

総 説

尿ペプチドの生理的意義

野口 忠

中部大学応用生物学部応用生物化学科

要 旨

尿へは常にペプチドが排泄されている。このペプチドはどのような生理的意義をもっているのであろうかという疑問に答える研究はほとんど行われていない。

われわれは、このペプチドが、からだのタンパク質の分解によって生じること、そして、ちょうどわれわれの食物の消化率が測定できるように、このペプチドの排泄量を測定すれば、からだのタンパク質の分解量を推定することができる、という仮説を立てて、この仮説を支持する根拠を集めてきた。現在までに得られている結果は、いずれもこの仮説を支持するもので、長い期間にわたって研究されて、明らかにされてきたタンパク質栄養のテーゼをよく説明するものであり、さらに、従来の方法では得ることのできなかった重要な知見を得ることができることを示している。

本稿では、このような観点に立って行われた尿へ排泄されるペプチドの研究で得られた結果を概説した。

キーワード：グルココルチコイド，尿ペプチド，タンパク質分解，タンパク質栄養，糖尿病

はじめに

われわれのからだの中でどのようなことが起きているのか、われわれのからだはどのような状態にあるのかということを、意識するにしろしないにしろわれわれは常に知りたいと思っているといつてよい。健康診断を受診する人は、意識してそれを知ろうとしているはずであるし、健康診断など受診しないといっている人も、多くは、現在自分のからだの中で、生命に危険をもたらす可能性のあることや、仕事に影響するような変化はおこっていないとの自信を持っている場合が多い。

このようなことを知りたいという欲求を反映して、多くの臨床検査方法が開発されてきた。X線撮影をするといったこともこの方法の一つであり、血糖値、血漿コレステロール量の測定なども同様である。現在、臨床検査で採用されている項目は極めて多種類にのぼる。

筆者の専門とするタンパク質代謝に関する検査法もいくつか用いられている。

からだの中では、常にタンパク質の合成と分

解が行われ、毎日からだ全体のタンパク質の約3%が入れ代わるほどの速さでタンパク質が合成され、分解されていると考えられている。成人男子のからだには約10kgのタンパク質があるので、毎日3%が入れ替わるということは、約300 gのタンパク質を入れ替えていることになる。この量は、毎日1.5 kgの肉を合成しつづけていることを意味し、90年の生涯では50 tにもなる量である。これが順調にすすんでいけば健康ということになる。がんの場合などは、特別なタンパク質が異常に合成されているといえることができる。

筆者は、このタンパク質代謝の状態を判定する方法につねに関心をもってきた。以前、骨格筋のタンパク質の分解量を推定するよい指標として3-メチルヒスチジン法の開発研究に携わったが、この方法は、現在でもよい方法として利用されている（門脇，野口，1984）。

さらにこの方法を発展させて、からだ全体のタンパク質代謝の状態を把握する方法はないかと考えてきたが、25年ほど前に、尿へ排泄され

るペプチドを定量するという方法はどうかと考
えついて、その有効性を調べてきた。

本総説では、この尿へ排泄されるペプチドの
生理的意義と臨床的な利用の可能性について考
えてみたい。

尿へ排泄されるペプチド

尿へは常にペプチドが排泄されている。その
量は、諸種の生理的状態によって影響されるが、
成人で窒素量にして通常0.3～0.7 g 程度とされ
ている。これはペプチド量にして2～5 g 程度と
換算される。

そのアミノ酸組成（例えば図2）をみると、
量的にはプロリン、グリシン、ヒドロキシプロ
リンが圧倒的に多量である。これは、尿のヘプ
チドが、量的にはコラーゲン起源のものが多い
ことを示唆している。

尿ペプチドの定量

尿へ排泄されるペプチド量を定量することは
必ずしも容易ではない。尿のペプチド態のアミ
ノ酸には、タンパク質態といってよいものもあ
るので、それを分けた方が知りたいデータが得
やすいと考え、2%のスルフォサリチル酸で除
タンパク質を行った。

また、尿へは極めて多種類のペプチドやアミ
ノ酸が排泄されるが、遊離アミノ酸は、量的に
ほぼペプチドに匹敵する程度であるので、筆者
は、尿を陽イオン交換樹脂で脱塩した後、加水
分解した試料としない試料についてアミノ酸分
析して、各アミノ酸の量の差から尿のペプチド
態のアミノ酸量を算出するという方法を用いて
いる（Noguchi et al., 1988）。組織のペプチド量
も知りたいのであるが、組織には相対的に多量
の遊離アミノ酸があって、加水分解前後のアミ
ノ酸の定量では、ペプチド量を測定できない。

尿のペプチドを定量的に分取するよい方法
はない。現在利用できるもっとも信頼性の高い方
法は、銅-セファデックス法と筆者がよんでい
るセファデックスに水酸化銅を吸着させて、そ
れと遊離アミノ酸が複合体を作る性質を利用し
てペプチドと分別する方法である（Noguchi et
al., 1981）。この方法は再現性がよく、定量性も
実用上問題ないが、一部のペプチド群しか回収
できない（大部分ではあるが）という欠点があ

る。しかし、この方法以外にはないということ
も考慮して、有用な方法であると筆者は考えて
いる。この方法は、標識したペプチドを分取し
たい場合とか、組織のペプチドを分取したい場
合とかに有用である。

上記のように、尿のペプチドは加水分解前後
のアミノ酸量の差から定量できるが、それをど
のように表現するかというと、ペプチド態アミ
ノ酸の量として表現する。しかし、後述のよう
に、その全量を合計すると、上記のコラーゲン
由来のペプチドと推定されるものの量を反映す
ることになるので、筆者は加水分解に安定で、
定量でも安定な値が得られるロイシンとバリン
の量を合計して表現することになっている。後述
のように、プロリン、ヒドロキシプロリン、グ
リシンを除けば、どのアミノ酸でもよいはずで
あるので、ロイシンとバリンを選んでいるに過
ぎない。以後で、「ペプチド態ロイシン+バリン」
というのは、こうした考えに基づいて設定
した値である。

尿へ排泄されるペプチドの生理的意義

尿へ排泄されるペプチドがどのような生理的
意義をもっているかを判定することは容易では
ない。そこで、いくつかの事実を基に考察した
い。

まず、食べ物からタンパク質を一切摂取しな
い場合にも尿へペプチドが排泄されるか、とい
う問題がある。もし、尿へ排泄されるペプチド
が食物に由来するとすれば、その組成は、どの
ようなタンパク質を食べるかによって影響を受
けるであろうし、それは尿ペプチドのアミノ酸
パターン（アミノ酸の相対的な割合）にも影響
が現れるであろうと考えた。

図1は、尿へ排泄されるペプチドのアミノ酸
パターンを、タンパク質を食べない場合と、コ
ムギグルテンを食べている場合で比べたもので
ある。図1から明らかなように、コムギグルテ
ンを食べても、タンパク質を食べない場合でも、
尿へ排泄される全体のアミノ酸パターンはほぼ
一定であることから、このアミノ酸パターンは
食事タンパク質に影響されないと結論すること
ができる。このことは、カゼイン、コメタンパ
ク質、ダイズタンパク質などを食べさせた場合
も同様で、尿へ排泄されるペプチド態のアミノ

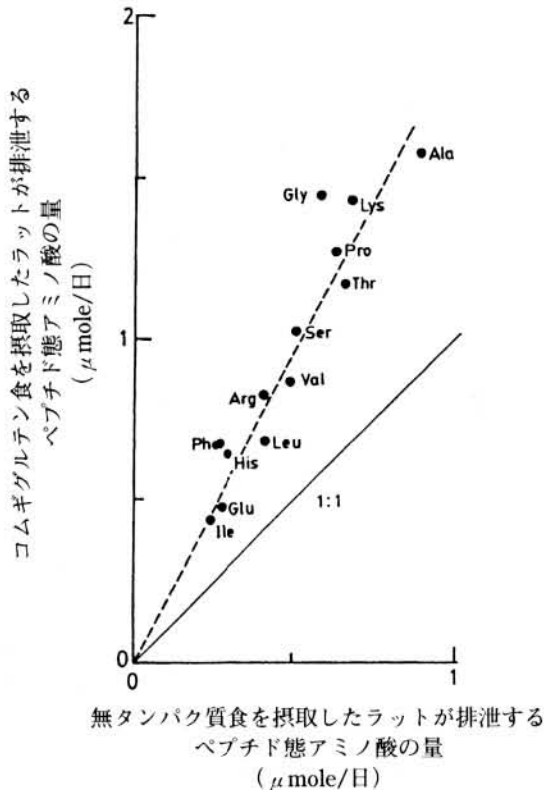


図1 尿へ排泄されるペプチド全体のアミノ酸組成に及ぼす食餌の影響

コムギグルテンを含む食餌とタンパク質を含まない食餌（無タンパク質食）をラットに1週間与え、最後の2日間に尿へ排泄されるペプチド態のアミノ酸量を測定した。横軸に無タンパク質食を摂取させたラットの尿のペプチド態のアミノ酸量を示し、縦軸にはコムギグルテン食を摂取させたラットの尿のペプチド態のアミノ酸量を示した。両者のアミノ酸組成はよく一致していること、コムギグルテン食を摂取するとペプチド排泄量が増加することが明らかである。（Gly, Pro, Glu（実際はGlx）については、実際の値を1/10にして表示した）。

酸の組成は、食餌によって影響を受けないことが明らかになった。もう一つ、図1から明らかなのは、たとえタンパク質を食べなくても、尿へはつねにペプチド態のアミノ酸が排泄されているということである。タンパク質を食べない場合に排泄されるペプチドは内因性のものであること、すなわちからだのタンパク質に由来するものと考えざるを得ない。換言すれば、以上の結果は、尿へ排泄されるペプチドが食事のタンパク質に由来しないという仮説を強く支持していることを意味している。

次に筆者は、ヒトの尿のペプチド態のアミノ酸のパターンとラットのそれを比較してみた。食事のタンパク質の影響を避けたかったので、ちょうどボランティアの方に無タンパク質食を

食べていただいて、その方々のからだの状況をしらべるという研究をしておられた医学系の教授の方から被検者の尿を分けていただいて分析し、無タンパク質食を食べさせたラットと比較した。図2がその結果である。図2から、次のことが読み取れる。まず、ラットとヒトでアミノ酸パターンは極めてよく似ていること、すなわちデータは同じ直線にのることがわかった。このことも、尿ペプチドがタンパク質の代謝と密接に関連していることを示唆している。次に、その量的な比較をしたところ、それが図2の直線、この直線は体重の3/4乗に比例すると仮定した場合にデータが並ぶはずの直線、にのることがわかった（Noguchi et al., 1982）。すなわち尿へ排泄されるペプチド量は、ラットとヒトという体重が250倍も差のある場合でも、体重の3/4乗に比例することが明らかになった。体重

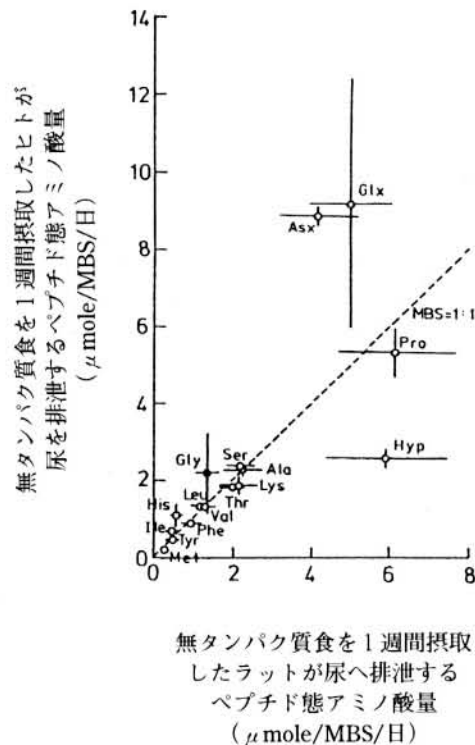


図2 尿へ排泄されるペプチド態アミノ酸量のヒトとラットの比較 (Noguchi et al., 1981)

無タンパク質食を1週間摂取したヒトとラットが尿へ排泄するペプチド態のアミノ酸量を測定した。横軸にはラットの排泄量を代謝体型 (Metabolic Body Size, MBS) あたりの1日の排泄量で示し、縦軸にはヒトの排泄量を同じ尺度で示した。（Glyについては、実際の値を1/10にして示した）。両者のアミノ酸組成がよく一致していること、ペプチド態のアミノ酸の組成がMBSに比例することを示している。破線は、1:1の線。

の3/4乗は、メタボリック・ボディー・サイズ (MBS) と呼ばれる指標で、基礎代謝量がこのサイズに比例することから提案された概念で、体重100 g 程度のハトから、500kgを越える去勢牛まで、広い範囲の体重の動物に対して適応できることが確認されている。動物のエネルギー必要量の策定にも利用されている概念である。さらに、内因性の窒素排泄量 (すなわち、タンパク質を食べない場合でも排泄される窒素量) は、このMBSに比例することが知られていることから、尿のペプチド態のアミノ酸の排泄量はMBSに比例することが確認されたこととなり、このことは、尿ペプチドが内因性窒素排泄の指標であることを強く示唆している。内因性窒素排泄量というのは、タンパク質代謝の重要な概念で、タンパク質の所要量策定の際にも基本概念となっているものである。

生理的な状態が尿へのペプチド排泄量に及ぼす影響

尿へ排泄されるペプチド量は生理的な状態によって影響を受ける。上述のように、無タンパク質食などを摂取すると排泄量は減少する。一方、ストレプトゾトシンを注射して動物を糖尿病状態に置くと、尿へ排泄されるペプチド量は増加する。グルココルチコイドを投与した場合も同様である。ストレプトゾトシン糖尿病やグルココルチコイド投与の場合は、体タンパク質の分解が上昇するとされているので、この現象は、「尿ペプチドの排泄量は、体タンパク質の分解の指標となる」という仮説に矛盾しない。

「尿ペプチドの排泄量は、体タンパク質の分解の指標となる」と仮定することの意義

「尿ペプチドの排泄量は、体タンパク質の分解の指標となる」と仮定すると、栄養学上の重要な概念のいくつかを量的に明確にすることができる。その一つは、諸種の生理的条件下で内因性窒素の排泄量はどのように変化するか、という問題である。もし、尿へ排泄されるペプチド量が、内因性の窒素の排泄量に比例するならば、いくつかの重要な結論を導くことができる。それを試みてみる。

まず、内因性の窒素排泄量と尿へのペプチド排泄量との間の関係を明らかにしておく必要が

ある。それには、動物を無タンパク質食で飼育して、約1週間後に尿へ排泄されるペプチド態のアミノ酸量と窒素量の比をとればよい。その結果、ペプチド態ロイシン+バリン1 μ molあたり約30 mgの窒素と計算された。

次に、従来から知られている事実には、「栄養価のよいタンパク質を低タンパク質レベルで与えると、あるレベルまでは尿へ排泄される窒素量が増加しない」という観察がある。すなわち、内因性窒素量を測定するのに、無タンパク質の食事を与えず、栄養価のよいタンパク質 (例えば全卵タンパク質など) を4%程度与えるという方法がある。もし、尿ペプチド排泄量が内因性の窒素排泄量を反映するのであれば、低タンパク質レベルの場合に、窒素排泄量と尿へ排泄されるペプチド量の比は変わらないはずである。このことは、まさに、予想通りであった (図3)。この観察も「尿ペプチドの排泄量は、内因性窒素排泄量に比例する」という仮説を支持している。

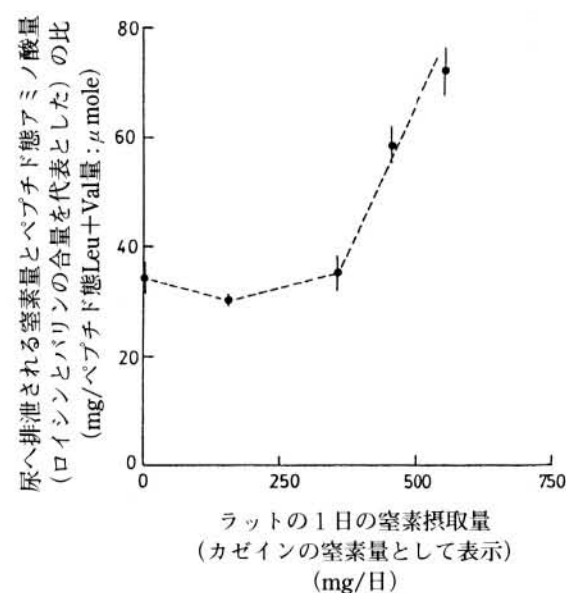


図3 タンパク質 (カゼイン) の摂取量が尿へ排泄される窒素量とペプチド態アミノ酸量の比に及ぼす影響 (Noguchi et al., 1991)

横軸にはカゼインの摂取量を窒素量で示し、縦軸には尿への窒素の排泄量とペプチド態アミノ酸の排泄量の比を示した。代表的なアミノ酸としてロイシンとバリンを選び、その合用量で示した。窒素摂取量が300mgほどまでは比はほとんど変化しないが、それを越えると大きくなることが明らかである。このことは、1日の窒素の摂取量が300mg (飼料のカゼイン含量として6%) までは、摂取したタンパク質が極めて効率よく利用されていることを示している。

表1 内因性窒素排泄量および食餌タンパク質の利用効率に及ぼすストレプトソトシン (STZ) 投与、およびデキサメタゾン投与の影響についての尿ペプチド排泄量からの推定 (Nam et., 1991)

	無タンパク質食		12%タンパク質食						最小 有意差
	対 照	糖尿病	対 照	糖尿病	副腎除去	副腎除去 +デキサ メタゾン	副腎除去 +溶媒 (コーン油)	副腎除去 偽手術	
食餌窒素(mg/日)	0	0	279	431	135	168	215	250	90.8
全尿中窒素(mg/日)	24.8	90.1	62.8	332.3	62.8	203.5	56.4	55.0	57.9
外因性窒素	0	0	6.1	143.2	16.2	8.1	3.2	2.5	25.9
特別窒素排泄	(0)	42.9	(0)	90.0					
内因性窒素	24.8	47.2	56.7	99.1	46.6	195.4	53.2	52.5	73.8
食餌窒素の効率(%)=(食餌窒素-外因性窒素)/食餌窒素			97.8	66.8	88.0	95.2	98.5	99.0	

STによって内因性窒素排泄量が47.2/24.8倍に増加すること、食餌タンパク質の利用効率が97.8から66.8に低下すること、デキサメタゾン投与は、食餌タンパク質の利用効率に大きな影響は与えないが、内因性窒素排泄量を、無タンパク質食時の195.4/24.8倍に、12%タンパク質食摂取時の195.4/56.7倍に増加させることがわかる。

次に、例えばストレプトゾトシン糖尿病の場合にどの程度内因性の窒素排泄量が増加するかを計算する(表1)(Nam et al., 1991)。単純に尿ペプチド排泄量に比例させればよい。この量は、従来の方法では求められない。これができると、ストレプトゾトシン糖尿病の場合に、食事のタンパク質の利用効率がどの程度低くなるかが計算できる。糖尿病動物にタンパク質を含む食事を与えて、窒素排泄量を測定し、それから内因性の窒素量を差し引いて、摂取窒素との比をとればよい。そうすると、糖尿病の場合のカゼインの利用効率は約67%となる。正常動物の利用効率98%と比べて非常に低くなることがわかる。この効率も、従来の方法では求めることができない。同様の計算がグルココルチコイド投与動物でも可能で、この場合、利用効率は正常の動物と有意差が認められない。体タンパク質を損耗するという点では同じである条件、すなわち糖尿病とグルココルチコイド投与でその機構はまったく異なり、糖尿病の場合はタンパク質合成にも大きな影響があって、食事のタンパク質を利用する効率が低下する。換言すれば、ストレプトゾトシン糖尿病ではタンパク質の生合成にも影響があるのに対して、グルココルチコイド投与では、タンパク質の生合成はとくに変化しないと解釈できる。これは、従来推定されていたことではあるが、量的な把握はできなかったことである。この結果は、尿のペプチドを定量すると、体のタンパク質代謝の状態を、従来の方法では知ることができない点についても推定することができることを示してい

る。

タンパク質の栄養価の判定と尿ペプチド排泄

「尿ペプチドの排泄量は、体タンパク質の分解の指標となる」と仮定すると、タンパク質の栄養価の判定をすることができる。体タンパク

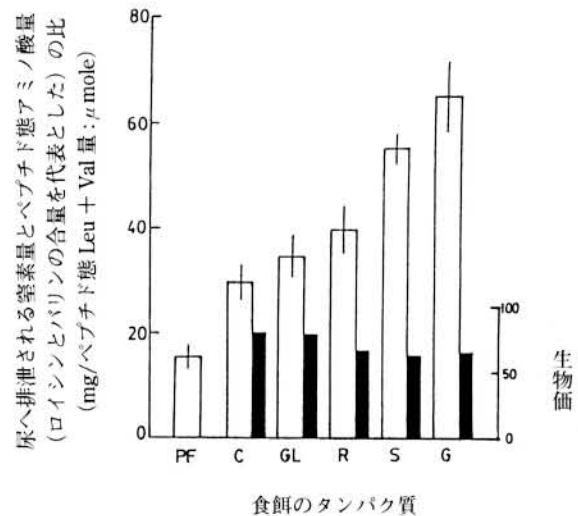


図5 栄養価の異なる各種のタンパク質を給与したラットの尿へ排泄される窒素量とペプチド態アミノ酸量の比 (Noguchi et al., 1991)

ラットに1週間無タンパク質食(PF)、カゼイン食(C)、コムギグルテン食(G)、コメタンパク質食(R)、ダイズタンパク質食(S)を給与し、尿へ排泄される窒素量とペプチド態アミノ酸量(ロイシンとバリンの含量: μ mol)の比を測定した(白い棒グラフ)。また、従来から用いられている栄養価の測定法である「生物価」(窒素出納法によって吸収された窒素量とからだに保持された窒素量の比を求める方法)を測定した(黒い棒グラフ)。新しい方法を用いる方が、従来法より鋭敏であることが明らかである。

質の分解量は体タンパク質の代謝サイズを表すものと考え、体タンパク質の一定の代謝サイズに対して一定の食事タンパク質が必要であると考え、栄養価のよいタンパク質を摂取した場合は、効率よく体タンパク質に同化されるので、尿へ排泄される窒素量とペプチド量の比は低くなるはずである。一方、栄養価の悪いタンパク質を摂取した場合は、この比は高くなることになる。図4は、この食事タンパク質の利用効率

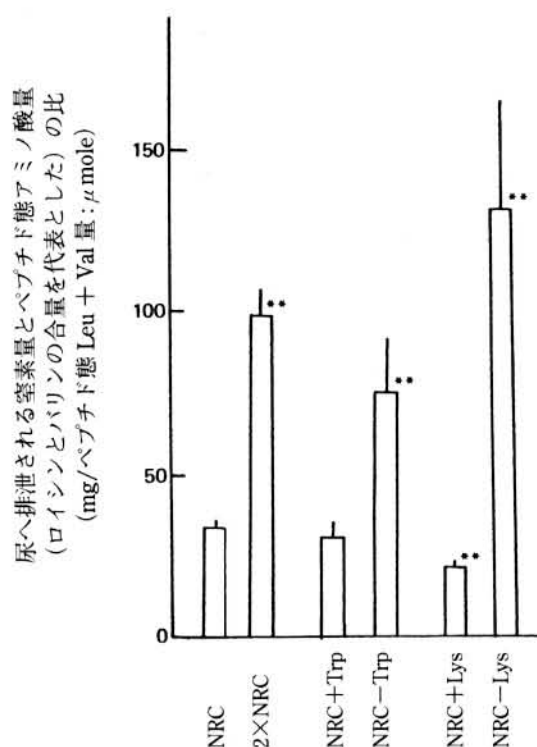


図5 飼料の氨基酸組成が尿へ排泄される窒素量とペプチド態アミノ酸量の比に及ぼす影響 (Noguchi et al., 1991)

アメリカのNational Research Council(NRC)が示したラットの氨基酸必要量を基準に、飼料の氨基酸組成が尿へ排泄されるペプチド態アミノ酸量に及ぼす影響を調べた。NRCと記したものは、NRCの必要量を含む飼料、NRC×2はすべての氨基酸を2倍入れたもの、NRC-LysはNRCの必要量からリシンを除いたもの、NRC-Trpはトリプトファンを除いたもの、NRC+Lysは、NRCの必要量レベルの2倍のリシンを入れたもの、NRC+TrpはNRCの必要量レベルの2倍のトリプトファンを入れたものを示す。窒素の全量は、必須氨基酸のほかはグルタミン酸を給与した。縦軸は、尿へ排泄される窒素量とペプチド態アミノ酸量の比を示した。縦軸は、食餌のタンパク質の利用効率を反映する。氨基酸欠乏食では利用効率が低下すること、NRCの2倍の氨基酸を摂取すると、利用効率が低下すること、トリプトファン量を増加させても利用効率は上昇しないが、リシン量を増加させると利用効率が上昇することを示している。

を従来法である「生物価」で測定した結果と、新しい指標として筆者が提案している尿への窒素排泄量と尿ペプチド排泄量の比を比較して示したものである。明らかに、この二つの指標は逆相関の関係にあること、新しい方法の方が敏感に差を読み取ることができることがわかる。

この方法を応用して、NRC(米国のNational Research Council)の示しているラットの氨基酸必要量の数値の妥当性を調べてみた。図5はその結果を示している。NRCレベルで氨基酸混合食を作成し、そこにさらに2倍量になるようにリシンを添加してみると、尿ペプチド排泄量と窒素排泄量の比が低下した。このことは、食事のタンパク質の利用効率をもっとも高い状態にするためには、NRCのレベルではリシンが不足していることを示唆している。一方、トリプトファンにはこの効果が認められなかったので、トリプトファンはNRCの数値で十分であると結論できる。尿ペプチド排泄量を測定することは、このような場合にも応用できる。

尿へ排泄されるペプチドは、コラーゲンに由来するのか

尿へ排泄されるペプチドがコラーゲンの分解のみに比例するとすると、上述の仮説すなわち「尿ペプチドの排泄量は、体タンパク質の分解の指標となる」という仮説はその意義が小さくなり、「尿ペプチドの排泄量は、コラーゲンの分解の指標となる」という仮説になってしまう。コラーゲンの分解も、多くの場合、からだ全体のタンパク質分解と連動して変化するので、通常は、この両者を区別することは容易ではない。しかも、上述のように、尿へ排泄されるペプチド量の大部分はコラーゲン由来と推定される。

既述のように、骨格筋が分解すると、尿へ3-メチルヒスチジンが排泄される。この排泄も尿へ排泄されるペプチド量と連動するはずである。尿へ排泄されるペプチドが、もしからだ全体のタンパク質分解量を反映すると考えると、尿へ排泄されるプロリンやヒドロキシプロリン量、もしくは3-メチルヒスチジン量とは別の指標でなければ意味がない。この点は、この研究の大きなポイントであったが、次のように解決された。

まず、3-メチルヒスチジンとは異なる指標で

ある, ということは, 体のサイズと排泄量の関係を調べて確認された. 3-メチルヒスチジンの排泄量はMBSに比例しないので, 内因性窒素排泄量とは比例しない. 尿ペプチドは比例する. また, 食事のタンパク質量を変化させて, 両方の排泄を追跡すると, 応答曲線は量的に異なっていることも確認された (Noguchi et al., 1988).

一方, ヒドロキシプロリンなどの排泄とは多くの場合連動しているが, 成長の過程で尿へ排泄されるペプチド態のロイシンとバリンの含量と, ヒドロキシプロリン (プロリンでも同じ) の排泄量を追跡してみた. 成長が進むと, ヒドロキシプロリン排泄量は急速に減少するのに対して, ペプチドの減少はそれに比べて緩慢で, まさに成長曲線を裏返したような曲線を描いた. 成長とともにコラーゲンの代謝は急速に遅くなるという従来の観察をよく反映した結果で, この結果も, 尿へのペプチド排泄は独特の指標であることを示唆している.

おわりに

「尿ペプチドの排泄量は体タンパク質の分解の指標となる」というのは, まだあくまで仮説で, これは証明することは難しいが, 筆者は他にない有用な指標であると考えている. 非侵襲法であるし, この方法でなければ知ることができない重要な情報が得られる. 欠点は, やや定量が煩雑であること, 比較的数値にバラツキがでることであろうか.

これから, この方法はどのように発展させられるのであろうか. 筆者は, 次の段階は, 組織の特定のタンパク質の分解によって生成するペプチドを同定し, その尿への排泄量を定量することによって, 他の方法では知ることができない特定したタンパク質の分解量を知る方法を開発することであると考えている. 例えば, 特定のがん細胞が, 特有のタンパク質を分解した場合に生成するといった特別なペプチドが同定できれば極めて有用であると考えている. この方向へ研究を発展させたい.

本学応用生物学部にはキャピラリー電気泳動装置やMALDI-TOF/MSなども整備されており, 研究の基盤は十分であると考えている.

引用文献

- 門脇基二、野口 忠 1984. 3-メチルヒスチジン法は有効か—骨格筋タンパク質分解速度測定法についての論争— 日本農芸化学会誌58: 419~424.
- Nam, T. J., Noguchi, T. and Naito, H. 1991. Changes in the urinary excretion of acid-soluble peptides in rats injected with streptozotocin or dexamethasone: a trial to estimate the changes in the rate of whole-body protein degradation in those rats. *Brit. J. Nutr.*, 65: 37~46.
- Noguchi, T., Nishizawa, N., Itoh, M., Yanagi, Y., Hareyama, S., Naito, H. 1981. Acid soluble peptides in rat skeletal muscle. *Agric. Biol. Chem.*, 45: 2265~2272.
- Noguchi, T., Okiyama, A., Naito, H., Kaneko, K. and Koide, G. 1982. Some nutritional and physiological factors affecting the urinary excretion of acid soluble peptides in rats and women. *Agric. Biol. Chem.*, 46: 2821~2828.
- Noguchi, T., Nam, T. J., Kato, H., Naito, H. 1988. Further studies on the nutritional factors affecting the urinary excretion of acid-soluble peptides in rats. *Brit. J. Nutr.*, 60: 321~337.
- Title** : Physiological and Nutritional Significance of Urinary Peptides.
- Author** : Tadashi Noguchi (Dept. of Biological Chemistry, College of Bioscience and Biotechnology)
- Keywords** : Diabetes, Glucocorticoid, Protein degradation, Protein nutrition, Urinary peptide