



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

カイコ体内におけるビタミンB6化合物の動態と各型の転換代謝

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 黄, 龍全 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2502

氏 名 (国籍)	黄 龍 全 (中華人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 1 6 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 1 1 年 3 月 1 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	カイコ体内におけるビタミン B ₆ 化合物の動態と 各型の転換代謝
審 査 委 員	主査 岐阜大学 教授 柘 植 治 人 副査 静岡大学 教授 西 垣 定 治 郎 副査 信州大学 教授 黒 沢 辰 一 副査 岐阜大学 教授 櫻 井 宏 紀 副査 岐阜大学 助教授 早 川 享 志

論 文 の 内 容 の 要 旨

カイコ幼虫のビタミン類の栄養要求については既に詳細な研究が行われており、必須ビタミンの種類と要求量及び欠乏による影響は、かなり解明されている。しかし、カイコ体内におけるビタミン類の動態や代謝についてはまだ未解明の部分が多い。なかでも、ビタミン B₆ (以下、B₆) についての研究はほとんど行なわれておらず、解明が待たれている。そこで、ビタミンフリーの牛乳カゼインをタンパク質源とした合成飼料にピリドキシン塩酸塩(PN・HCl)を添加し、4・5 齢の幼虫を飼育し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて各 B₆ 誘導体を同定・定量することにより、カイコ体内における B₆ 化合物の存在形態、動態を解析した。また、5 齢幼虫について、組織由来の B₆ 誘導体の相互転換に関与する酵素活性を分析することにより、カイコ体内における B₆ 化合物の代謝を検討し、以下の結果を得た。

1 : カイコ幼虫体内における B₆ の存在形態と動態は飼料に添加した B₆ の種類と量に依存する。合成飼料への PN・HCl 添加量の増加に従って、幼虫体内のピリドキサーール(PL)とピリドキサミン(PM)含有量は増加し、過剰の PN が蓄積し、体液は PN の一時的な蓄積場所であった。一方、カイコ体内における補酵素型 B₆ であるピリドキサーール 5'-リン酸(PLP) とピリドキサミン 5'-リン酸(PMP) の量は、ほぼ一定であり、恒常性が保たれており、各種の組織中に分布し、体液からは極めて僅かしか検出されなかった。また、PN に対するカイコ腸管からの吸収様式は、単純拡散とみなされ、体液に入ってから PN は、能動的に他の組織に取り込まれることが示唆された。

2 : 5 齡幼虫における B₆。誘導体の相互転換に関する酵素活性を分析したところ、体液以外の組織では全て PL kinase, pyridoxine 5'-phosphate/pyridoxamine 5'-phosphate oxidase(PNP/PMP oxidase), PLP phosphatase 活性が検出された。また、ATP 以外のリン酸エステルをリン酸供与体とする PN のリン酸化活性も検出された。しかし、微生物菌体で認められる PN と PL の間の転換に関する酵素、哺乳動物の肝臓で認められる 4-pyridoxic acid(PIC) の生成に関与する酵素活性は検出されなかった。各酵素の組織分布を調べると、マルピギー管は B₆。化合物の代謝が最も盛んな組織であり、脂肪体と絹糸腺では、PLP を合成する酵素の活性が高く、中腸は B₆。リン酸エステル(PLP, PMP, PNP) を脱リン酸化する酵素活性が強かった。

カイコ体内に入った PN は各組織に取り込まれ、そこで、先ず PL kinase の作用により 5' 位がリン酸化され PNP となり、つぎに PNP/PMP oxidase の作用により酸化的に補酵素型の PLP へと転換される経路が推定された。このような機構は、特定の組織(すなわち、主として肝臓)で合成された PLP が血流を介して他組織へ転送される哺乳動物の場合とは明確に異なる事が明白となった。また、どの幼虫組織においても PLP phosphatase 活性は PL kinase や PNP/PMP oxidase の活性よりはるかに高い活性が認められた。従って、生理要求量以上の余分の PLP は直ちに PL になると推察された。また、各組織由来の PL kinase はその至適 pH が、いずれも 5.5 前後であり、Zn²⁺ で最も効果的に活性化され、PN に最も強い親和性を示した。そして、PLP phosphatase 活性は酸性側でのみ検出された。

3 : カイコ幼虫体内で PN が蓄積するためには、B₆。の代謝回転を超える過剰の PN の連続的な供給が必要であり、通常ほとんど保留されない。起蚕と蛹体においては、PN はほとんど検出されなかった。また、カイコ組織中の PL の最大保持量は 5 nmol/g fresh weight 前後であり、それ以上の PL は直ちに排泄された。そして、カイコ体内においては貯蔵のための PLP は存在していないと推察された。すなわち、カイコ体内における B₆。化合物の存在形態、動態及び代謝は哺乳動物とは異なることが明確になった。この事実が、各齡起蚕から B₆。欠乏飼料で飼育したカイコが速やかに B₆。欠乏症になって死亡する主原因であると結論した。

審 査 結 果 の 要 旨

ビタミン B₆。(以下、B₆。と略記)は、生物の生存に必須の成分であり、その生化学的な役割は、ほぼ解明されているといっても過言ではない。しかし、哺乳動物、例えば、ラットを、明確な欠乏状態とするのには長期間を要し、困難がつきまとう。

動物の一大生命形態である昆虫類についての必須微量栄養素に関する研究は、産業上もしくは衛生上問題になるほんのわずかの種類についてのみ研究されているが、ほとんど未解明の分野である。

カイコ(*Bombyx mori*)は、古来から絹糸の生産のため家畜化された数少ない昆虫の一つで、その産業上の価値から栄養要求性は、既に詳細に研究されている。しかし、カイコ体内における B₆。の動態や代謝機構についてはまだ解明されておらず、人工飼料の開発や哺乳動物や植物細胞、微生物との代謝の比較生化学の観点からも関心がもたれている課題で

ある。

黄論文では、ビタミンフリーとした牛乳カゼインをタンパク質源とした合成飼料にピリドキシン塩酸塩 (PN・HCl) を添加し、4、5 齢のカイコ幼虫を飼育し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて各 B₆ 誘導体を同定・定量することにより、カイコ体内における B₆ 化合物の存在形態、動態を解析している。さらに、同様の研究手法を使って、カイコ幼虫における B₆ 代謝に関与する酵素について、その活性の臓器分布、至適 pH、K_m 値等の諸性質を検討した。

その結果、B₆ 代謝について、幾つの特徴が明確となった。

- ①カイコ体内における各 B₆ 誘導体の分布を調べると、圧倒的に PN の形で存在し、飼料への PN・HCl の添加量に従って、PL、PM の含有量が増加したが、活性型である PLP の量はほぼ一定に保たれており、生体内恒常性が存在する。
- ②5 齢幼虫における B₆ 誘導体の相互転換に関与する酵素活性を分析したところ、体液以外の組織には全て PL kinase, PNP/PM oxidase, PLP phosphatase の活性が認められた。また、phosphatase の逆反応によるリン酸化活性が検出されたが、その活性は微弱で、生理的意義は低いと判断される。また、哺乳動物では認められる PIC の生成は、殆ど無視できる程度であった。
- ③カイコの体液には、B₆ 誘導体の相互転換に関与する酵素は、殆ど存在せず、中腸から体液に入った PN は各組織に取り込まれ、そこで、PL kinase, PNP/PM oxidase の作用で PLP に変換され、補酵素となって機能する。哺乳動物では特定の組織で合成された PLP が、血液を介して各組織に運搬されるが、カイコ幼虫ではそうした機構は存在しないと結論された。
- ④カイコ幼虫体内における B₆ の蓄積量は少なく、絶えず補給しないと容易に欠乏症になり死亡する。その理由は、体液における B₆ の貯蔵能が低いことが原因であるとおもわれる。カイコが絶えず桑の葉を食べ続けている理由は、B₆ のような必須栄養素の体内保留能の低さが原因であろうと推論している。

以上の知見は、カイコに対する人工飼料の開発に資するのみならず、比較生化学的見地からも非常に貴重な成績であり、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

[基礎となる学術論文]

- 1) 黄龍全、張剣韻、早川享志、柘植治人(1997)高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いたカイコ体内ビタミン B₆ の存在形態の解析。日蚕雑 66, 169-175.
- 2) 黄龍全、張剣韻、早川享志、柘植治人(1998)合成飼料へのピリドキシン (PN) の添加と蚕体の応答。日蚕雑 67, 9-15.
- 3) 黄龍全、張剣韻、早川享志、柘植治人(1999) カイコ体内におけるビタミン B₆ 化合物の代謝に関する酵素活性の分析。日蚕雑 68, (印刷中)。