

加齢に伴う含硫アミノ酸代謝の変化 (その2)

高橋ルミ子, 出海みどり

(平成6年9月30日受理)

The Change of Aging in the Sulfur Amino Acid Metabolism of Rats. (Part 2)

Rumiko TAKAHASHI and Midori IZUMI

(Received September 30, 1994)

緒言

システインの分解代謝の主経路は、ラット肝においてはこの経路の調節酵素であるシステインジオキシゲナーゼ(CDO)により、システインからシステインスルフィン酸に酸化され、それが、脱炭酸されヒポタウリンとなり、ヒポタウリンからタウリンに至るシステインジオキシゲナーゼ経路である¹⁾。Yamaguchiら²⁾やKohashiら³⁾は、肝システインジオキシゲナーゼ活性がシステインやメチオニン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ることを認めている。また、Hosokawaら⁴⁾は成長期のラットをグルテン食で飼育すると、肝CDO活性が上昇するとともに多量のタウリンが尿中に排泄されるが、グルテン食に第一制限アミノ酸であるリジンを添加すると、尿中タウリン排泄量および肝CDO活性が低下することを認め、含硫アミノ酸代謝量は、飼料タンパク中の含硫アミノ酸濃度によって調節されるだけではなく、飼料タンパク中の制限アミノ酸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、前報⁵⁾に引き続き、7ヶ月齢の加齢ラットを種類および含量の異なるタンパク質飼料で飼育し、尿中タウリン排泄量を求めることにより、加齢ラットの含硫アミノ酸代謝の変動について検討したので報告する。

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ヶ月齢(210日齢・体重535~835g)のSprague-Dawley系の雄ラット66匹を日本クレア株式会社より購入し、Table 1に示した(カゼイ栄養科 栄養学第四研究室

Table 1 Composition of basal diets*

(18% casein diet)		(g/100g)	
Casein 22.5	α -Corn starch 34.3	Sucrose 30.0	Soybean oil 5.0
Salt mixture** 5.0	Cellulose powder 2.0	Vitamin mixture** 1.0	Choline HCl 0.2

* Basal diet was fortified with 0.3% DL-methionine.

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

ン18%)規定食飼料により1週間予備飼育を行なった後、次項に示す実験群に分けた。各群は6匹ずつとし、各群内の体重がほぼ等しくなるように考慮し、2週間飼育実験を行なった。飼料は水とともに自由摂取とし、飼育場所は室内温度23±2℃、湿度55±5%の飼育室で個別に飼育した。

2. 試料採取

飼料組成はTable 2に示したように、今回はタンパク質を含まない無タンパク食、タンパク質として、カゼインを4、5、6、20、24%含むカゼイン食、グルテンを4、5、6、20、24%含むグルテン食とし、これらタンパク質のエネルギーの差はコーンスターチで補った。またグルテン食には0.2%のL-スレオニンを追加した。これら実験飼料で2週間飼育し、実験最終日の前日より24時間尿を採取して、尿中のタウリン排泄量を測定した。

3. 測定方法

前報⁵⁾に従い、タウリンの定量は、高速液体クロマトグラフィー装置(日本分光工業株式会社製)を、インテグレーターにはクロマトコーダー11(システムインストルメンツ株式会社製)を使用した。

Table 2 Composition of experimental diets (g/100g) .

Ingredients	Diet*					
	0%	4%	5%	6%	20%	24%
Casein or Gluten	—	5.0	6.25	7.5	25.0	30.0
α -Corn starch	56.8	51.8	50.55	49.3	31.8	26.8
Sucrose				30.0		
Soybean oil				5.0		
Salt mixture**				5.0		
Cellulose powder				2.0		
Vitamin mixture**				1.0		
Choline HCl				0.2		

* 4, 5, 6, 20, 24% : 4, 5, 6, 20, 24% casein diets or gluten diets.

0% : Protein free diets. The gluten diets was fortified with 0.2% L-threonine.

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

結果および考察

各群の飼料摂取量, 実験開始時の体重, 実験終了時の体重および体重の変化量を前報⁹⁾と合わせてTable 3に示した. 各実験飼料を与えた2週間の各群の総摂取量は, カゼイン食群で8%, グルテン食群で6%を境界に低タンパク食群で増加傾向にあり, それ以上のタンパク含量

の実験飼料群では徐々に摂取量が減少した. 体重の変化量においては無タンパク食群では大幅な減少を示したが, それ以外のカゼイン食群, グルテン食群についてはわずかの变化であった. 過去の多くの研究結果により, 一般的に飼料中のタンパクレベルは最大成長が得られるレベルを若干上回る程度が適当とされ, カゼインでは18~25%とされている(メチオニンを添加した場合は15~20%).

Table 3 Initial body weight, final body weight, body weight gain and food intake of rats fed casein and gluten diets*.

Diet	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g)	Food intake (g)
Casein				
4%	689.1±50.9	674.1±45.0	-15.0±25.4	392.8±79.7
5%	672.0±8.2	681.4±19.0	9.5±15.3	442.4±38.8
6%	642.1±60.0	674.9±62.6	32.9±19.3	421.2±49.9
8%	574.9±14.3	569.1±12.9	-5.8±4.2	422.8±22.4
16%	654.1±17.2	663.2±33.2	9.1±23.0	357.3±67.0
20%	573.6±17.0	604.9±24.0	31.3±15.5	359.7±68.2
24%	834.9±43.7	833.1±17.8	-1.8±44.8	345.2±57.4
Gluten				
4%	682.0±13.6	693.4±29.1	11.4±24.9	430.4±45.0
5%	641.9±11.9	666.6±25.0	24.7±16.7	420.0±54.0
6%	552.0±21.5	576.4±27.3	24.5±10.7	445.8±47.2
8%	657.4±12.7	672.3±18.0	14.9±15.3	364.6±22.2
16%	597.9±6.3	601.2±30.8	3.3±29.2	390.5±62.6
20%	555.6±13.4	590.6±29.2	35.1±20.8	336.7±58.1
24%	852.3±28.2	839.2±38.6	-12.9±24.3	313.6±33.3
Protein free**	609.7±4.7	503.0±16.8	-106.7±14.8	350.0±64.8

* Rats were fed an 18% casein diet for 1 week and then experimental diets for 2 weeks. Values are means±SD (n=6)

** Rats were fed an protein free diet for 3 weeks.

加齢に伴う含硫アミノ酸代謝の変化(その2)

また低タンパクレベルとしてカゼインは8~9%, 体タンパク維持レベルは5~6%と設定されている⁹⁾。本実験においても、カゼイン食群で体タンパク維持レベル以下の4%で実験開始時の体重の2%減少を見たが、5%以上ではほぼ現状維持であり、前記を裏づけた。またグルテン食群では4~6%まで微増が見られた。

次に尿中タウリン排泄量の結果をFig 1に示す。カゼイン食群で尿中タウリン排泄量は4, 5, 6%では、 34.8 ± 14.7 , 39.3 ± 15.9 , $39.0 \pm 22.5 \mu\text{mol/day}$ であり、ほとんど前報⁹⁾の8%の $32.5 \pm 9.5 \mu\text{mol/day}$ と変わりがなかった。16%では $82.1 \pm 50.6 \mu\text{mol/day}$, 20%で $147.0 \pm 46.3 \mu\text{mol/day}$, 24%で $177.3 \pm 29.2 \mu\text{mol/day}$ と徐々に増加している。また同様の傾向がグルテン食群においてもみられ、グルテン食群で尿中タウリン排泄量は4, 5, 6%で 43.4 ± 11.6 , 47.9 ± 25.5 , $39.2 \pm 12.4 \mu\text{mol/day}$ とほとんど差がなかった。また8%で $87.1 \pm 41.1 \mu\text{mol/day}$, 16%で $96.3 \pm 56.5 \mu\text{mol/day}$, 20%で $215.0 \pm 41.3 \mu\text{mol/day}$, 24%で $267.8 \pm 75.6 \mu\text{mol/day}$ と徐々に増加した。また無タンパク食群にお

ける排泄量は $41.8 \pm 16.4 \mu\text{mol/day}$ であった。

ラットの成長は食餌タンパク質の各構成アミノ酸含量とラットの各アミノ酸必要量によって影響される。Table 4で示すように、カゼインは含硫アミノ酸が、グルテンではリジンが第一制限アミノ酸である。Hosokawaら⁹⁾の報告によると、4週齢の成長期のラットにカゼイ

Table 4 Concentration of limiting amino acid 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.

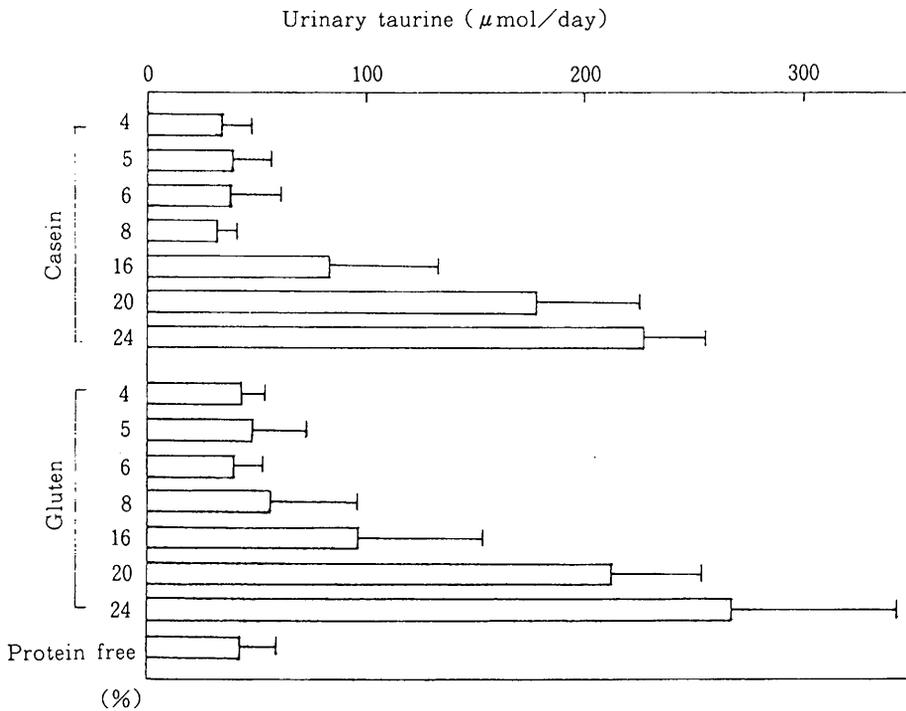


Fig 1 Urinary taurine excretion of rats fed experimental diets. Values are means ± SD (n=6).

ン食を与えることによって、含硫アミノ酸の供給が不足するときは、肝臓におけるタウリン合成を抑制し、グルタチオンとして貯留することによって尿中へのタウリン排泄を減少させ、欠乏を代償しようとするため、低タンパクレベル(8%)のカゼイン食では尿中タウリン排泄量は少なく、タンパク含量が充足される(24%)と、含硫アミノ酸のタウリンへの代謝が促進され、尿中排泄量も増加する。またグルテン食ではリジンの供給が著しく制限されるため、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活性が上昇する結果、システインのタウリンへの代謝を促進し、尿中にタウリンが多量に排泄されることを認めている。これらの事柄を踏まえ、本研究では成長期のラットと同様の機構が、加齢期のラットにおいても当てはまるのかという仮説をもとに実験を行ない、含硫アミノ酸代謝による尿中タウリン排泄のパターン(Fig 1)を得た。これによると、加齢ラットの体タンパク維持の為に必要なカゼイン含量の境界は8~16%の間にあるという推測が成り立つが、8%から4%にカゼイン含量を低下させても、尿中タウリン排泄量にほとんど差がないこと、また、無タンパク食であっても8%カゼイン食と同レベルの排泄があることから、次の2通りの考え方ができる。1つには、加齢ラットでは成長期のラットに比べ、含硫アミノ酸の保持能力が高く、低タンパク食でも急激な影響を受けないのではないか、もう1つは、低タンパク食により含硫アミノ酸欠乏のダメージを受けてはいるが、タウリンが各組織に広く存在することから⁷⁾、保持している筋肉や臓器中よりタウリンの流出が高まり、尿中へのタウリンの排泄を見たのではないかということである。次にリジンを第一制限とするグルテンをタンパク源として与えた場合も尿中タウリン排泄がカゼイン食群と同様のパターンを示している。Yamashitaら⁸⁾により、成体期のラットにリジン欠乏の食餌を与えても、組織中のリジン含量は大きく低下せず、リジンが欠乏しても体内のリジン含量は保持されやすいことが報告されている。よって、加齢期のラットにおいても、リジンがある程度組織中に保持されているため、リジンの制限を受けずに含硫アミノ酸の体タンパク維持への利用が進められているためグルテン食においても、利用されない含硫アミノ酸の代謝による尿中タウリンの多量の排泄は認められず、カゼイン食と同様のパターンを示したものと考えられる。但し、グルテン含量が20、24%に増加すると、含まれる含硫アミノ酸

も増加し、保持しているリジンだけでは含硫アミノ酸の体タンパク合成などへの利用率が低下し、尿中タウリン排泄量の増加を見たものと推定される。

以上のことから、加齢ラットの含硫アミノ酸代謝は成長期のそれと比べて、異なる部分があると思われる知見が得られた。また、含硫アミノ酸の分解活性を反映する指標として尿中タウリン排泄量を検索したが、加齢ラットでは、体内保持能力が高いと仮定すると、必ずしも尿中タウリン排泄量が含硫アミノ酸代謝を反映しないのではないかという疑問が生じた。

本実験では、食餌タンパク質に影響をうけて行なわれる外因性の部分の代謝を確認するにとどまったので、今後は食餌タンパクレベルと無関係に一定の割合で行なわれる内因性の部分の分解、代謝について、明らかにする必要がある。

要 約

前報⁹⁾では、7ヶ月齢の加齢ラットに、タンパク質として8、16%のカゼインを含む飼料、8、16%のグルテンを含む飼料を与え、尿中タウリン排泄量を測定し、含硫アミノ酸代謝の変動を見た。今回は、前報の結果を踏まえて、タンパク質としてカゼイン4、5、6、20、24%、グルテン4、5、6、20、24%を含む飼料および無タンパク質飼料を2週間与え、尿中タウリン排泄量を測定し、飼料中のタンパク質含量を段階的に変化させた時の、加齢ラットの含硫アミノ酸代謝について検討した。

- ① 各実験飼料を与えられた加齢ラットにおける、含硫アミノ酸代謝による尿中タウリン排泄のパターンを得た。
- ② 8%以下のカゼイン食飼育では、尿中タウリン排泄量にほとんど差が見られず、無タンパク食での尿中タウリン排泄量が8%カゼイン食と同レベルを示すことから、加齢ラットは含硫アミノ酸の体内保持能力が高い可能性が裏づけられた。
- ③ グルテン食飼育においても、カゼイン食と同様の尿中タウリン排泄パターンを示し、加齢ラットの体内のリジン保持能力が高いことを示唆した。

謝 辞

終わりに、本研究を行なうにあたり、ご指導いただきました故山口賢次先生に深く感謝いたします。また実験にご協力いただきました、平成5年度本学栄養学科栄養学専攻栄養コース卒業の曾根美幸さん、同じく理科コー

加齢に伴う含硫アミノ酸代謝の変化(その2)

ス卒業の吉川修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(1984)
- 2) Yamaguchi, K., Sakakibara, S., Koga, K. & Ueda, I.: Biochim. Biophys. Acta, 237: 502(1971)
- 3) Kohashi, N., Yamaguchi, K., Hosokawa, Y., Kori, Y., Fujii, O. & Ueda, I.: J. Biochem., 84: 159(1978)
- 4) Hosokawa, Y., Niizeki, S., Tojo, H., Sato, I. & Yamaguchi, K.: J. Nutr., 456(1988)
- 5) 高橋ルミ子, 出海みどり: 東京家政大学研究紀要, 34: 49(1993)
- 6) 細谷憲政, 印南 敏, 五島孜郎: 小動物を用いる栄養実験, P.136(1980)
- 7) Awapara, J., A. J. Landua & R, Fuerst, : Biochim. Biophys. Acta. 5: 457(1950)
- 8) Yamashita, K. & Ashida, J.: J. Nutr., 99: 267(1969)