

加齢に伴う含硫アミノ酸代謝の変化

高橋 ルミ子, 出海 みどり

(平成5年9月30日受理)

The Change of Aging in the Sulfur Amino Acid Metabolism of Rats

Rumiko TAKAHASHI and Midori IZUMI

(Received September 30, 1993)

緒 言

ラット肝における cysteine の分解代謝の主経路は、この経路の調節酵素である cysteine dioxygenase (CDO) により、cysteine から cysteine sulfinat に酸化され hypotaurine から taurine に至る、システインジオキシゲナーゼ経路である。cysteine 代謝には他のアミノ酸にない2つの特徴がある。そのひとつは、cysteine の特異的な貯蔵型として glutathione をもっていることである¹⁾。glutathione は全身の組織に広く、高濃度に分布し、含硫アミノ酸の摂取量や、体内の要求性によって、速やかに細胞内の濃度が変化し、血液や細胞の methionine や cysteine の恒常性が保たれている。したがって含硫アミノ酸プールの大きさは組織中の glutathione 濃度で推定できる。もうひとつの特徴としては、体内でアミノ酸が分解すると尿素が生成され尿に排泄されるが、cysteine では、尿素ではなく、taurine が排泄される。つまり含硫アミノ酸の代謝量は、尿中 taurine 排泄量で推定できることになる。

Yamaguchi ら²⁾や Kohashi ら³⁾は、肝 CDO 活性が cysteine や methionine により誘導されること、および飼料中のカゼイン含量によって誘導を受け、肝における taurine 生合成も増加することを認めている。また Kohashi ら³⁾や Stipanuk ら^{4,5)}は、飼料中の含硫アミノ酸含量を増加させると、肝 CDO 活性が上昇することを報告している。これらのことから、飼料タンパク中の含硫アミノ酸含量が、含硫アミノ酸の肝臓での代謝量を調節することが推定される。一方、Hosokawa ら⁶⁾が、4週令の成長期のラットにグルテン食を与えて飼育栄養科、栄養学第4研究室

したときの結果を参照すると、尿中 taurine 排泄量は非常に多量であり肝 CDO 活性も上昇していた。またこのグルテン食に第一制限アミノ酸である lysine を添加すると、尿中 taurine 排泄量は減少し、肝 CDO 活性も同様に低下した。よって尿中 taurine 排泄量だけみても、単に含硫アミノ酸の摂取量だけでなく、摂取タンパク質の他のアミノ酸の組成によっても影響を受けることを報告している。本研究では、成長期を過ぎた7ヶ月齢の加齢ラットにおいて、カゼイン、グルテン食を与え、タンパク質の種類および量による含硫アミノ酸代謝の変動を尿中 taurine 排泄量より求め、検討した。

実験方法

1. 実験動物および飼育条件

実験動物としては、生後7ヶ月(210日齢・体重570~660g)の Sprague-Dawley 系の雄ラット36匹を日本クレア株式会社より購入し、3日間固形飼料(CE-7・日本クレア株式会社)で慣らし飼育を行なった後、実験食に切り換え14日間飼育した。各実験食の動物数は6匹とした。飼料は飲料水とともに自由摂取とし、飼育場所は室内温度23°C±2°C、湿度55%±5%の飼育室で個別に飼育した。

2. 飼料組成

Table 1 に示した組成の実験飼料を自由摂取させた。タンパク質として8%および16%のカゼインを含んだカゼイン食、8%および16%のグルテンを含んだグルテン食とし、これらタンパク質のエネルギーの差は corn starch で補った。またグルテン食には0.2%の L-threonine を添加した。これら実験飼料で14日間飼育し、実験最終日の前日より24時間尿を採取して、尿中の taurine

Table 1 Composition of experimental diets (g/100g)

Ingredients	Casein 8% diet	Casein16% diet	Gluten 8% diet*	Gluten16% diet*
Casein	9.44	18.88		
Gluten			5.655	11.31
α -Corn starch	44.56	35.12	48.345	42.69
Sucrose			34.0	
Soy bean oil			5.0	
Salt mixture**			4.0	
Cellulose powder			2.0	
Vitamin mixture**			0.85	
Choline HCl			0.15	

*The gluten diet was fortified with 0.2% L-threonine.

**AIN-76 mineral and vitamin mixture, J. Nutr., 107:1340 (1977)

排泄量を測定した。

3. 測定方法

taurine の定量は、強酸性イオン交換樹脂カラム（内径 6 mm×100mmL, AApak Li 型日本分光工業株式会社）を装着した、高速液体クロマトグラフィー装置（UP-200・TWINCLE・FP-110・SP-042-2, 日本分光工業株式会社, 試料注入部・分解, 反応部・検出部で構成されている。）を、インテグレーターにはクロマトコーダー-11（システムインスツルメンツ株式会社）を使用した。移動相として 0.15N Li⁺ 緩衝液（pH2.97）、反応液

として OPA 溶液を使用し、カラム温度 40°C で分析を行った。taurine のピークの同定は、taurine 標準品（東京化成工業株式会社）との比較により行なった。

結果及び考察

Table 2 は飼料タンパク質としてカゼイン、グルテンを 8%、16% 含有する実験飼料を与えた生後 7 ヶ月ラットを 14 日間飼育し、実験最終日の前日より 24 時間尿を採取して、尿中の taurine 排泄量を示したものである。カゼインでは 8% から 16% にタンパク含量を上げると

Table 2 Urinary taurine excretion from cysteine of rats fed casein or gluten diets*

Measure and diet	Protein concentration		
	8%	16%	24%
Aging rats			
Urinary taurine, nmol/(d·g body weight)			
Casein	57.2 ± 17.2	121.7 ± 67.4	
Gluten	128.5 ± 58.3	158.0 ± 87.2	
Growing rats** ⁶¹			
Urinary taurine, nmol/(d·g body weight)			
Casein	18.2 ± 1.8	15.8 ± 3.9	515.0 ± 246.7
Gluten	394.8 ± 48.2	1072.4 ± 247.8	1718.6 ± 177.4

*Results are means ± SD of six rats.

**Four weeks old rats were used. Rats were fed an 18% casein diet for 4d and then experimental diets for 3wk ad libitum.

加齢に伴う含硫アミノ酸代謝の変化

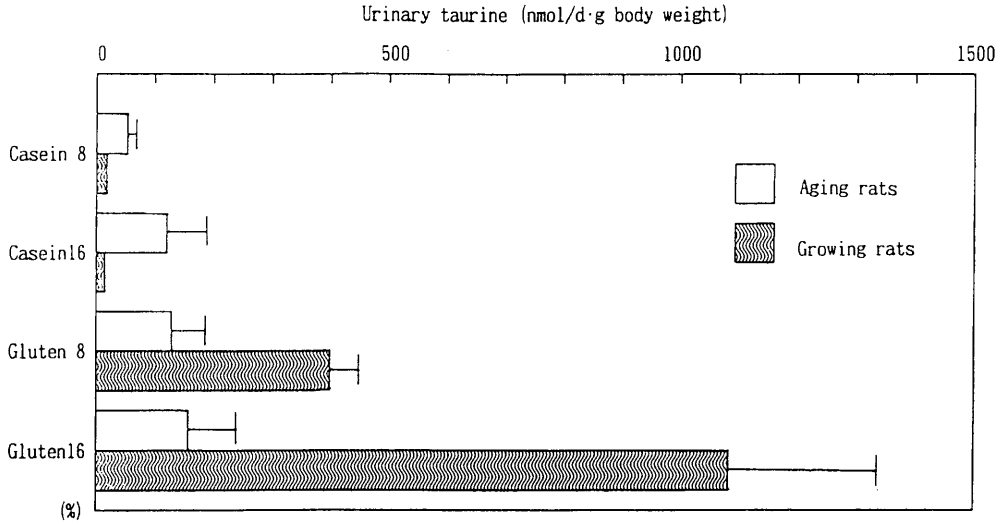


Fig 1 Urinary taurine excretion of rats fed casein or gluten diets.

Result are means \pm SD of rats.

taurine 排泄量もわずかに増加した。成長期ラットでは、Table 3 より、カゼインの第一制限アミノ酸は含硫アミノ酸である。

含硫アミノ酸は taurine の生成材料であるから、カゼイン食で含硫アミノ酸の供給が不足するときは、肝臓における taurine の生合成を抑制し、glutathione として貯留する。そして尿中への taurine 排泄を減少させ欠乏を代償しようとする^{1), 2), 8)} ため 8%カゼイン食での尿中 taurine 排泄量は低くなる。そしてタウパク含量を 24%に上げると含硫アミノ酸の taurine への代謝

が促進され、尿中排泄量も増加する。しかし、加齢ラットにおいては、尿中 taurine 排泄量が成長期ラットほど極端に少なくなっていない。したがって加齢ラットの場合、成長期ほど体タンパク合成が必要でないため、含硫アミノ酸の要求量のレベルが全体的に低くなり、余剰の含硫アミノ酸が taurine に変換され、尿に排泄されたものと推定される。一方、グルテンでは第一制限アミノ酸である lysine が NRC⁷⁾ の成長期ラットでの必要量の 19%しか含まれていない。したがって Hosokawa⁸⁾ の報告にもあるように、成長期のラットではグルテ

Table 3 Concentration of limiting amino acids of dietary proteins (g/100g protein)

Amino acid	Casein	Gluten	NRC*
Methionine	2.8	1.6	
Cysteine	0.4	2.1	
Sum	3.2	3.7	5.0
Lysine	8.3	1.4	5.8
Threonine	4.8	2.5	4.2
Arginine	3.8	3.0	5.0

*National Research Council requirement for adequate growth of growing rats (7).

Table 4 Body weight gain of rats fed casein or gluten diets*

Diet and measure	Protein concentration		
	8%	16%	24%
Aging rats			
Casein			
Body weight.g			
0-d	574.9 ± 14.25	654.1 ± 17.19	
14-d	569.0 ± 12.87	663.2 ± 33.15	
Body weight gain.g/14d			
Gluten			
Body weight.g			
0-d	657.4 ± 12.70	597.9 ± 6.29	
14-d	672.3 ± 10.39	603.6 ± 30.81	
Body weight gain.g/14d			
Growing rats**⁶⁾			
Casein			
Body weight.g			
0-d	70.7 ± 2.0	68.3 ± 1.1	68.8 ± 2.6
21-d	105.4 ± 9.8	189.8 ± 15.4	179.0 ± 16.1
Body weight gain.g/21d			
Gluten			
Body weight.g			
0-d	68.9 ± 2.2	67.1 ± 2.2	69.6 ± 2.9
21-d	73.3 ± 3.3	93.6 ± 6.6	120.3 ± 6.3
Body weight gain.g/21d			

*Results are means ± SD of six rats.

**Four weeks old rats were used. Rat were fed an 18%Casein diet for 4d and then experimental diets for 3wk ad libitum.

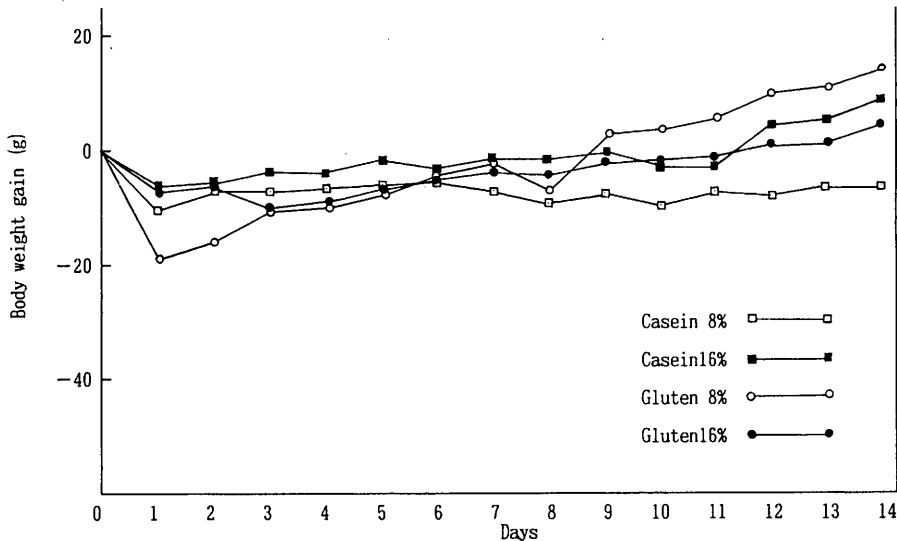


Fig 2 Body weight gain or aging rats fed an experimental diets for 14d ab libitum.

ン食を与えた場合成長の度合が悪く、含硫アミノ酸のタンパク合成などへの利用性が低下し、lysineの供給が著しく制限されているため、利用されない含硫アミノ酸によって含硫アミノ酸プールが増大し、肝CDO活性が上昇した。その結果cysteineのtaurineへの代謝を促進し、尿中taurineは多量に排泄されることになるが、Table 2より加齢ラットの場合、8%、16%グルテン食を与えても尿中taurine排泄量は成長期のラットのように大量の排泄はみられなかった。またTable 4, Fig 2に示すように体重の増減でも大きな変化は認められなかった。

つまり、Table 3に示したようにlysineの制限のレベルが低いので、加齢ラットにおいてもlysineの制限をいくらかは受けているが、発育、成長のための体タンパク合成が成長期のラットほど活発ではないので、taurineは尿中にあまり排泄されてこないと考えられる。以上のことから、加齢のラットにおいては、成長期ラットのように成長と発育を目的として体タンパク合成が活発に行なわれるのとは異なり、体タンパク維持のみであるため、含硫アミノ酸の要求性が小さくなることが考えられる。一方、低タンパク栄養でも顕著な尿中taurine排泄の上昇がみられないということは、成長期ラットとではlysineの代謝が何か異なっているのではないかと、また今回実験に用いた生後7ヶ月ラットでは、成長期に比ベタンパク必要量のレベルが低くなっていて、代謝に及ぼす加齢の影響を探るポイントとなると推定される。

本研究では、含硫アミノ酸の分解活性を反映する尿中taurine排泄量の指標で検索したが、今回実験動物の加齢の条件を7ヶ月齢に決定したのは、そろそろ発育、成長の終る人間で言えば20才前後に相当するものとした。4週齢頃の成長期とは代謝の状態が大きく変わっていることから、同時に肝cysteine dioxygenase (CDO)活性およびglutathioneの分析も行なう必要を感じた。

要 約

生後7ヶ月のラットにタンパク質としてカゼイン、グルテンを含んだ飼料を与えて含硫アミノ酸代謝に対する影響を検討した。

① 尿中のtaurine排泄量は8%のカゼイン食飼育でも57.2nmol/d・g body weightであり、成長期ラット(18.2nmol/d・g body weight)ほど極端な低下はみられないことから、加齢ラットでは成長期より含硫アミノ酸の要求レベルが低いところにあることが示唆された。

② 尿中のtaurine排泄量は8%、16%グルテン食飼育で128.5nmol/d・g body weight, 158.0nmol/d・g body weightであり、成長期ラットのように多量の排泄はみられないことから、7ヶ月齢の加齢段階ではタンパク必要量のレベルが低くなりつつあることが示唆された。

謝 辞

本研究を行なうにあたり、ご指導いただきました山口賢次教授に心より深く感謝いたします。また実験に御協力いただきました、平成4年度本学栄養学科栄養学専攻栄養コース卒業の石川容子さん、本間美砂子さん、松野貴子さんに御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 細川 優, 新関嗣郎, 東條仁美, 佐藤郁雄, 山口賢次: 含硫アミノ酸, 7: 273-278 (1984)
- 2) Yamaguchi, K., Sakakibara, S., Koga, K. & Ueda, I.: Biochim. Biophys. Acta, 237: 502-512 (1971)
- 3) Kohashi, N., Yamaguchi, K., Hosokawa, Y., Kori, Y., Fujii, O. & Ueda, I.: J. Biochem., 84: 159-168 (1978)
- 4) Stipanuk, M.H.: J. Nutr., 109: 2126-2139 (1979)
- 5) Daniels, K.M. & Stipanuk, M.H.: J. Nutr., 112: 2130-2141 (1982)
- 6) Hosokawa, Y., Niizeki, S., Tojo, H., Sato, I. & Yamaguchi, K.: J. Nutr., 456-461 (1988)
- 7) National Research Council: Nutrient requirement of domestic animals. In: Nutrient Requirement of Laboratory Animals, No.10, National Academy of Sciences, Washington, DC.
- 8) 山口賢次: 化学と生物, 23: 299-307 (1984)