼として実験に用いた。

第1表 Ascorbin 酸缺乏海狼の体重及び肝臓重量の比較

正 常 時 体 重	Vc 缺乏時 体 重	Vc 缺乏時 肝臓重量	肝臓の体 重に對す る百分率	
760g	400g	15.0g	3.75	
780	480	11.5	2.40	
840	520	15.4	2.96	
810	480	16.2	3.38	
780	440	14.0	3.18	
860	510	16.3	3.20	
820	530	13.5	2.54	
750	460	17.1	3.72	
600	370	9.9	2.68	
480	320	11.2	3.50	
630	360	13.8	3.84	
	300	11.5	3.84	
平均	737.3	430.8	13.78	3.249

第2表 正常海狼の体重及び肝臓重量の比較

体 重	肝 臓 重 量	肝臓の体 重に對す る百分率	
870g	26.5g	3.05	
700	22.9	3.27	
610	19.5	3.20	
660	23.5	3.56	
平均	710.0	23.1	3.27

B) Ascorbin酸缺乏による肝臓脂肪含有量の変化

第3表 Ascorbin 酸缺乏海狼の肝臓各脂肪含有量 (g%)

總 脂 肪	磷 脂 質	同 沃 度 数	總 脂 酸	同 沃 度 数	總 Chole- sterin	遊離 Chole- sterin	結合 Chole- sterin	
3.57	2.39	116.0	2.63	93.0	0.076	0.075	0.001	
3.28	2.30	130.0	1.89	74.0	0.555	0.365	0.191	
3.61	2.83	123.0	2.12	135.0	0.282	0.216	0.066	
3.00	2.58	92.0	1.78	140.0	0.283	0.250	0.033	
2.82	2.41	70.0	2.03	79.0	0.230	0.139	0.091	
5.58	2.88	119.0	3.72	114.0	0.253	0.086	0.167	
4.96	3.06	118.0	2.91	87.0	0.197	0.077	0.120	
平均	3.83	2.64	105.9	2.44	103.1	0.271	0.173	0.096

第4表 正常海狼の肝臓各脂肪含有量 (g%)

總 脂 肪	磷 脂 質	同 沃 度 数	總 脂 酸	同 沃 度 数	總 Chole- sterin	遊離 Chole- sterin	結合 Chole- sterin	
3.71	22.7		1.84	90.0	0.102	0.094	0.008	
3.15	26.9	91.0	2.23		0.088	0.076	0.012	
3.37	1.72	132.0	1.85	128.0	0.123	0.117	0.006	
4.55	3.30	67.0	3.98	11.4	0.192	0.101	0.091	
5.58	3.62	66.0	2.86	114.0		0.065		
5.55	3.20	91.0	3.92	110.0	0.310	0.046	0.264	
平均	4.32	2.83	89.4	2.78	111.6	0.163	0.083	0.076

C) Ascorbin 酸缺乏による海狼副腎 Cholesterin 含有量

第5表 Ascorbin 酸缺乏海狼の副腎 Cholesterin 含有量 (g%)

總 Cholesterin	遊離 Cholesterin	結合 Cholesterin	
3.190	0.315	2.875	
3.370	0.301	3.069	
4.660	0.324	4.336	
平均	3.740	0.313	3.427

第6表 正常海狼の副腎 Cholesterin 含有量 (g%)

總 Cholesterin	遊離 Cholesterin	結合 Cholesterin	
3.560	0.364	3.196	
7.250	0.628	6.622	
4.000	0.473	3.527	
平均	4.937	0.488	4.459

D) Ascorbin 酸缺乏による血清中の脂肪含有量の変化

第7表 Ascorbin 酸缺乏海狼の血清脂肪含有量 (g/dl)

總 脂 肪	磷 脂 質	總 脂 酸	總 Chole- sterin	遊離 Chole- sterin	結合 Chole- sterin	中 性 脂 肪 そ の 他	
0.582	0.068	0.094	0.022	0.016	0.006	0.492	
0.583	0.072	0.119	0.020	0.017	0.003	0.491	
0.414	0.033	0.120	0.058	0.016	0.042	0.323	
平均	0.526	0.058	0.111	0.033	0.016	0.017	0.435

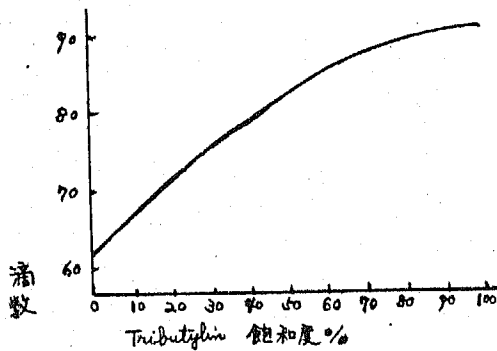
第8表 正常海痕の血清脂肪含有量 (g/dl)

總脂肪	磷脂質	總脂酸	總Cholesterin	遊離Cholesterin	結合Cholesterin	中性脂肪その他
0.309	0.133	0.189	0.040	0.019	0.021	0.136
0.337	0.082	0.099	0.067	0.026	0.041	0.188
平均	0.323	0.108	0.144	0.054	0.031	0.161

E) 正常海痕及び Ascorbin 酸缺乏海痕の血清及び各諸臓器中の脂肪酵素について

温度を一定 (20°C) に保ち, Tributylin 飽和度を横軸にとり, 滴数を縦軸にとり, 同一の Stralagmometer を用いて, 検量曲線を作つた。第1図の如くである。100% Tributylin 液はその都度原液から新調した。100% Tributylin 液は古くなると滴数に変化が来る。

第1図 (20°C)



新調 100% Tributylin 液を使用した場合 A 点と作つて10日以上経過した Tributylin 液を使用した場合 B 点とを見れば滴数に大きな変化が見られる。

血清中脂肪酵素と Ascorbin 酸との関係

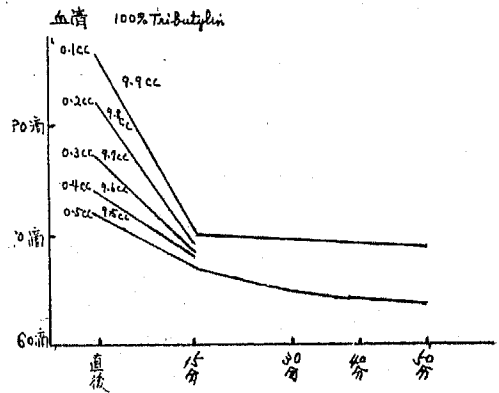
正常海痕の血清と 100% Tributylin 液との量を色々に変化させて Stalagmometrie を行つた。結果は第2図の如く、血清量増加と共に滴数が減少した。以後血清量 0.5c.c. とし 100% Tributylin 液 9.5c.c. を混じたものについて実験を行つた。

正常海痕血清について行つた実験の結果は第3図の如くである。

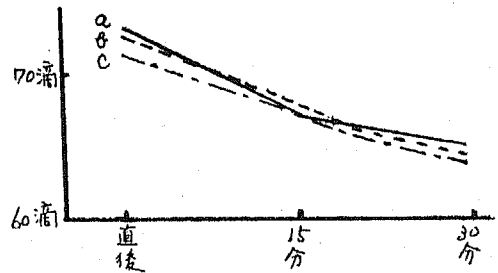
正常海痕血清を採血当日及び1週間、2週間冷蔵庫に保存したものについて実験してみたが、第4図に示す様に著しい変化が見られなかつた。又正常海痕血清について Ascorbin 酸を定量したが2例とも 1.1mg/dl. であつた。

Ascorbin 酸缺乏海痕血清について脂肪酵素を測定した。結果は第8(a)図、第8(b)図の如くである。

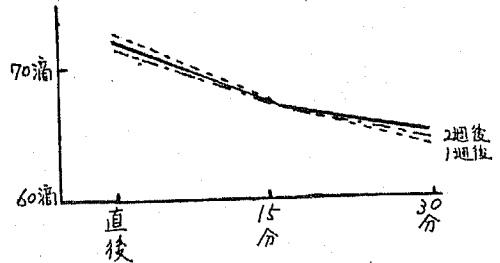
第2図



第3図



第4図



同一の血清について Ascorbin 酸を定量したら零であつた。

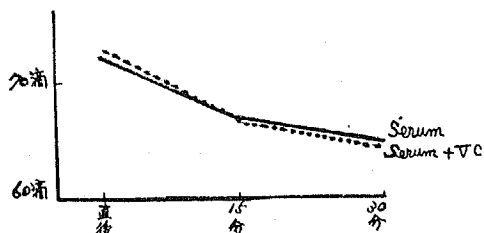
正常海痕血清に Ascorbin 酸 0.4mg. を添加して点滴した。結果は第5図に示す様に同一正常海痕血清のみで行つた場合と全く一致した。

対照として正常海痕血清を 60°C 30分水浴で加熱酵素を破壊したものを酵素液として行つた実験の結果は第6図の如くである。

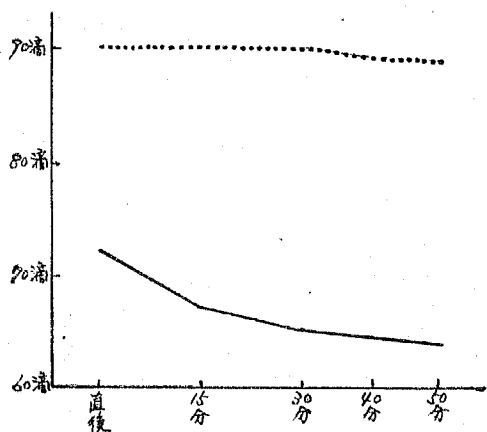
肝臓、腎臓、脾臓及び大脳の脂肪酵素と Ascorbin 酸との関係

以上の諸臓器について正常海痕の脂肪酵素を測定した結果は、第7(a), (b), (c) 図の如くである。

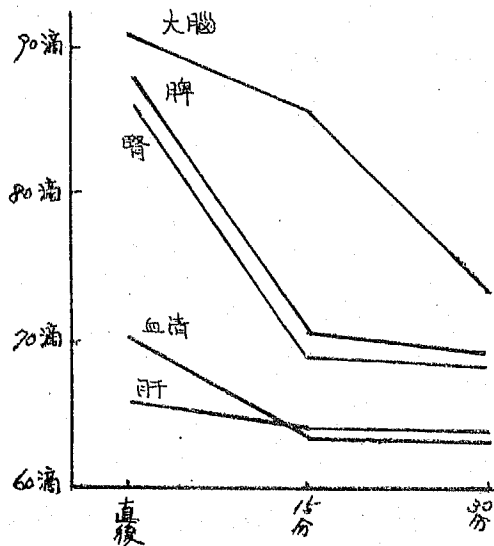
第5図



第6図



第7図(a)

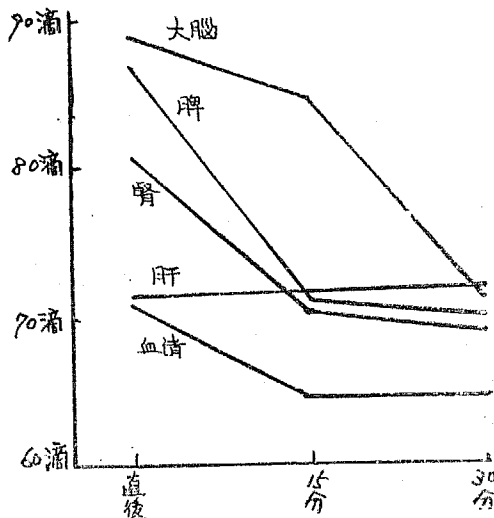


Aseorbin 酸缺乏海癩につき肝臓、腎臓、脾臓、及び大脳の脂肪酵素を測定した。

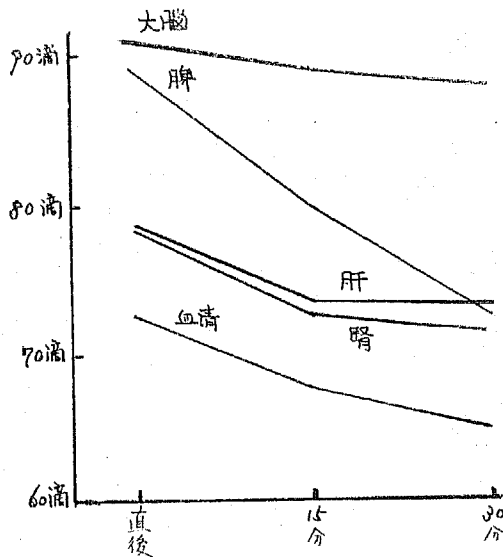
結果は第8(a), (b), (c) 図の如くである。

対照実験として以上の諸臓器抽出液を 60°C 30分間加熱し酵素を破壊させたものを加えて反応させ測定し

第7図(b)



第7図(c)



た。結果は第9図の如くである。

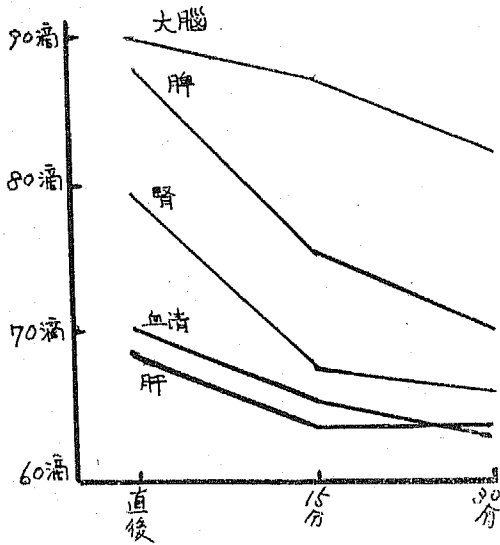
結論

著者等は海癩について Ascorbin 酸の脂質代謝に及ぼす影響に関して観察し次の結論を得た。

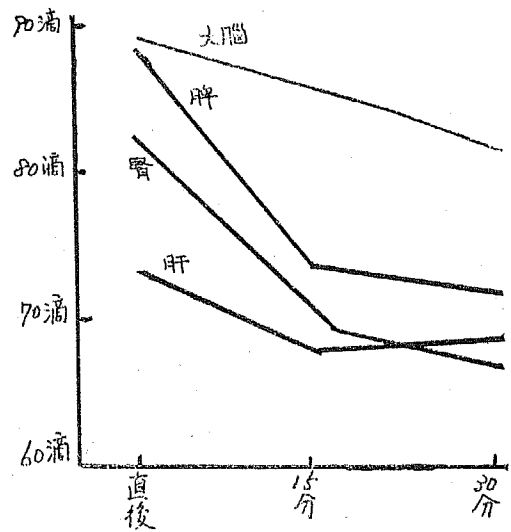
(1) 海癩を Ascorbin 酸缺乏に陥らしめる時には著しい体重の減少を来たす之は食慾不振に帰因するものではない。Ascorbin酸缺乏食餌に於ても略正常時と同様に摂取している。体重の減少に伴つて肝臓の重量が減少するが、体重と肝臓重量の比は正常時のそれと等しい。

(2) Ascorbin 酸缺乏によつて肝臓の脂質含有量は

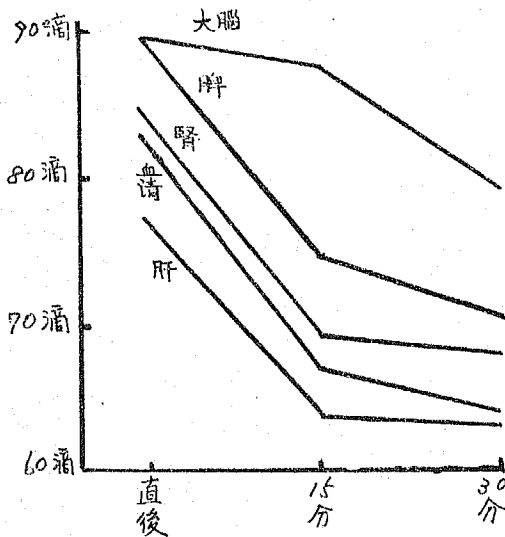
第8図(a)



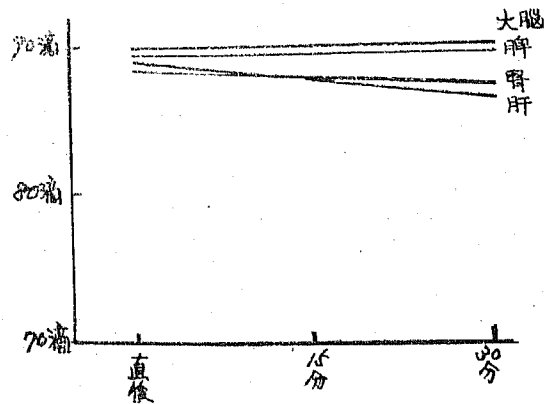
第8図(c)



第8図(b)



第9図



は肝、腎、脾、大脳及び血清中に於いて正常時の値に比して殆ど変化を認めない。

本実験を行うにあたり終始御指導を賜りました藤村教授に感謝の意を捧げます。

文 献

- ①Bloor, W. R.: J. Biol. Chem., 77: 53-73, 1928.
- ②Bloor, W. R.: J. Biol. Chem., 56: 711-724, 1928.
- ③Morio Yasuda: J. Biol. Chem., 94: 401-409, 1931.
- ④Schoenheimer, R. and Sperry, W. M.: J. Biol. Chem., 106: 745, 1934.
- ⑤Morio Yasuda: J. Biochem, 24: 429-442, 1936.
- ⑥M. Yasuda and K. Ohno: J. Biochem, 3: 30, 1939.
- ⑦Sperry, W. M. and Band, F. C.: J. Biol. Chem., 150: 315-324, 1943.
- ⑧Bloor, W. R.: J. Biol. Chem., 170: 671-674, 1947.
- ⑨Rona, Michaelis: Biochem. Z. 31: 345, 1911.

僅少な減少を示すにすぎない。その内総-Cholesterin, 就中遊離-Cholesterin は増加を示す。他の脂質割分には著しい変化は認めない。

(3) Ascorbin 酸と著しい関係があると考へられている副腎の Cholesterin 含有量は Ascorbin 酸缺乏によつて減少を来す。この減少は結合・遊離両型の Cholesterin に於て見られる

(4) 血清中の総脂肪含有量は Ascorbin 酸缺乏により著しい増加を認めた。この増加は中性脂肪の増加に基づく。

(5) Ascorbin 酸缺乏海猿各臓器の脂肪酵素含有量

On the Effect of Ascorbic Acid Deficiency upon the Lipid Metabolism. The 1st Report

Minoru Naito, Takehiko Sakurai, and Koji Tezuka

Biochemical Institute, Faculty of Medicine, Shinshu University

The effect of ascorbic acid deficiency upon the lipid metabolism was studied in guinea pigs and the following results were obtained.

The total content of lipids in the liver of guinea pigs decreased slightly following the deficiency

of ascorbic acid, but the ratios between each lipid fraction remained as almost unchanged. Free cholesterol was a sole exception, showing an increase in its content to some degree.

The cholesterol content in the adrenal gland decreased in both forms, bound and free.

The total lipid content in the blood increased due to an increase of neutral fats.

The lipase activity of the liver, spleen, kidney, brain, and serum remained almost constant following the deficiency of ascorbic acid.

やゝ珍しい殺人の一例

昭和32年12月25日受付 (特別掲載)

信州大学医学部法医学教室 (主任: 野田教授)

若月 岩 雄 仲 俣 英 夫

萩 原 昭 金 箱 房 枝

長野県警察本部鑑識課

大都会では、さして珍しい事例とはいえないだろうが、長野県下では一寸珍らしく、猟奇的な意味から新聞、ラジオ等を賑はした事件が発生、事後、飲酒による心神喪失の法的取扱いに対する社会的意義についても、新聞、ラジオで云々された殺人の一例について報告する。

概 要

昭和32年3月15日、県下〇市で発生した事件であり、その概要は、同市の高橋某方二階八畳の間で、その近所の飲食店U方女給T(24才)が血まみれの死体となつて発見された。犯人は、八畳間を借りていた工具X(24才)で、犯行後間もなく逮捕されたが、飲酒による心神喪失の上での犯罪とされ、精神病院へ収容された。一方検証におもむいた係員は、死体の一部即ち外陰部皮膚が切取られ持去られていて、死体の附近に見当たらないので驚いたが、その死体の一部は、犯人が持歩いているだろうと考へられ、八方手わけをしてさがした結果、被疑者が姉(自白後判明)の家に立寄つた際、置忘れていつたらしい紙包の中からTの死体の一部が発見された。死因は恐らく扼頸による窒息死であろうと考へられた事例である。(死因は犯人の自白により、本結論の通りであることが確められた。)

被害者について

被疑者某の下宿先の人の話では、普段はむしろおとなしい性質であるが、酒を飲むと全く変つてしまつて乱暴を働くという事であつた。被害者Tと、酒を飲んでゐた被疑者と路上で会い、後刻改めて二人で会つて飲酒の上、被疑者の下宿へ帰り、持帰つたウイスキーを更に二人で飲んだ。そこで種々な事項の相談をしてゐるうち被疑者が被害者を絞頸で殺害、カミソリをもつて陰部皮膚を切取つて持歩いたものである。事件後、逮捕されて取調の結果、飲酒による心神喪失であるとして、某精神病院に収容された事は前述の通りであるが、このことが後日新聞、ラジオ等で問題になつたことは御承知の通りである。

死体皮膚欠損部について

死体の外陰部皮膚は写真、略図の如くに欠損してゐた。この部の周囲の性状から、鋭利な刃器で切つたものであり、底部は皮下脂肪織が写真の如く露呈してゐて、丁度カミソリではぎとつたと考へられる損傷であり、出血は殆どみられず、絞頸直後にきづつけたものと見られた。

むすび

絞頸による殺人の直後、外陰部皮膚を切取つて持歩