

タンパク質制限下での成長期ラットの含硫アミノ酸代謝の変化 〔その1〕

出海みどり, 高橋ルミ子

(平成7年9月30日受理)

The Change of Sulfur Amino Acid Metabolism of Growing Rats under the Protein Restricted Condition.

〔Part I〕

Midori IZUMI and Rumiko TAKAHASHI

(Received September 30, 1995)

緒 言

含硫アミノ酸のラット肝での代謝について, 成長期のものは報告されている¹⁾ が老齢期についてはいまだ確立を見ていない。老齢期は実験期の決め方が難しく, 加齢をおって順次老齢期を探っているところであるが, 動物の年齢を人間にあてはめた初老期(45歳頃からと言われている)から, 老年期に向かっていくところを確認するのは困難を伴う。ラットにおける含硫アミノ酸の代謝はシステインが肝CDO(システインジオキシナーゼ)による調節系を経て, タウリンとして尿中に排泄される上において, 含硫アミノ酸の生体内への取り込み量と生体内保有量(各組織内のグルタチオン蓄積量)が互いに影響しあうこと, 飼料中の含硫アミノ酸と他のアミノ酸との比率にも影響を受けることがわかってきている。これまでに低エネルギー食や絶食による場合の身体への影響については数多く報告されている^{2)~4)}。われわれは, 4週齢の成長期ラットをタンパク質をまったく含まない無タンパク食とタンパク質としてカゼインを18%含む規定食を与えて一定の日数飼育し, その後無タンパク食に, 直接含硫アミノ酸, タウリンを添加することによって, 身体的変化および尿中タウリン排泄量についての検討を行っている。今回はその一部を報告する。

実験方法

1. 実験動物

生後4週齢(28日齢, 体重55~70g)のWister系の

雄ラット15匹を日本クレア株式会社より購入した。規定食飼料(タンパク質としてカゼイン18%)により4日間予備飼育を行った。実験開始前に, 15匹の平均体重を求め, 偏差の大きい順に3匹を除き, 残った12匹を実験に用いた。ほぼ体重が等しくなるように考慮し, 6匹ずつ2群に分けた。飼料は水とともに自由摂取とし, 飼育場所は室内温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$ の飼育室で個別ケージで飼育した。

2. 飼料調整および飼育方法

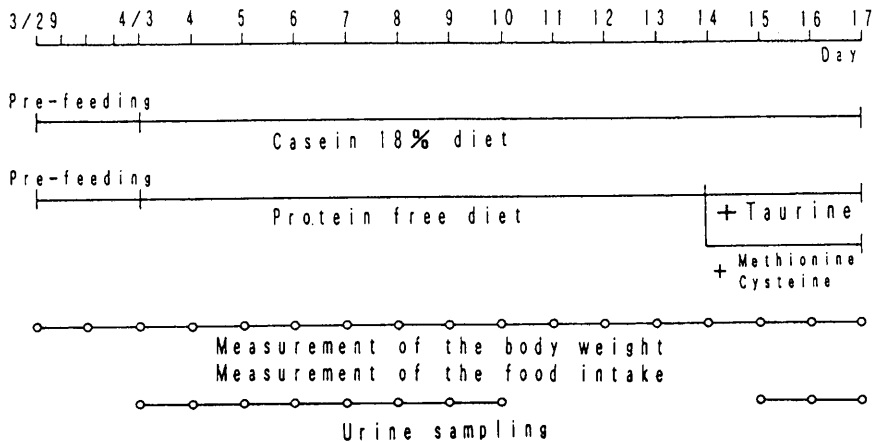
Table 1に示すように, タンパク質を含まない無タンパク食と, 対照にはタンパク質としてカゼインを18%含む規定食とし, これらタンパク質のエネルギーの差はコーンスターチで補った。実験はTable 2に示すように2群のうち, 1群を規定食群とし規定食を与えて14日間飼育した。もう一方の群を無タンパク食群とし, 無タンパク食を与えて14日間飼育した。なお, 無タンパク食群には

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

Composition	Diet	
	Casein 18% (Basal diet)	Protein free
Casein	22.5	0
α -Corn starch	34.3	56.8
Sucrose	30.0	30.0
Soybean oil		5.0
Salt mixture*		5.0
Cellulose powder		2.0
Vitamin mixture*		1.0
Choline HCl		0.2

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

Table 2 Experiment schedule



実験終了3日前より、6匹中3匹に、タウリン(0.576 g/100 g タンパク質)を添加した飼料を、残りの3匹にメチオニン(0.288 g/100 g タンパク質)とシステイン(2.016 g/100 g タンパク質)を添加した飼料を与えた。飼育期間中は毎日、体重と飼料摂取量を測定した。尿試料の採取は実験開始日より7日目まで毎日、また12日目より14日目の24時間尿を採取し、尿中のタウリン排泄量測定の試料とした。尿中のタウリン、メチオニン、システイン添加量の見積りは、Table 3をもとに次のように行った。実験開始11日目において、規定食群の試料摂取量の平均が約20 gであるのに対して、無タンパク食群は約5 gの摂取量であった。この無タンパク食群が規定食群と同量の含硫アミノ酸を摂取するには、摂取飼料中に約4倍量の含有量を要する。またタウリン添加量は上記で求めた含硫アミノ酸量と同量になるように算出した。

Table 3 Concentration of limiting amino acid of dietary proteins.

	(g/100 g protein)	
Amino acid	Casein	NRC*
Methionine	2.8	
Cysteine	0.4	
Sum	3.2	5.0

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

3. 測定量

タウリンの定量は、強酸性イオン交換樹脂カラム(内

径6 mm×100 mm L, A Apak 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)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0.15 N 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℃で分析を行った。タウリンのピークの同定は、タウリン標準品(東京化成工業)との比較により行った。

結果および考察

筆者らの報告^{5), 6)}で加齢期のラットにおいて、カゼインタンパク含有量4, 5, 6%の飼料投与群のタウリン尿中排泄量はほとんど差が見られず、更に無タンパク食群の値とほぼ同程度のタウリン排泄量を示したことから含硫アミノ酸の含有量の下限はそのあたりにあると見て、含硫アミノ酸不足を支える体内保有量の影響を把握する必要性が生じた。今回は無タンパク飼料摂取中の含硫アミノ酸代謝の変動を成長期のものから探索を行った。Fig 1にそれぞれの実験食を与えたラットの体重変動を示した。対照の規定食群が実験開始時、83.97 g±3.28 gであった体重が127.66 g±5.16 gと順調に成長しているのに比べ、無タンパク食群の実験開始時89.78 g±2.04 gであった体重が実験食に切り換え後直ちに減り始め7日目には、71.6 g±0.94 gと20%も減少を見た。それからはゆるやかな減少となっていく。次にFig 2に摂食量の変動を示した。摂食量は実験開始時に無タンパク食群で12.10 g±0.52 g/day、規定食群で10.75 g±0.98

タンパク質制限下での成長期ラットの含硫アミノ酸代謝の変化

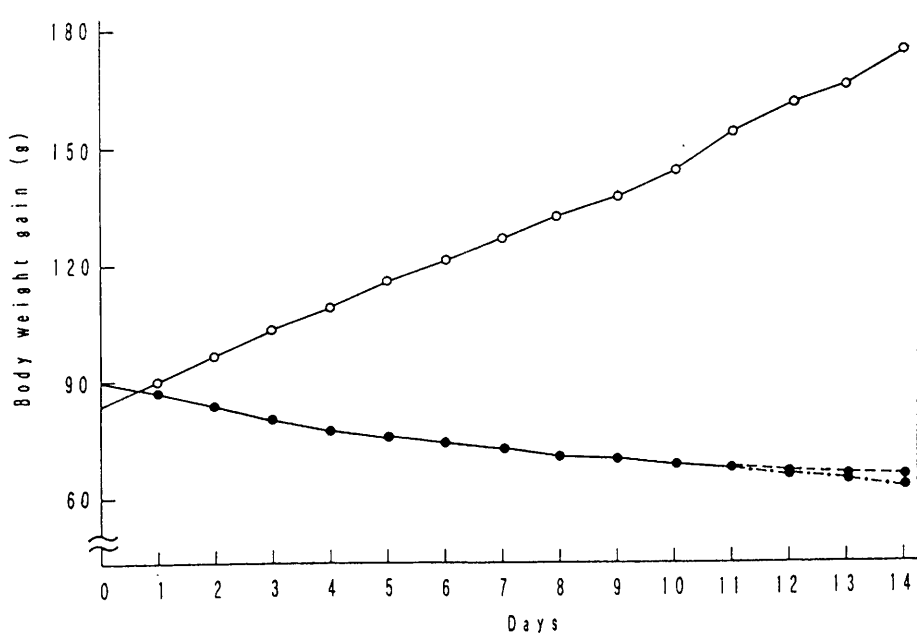


Fig 1 Body weight gain of rats fed an experimental diets for 14d ab libitum.
 —○—, Casein 18% diet (n-6 rats) ; —●—, Protein free diet (n-6 rats) ;
 - - - ● - - -, Protein free diet + Taurine (n-3 rats) ;
 - · - · - ● - · - ·, Protein free diet + Methionine, Cysteine (n-3 rats)

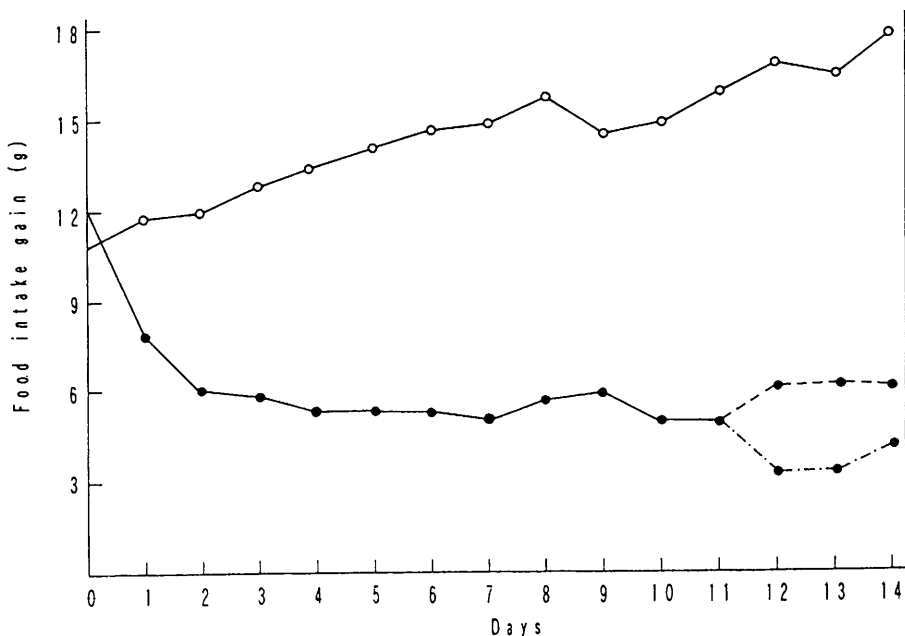


Fig 2 Food intake gain of rats fed an experimental diets for 14d ab libitum.
 —○—, Casein 18% diet (n-6 rats) ; —●—, Protein free diet (n-6 rats) ;
 - - - ● - - -, Protein free diet + Taurine (n-3 rats) ;
 - · - · - ● - · - ·, Protein free diet + Methionine, Cysteine (n-3 rats)

g/dayであった。7日目においては、無タンパク食群では $5.02 \text{ g} \pm 0.67 \text{ g/day}$ 、規定食群では $14.88 \text{ g} \pm 0.48 \text{ g/day}$ であった。また7日間の総摂食量は無タンパク食群では 52.57 g 、規定食群では 104.28 g であった。飼料効率（実験期間中の体重増加量を摂食量で除したもの）は、規定食群では 0.418 、無タンパク食群では -0.345 となり、このことから、無タンパク食を与えられているラットでは、いわゆる成長抑制が生じ、体タンパク合成への利用は見られず、加えて摂食行動も抑制されていた。尿中タウリン排泄量はFig 3に示したように、無タンパク食群では実験開始時は $21.6 \pm 10.2 \text{ nmol/d} \cdot \text{g body weight}$ 、7日目には $13.0 \pm 5.1 \text{ nmol/d} \cdot \text{g body weight}$ となり、規定食群の実験開始時は $31.8 \pm 10.2 \text{ nmol/d} \cdot \text{g body weight}$ と対比させると無タンパク食群では7日目で約60%に減少しているが、体内組織から充当して、分解代謝される含硫アミノ酸が増加していることを示している。一方、規定食群は成長が著しい状態であるのでガゼイン・タンパク質の制限アミノ酸が含硫アミノ酸であることを反映し、飼料中の含硫アミノ酸は体タンパク合成に利用され分解代謝が抑えられていると見られる。現在、引き

続き無タンパク食群への含硫アミノ酸、およびタウリン添加群の試料において分析している。

要 約

4週齢の成長期のラットを2群に分け、一方にタンパク質として18%のカゼインを含む飼料を規定食として与え、もう一方に無タンパク質の飼料を与え、その身体的変化および尿中タウリン排泄量について検討した。

- ① 身体的変化において規定食群では 43.69 g の体重増加が見られ無タンパク食群では 18.15 g の体重減少が見られた。また、飼料摂取量より求めた飼料効率は、規定食群では 0.418 、無タンパク群では -0.345 となった。このことから無タンパク食群では、体タンパク合成などへの利用は見られない。
- ② 尿中タウリン排泄量は無タンパク食群で7日目に実験開始時の60%に減少したが、体内組織から分解代謝される含硫アミノ酸の増加を示した。規定食群では7日目で約4%にまで減少したことより、含硫アミノ酸は体タンパク合成に利用され、分解代謝は抑えられていると推定された。

参考文献

- 1) 細川 優, 新関嗣郎, 東條仁美, 佐藤郁男, 山口賢次: 含硫アミノ酸, 7: 273(1984)
- 2) Boyle, P. C., Storlien, L.H., Harper, A.E. and Keesey, R.E.: Am. J. Physiol., 241:R392 (1981)
- 3) Forsum, E., Hillman, P.E. and Nesheim, M.C.: J. Nutr., 111, 1691~1697(1981)
- 4) Goodrick, C.L., Ingram, D.K., Reynolds, M.A., Freeman, J.R. and Cider, N.L.: Gerontology, 28, 233(1982)
- 5) 高橋ルミ子, 出海みどり: 東京家政大学研究紀要, 34:49(1994)
- 6) 高橋ルミ子, 出海みどり: 東京家政大学研究紀要, 35:45(1995)

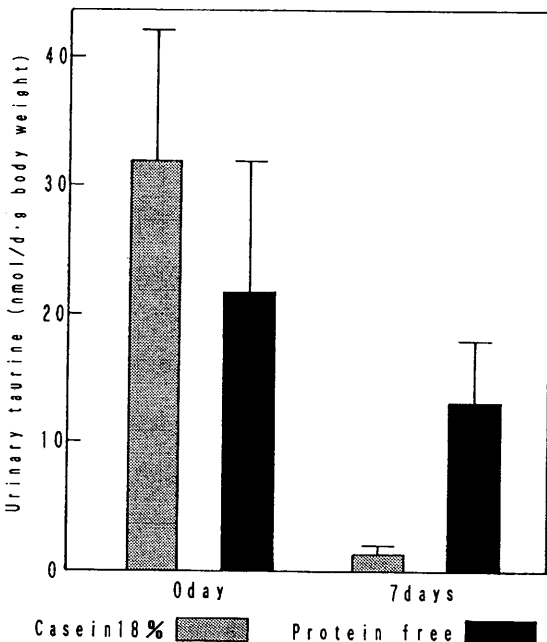


Fig 3 Urinary taurine excretion of rats fed Casein 18% diet or Protein free diet.