

# タンパク質レベルの異なる食餌がラットの飼料摂取量 および血漿, 脳の遊離アミノ酸濃度に及ぼす影響

水牧 久栄, 水上 戴子, 堀川 蘭子

(奈良女子大学家政学部)

平成 2 年 8 月 11 日受理

## Effects of Diets Containing Various Levels of Protein on Food Intake and Free Amino Acids Concentration in Plasma and Brain of Rats

Hisae MIZUMAKI, Taiko MIZUKAMI and Ranko HORIKAWA

*Faculty of Home Economics, Nara Women's University, Nara 630*

Food intake, concentration of free amino acids in the brain and plasma and enzyme activity concerning liver amino acid catabolism were examined with young adult rats fed diets containing various levels of protein. Sixteen groups were fed diets containing 3% and from 5 to 75% (in increment of 5%) egg albumin for 10 days. A similar type of experiment with fifteen levels of dietary casein except for 3% was carried out.

Food intake was depressed in rats fed low protein or high protein diets. A concentration of methionine in the brain was low in the low protein or high protein diets and that of histidine was high in the low protein diets and low in the high protein diets. The activity of serine-threonine dehydratase in the liver increased and concentrations of threonine, serine and glycine in the brain and plasma decreased with increase of protein contents in diets. There was little difference between egg albumin and casein in these profiles of amino acids. Changes in concentrations of methionine and histidine in the brain are suggested to be one of the factors controlling food intake.

(Received August 11, 1990)

**Keywords:** free amino acid concentration 遊離アミノ酸濃度, food intake 飼料摂取量, protein intake タンパク質摂取量, serine-threonine dehydratase セリン-スレオニン脱水酵素.

### 1. 緒 言

現代の栄養摂取状況は、わが国や欧米諸国ではタンパク質やエネルギー摂取量が過剰ぎみであり、一方、発展途上の国々では、今なおタンパク質をはじめ各種栄養素の摂取不足がみられる。またわが国民栄養の現状についても全体としては平均的に良好であるが、個々の世帯や個人別にみると過剰と過少の両方がみられる<sup>1)</sup>。このような栄養摂取の現状をふまえ、本研究では、タンパク質の過剰や欠乏状態における生体適応の問題を解明するために、タンパク質含量を段階的に変えた食餌への適応について検討した。

ラットに高タンパク食や低タンパク食を投与すると食餌摂取量が抑制される<sup>2)3)</sup>ことが知られており、この傾

向は各食餌に適応してからも持続する。組織中遊離アミノ酸—とくに血漿・肝臓中のアミノ酸—濃度の変動と食餌摂取量・体タンパク質の代謝の関係<sup>4)</sup>については多くの研究がなされてきたが、脳中遊離アミノ酸やアミン、ホルモンと食餌摂取量の調節機構との関連性はまだ完全に解明されていない。Petersら<sup>2)</sup>は、カゼインを用いてタンパク質レベルの異なる食餌をラットに投与した実験で、摂食に関与する因子として血漿および脳中遊離アミノ酸濃度をとりあげ、さらに肝臓中アミノ酸分解酵素の活性と関連づけて検討している。著者らはこれまで栄養条件の変化に対するタンパク質代謝の適応を明らかにする一環として、タンパク質の含量や質の異なる食餌に切り替えたときの動物の適応過程を検討してきた<sup>5)~7)</sup>。

そこで本研究では、タンパク質含量を段階的に変えた食餌をラットに投与して10日間飼育し、それらの食餌への適応状況を観察するとともに、飼育期間終了後の血漿・脳中の遊離アミノ酸濃度を測定することにより、組織中遊離アミノ酸—なかでも近年注目されている脳中遊離アミノ酸を中心にこれらと食餌摂取量・タンパク質摂取量調節の関係を明らかにすることを目的としたものである。さらに、タンパク質の質の違いによる差を検討するため、タンパク質源には、卵アルブミンとカゼインを用いた。

## 2. 実験方法

実験動物には、4週齢の Wistar 系雄ラット（日本エスエルシー(株)より購入）約160匹を用いた。ラットは、温度  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$  の飼育室内で市販固型飼料（飼育用 MF, (株)オリエンタルバイオサービス製、タンパク質25%含有）により飼育し、体重が110gになった時点で各群5匹ずつとなるように無作為に分別した。

### (1) アルブミン投与実験

実験飼料は、タンパク質源に卵アルブミン（ナカライテスク(株)製）を用い、Table 1 に示したように乾燥重量割合で3%から75%までタンパク質含量を段階的に変えた16種類の食餌を調製した。これらの飼料をラットに投与して10日間飼育した。飼料と水は自由に摂取させ、毎日定時に飼料摂取量と体重を計測した。

### (2) カゼイン投与実験

タンパク質の質の違いによる検討を行うために、タンパク質にカゼイン（ビタミンフリーカゼイン, (株)オリエンタルバイオサービス製）を用いて、Table 1 に示した

ように乾燥重量割合で5%から75%まで段階的に変えた15種類の食餌を調製し、アルブミン投与実験と同様に飼育した。

### (3) 試料分析

10日間の飼育期間終了後、各群の動物は夕方から翌朝まで16時間絶食させエーテル麻酔下で開腹し、心臓採血法により血液を採取し十分脱血した後肝臓および脳（小脳を除く）を摘出し、つぎの各項目について定量分析した。

#### 1) アミノ酸分析

血液は遠心分離して血漿を分別した。脳は4倍量の生理的食塩水を加えホモジナイザー（日本精機製作所(株), HB II 型）で均質化した。3%スルホサリチル酸を血漿には等量、脳のホモジネートには3倍量加えて  $4^\circ\text{C}$ 、17,000 rpm、30分間遠心分離して除タンパク処理をしたのち、それぞれ上清について遊離アミノ酸 (FAA) 濃度を高速アミノ酸分析 (HITACHI, L-8500) により測定した。

各組織中の Trp 濃度は、アルブミン投与実験では3, 5, 10, 40% および60%以上の各群、カゼイン投与実験では5, 10, 20, 40% および60%以上の各群について蛍光法<sup>8)9)</sup>により測定した。

なお、血漿中 Asp、脳中 Pro は、他のアミノ酸の濃度に比べ、非常に希薄であったため測定不可能であった。

#### 2) 肝臓中 SDH 活性の測定

SDH (serine-threonine dehydratase) 活性は、肝臓の一部に 0.14 M KCl を加えて均質化し、  $4^\circ\text{C}$ 、17,000 rpm、50分間遠心分離しその上清を酵素液として、2,4-ジニトロフェルヒランジン法<sup>10)</sup>により測定した。

Table 1. Composition of diets

Experimental groups	(g/100g)																
	3%	5%	10%	15%	20%	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%	60%	65%	70%	75%	
Protein sources																	
Albumin <sup>1)</sup>	3																
Casein <sup>2)</sup>	—	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	
$\alpha$ -starch (wheat)	75	72	67	62	57	52	47	42	37	32	27	22	17	12	7	2	
Sucrose									10								
Mineral mixture									5								
Vitamin mixture									1								
Cellulose powder									2								
Soy bean oil									5								

<sup>1)</sup> : in Experiment I

<sup>2)</sup> : in Experiment II

タンパク質レベルの異なる食餌がラットの飼料摂取量および血漿、脳の遊離アミノ酸濃度に及ぼす影響

3. 実験結果

ラットの最大成長が得られる食餌タンパク質含量は、一般に卵アルブミンでは約 10%，カゼインでは約 20% である<sup>11)</sup>とされていることから、アルブミン投与実験では 10% 群、カゼイン投与実験では 20% 群をそれぞれ対照群として以下検討した。

(1) アルブミン投与実験

1) 飼料摂取量および体重変化

各群ラットの飼料摂取量を Table 2, 体重変化を Fig. 1 に示した。

飼料摂取量は、1 日目には 10~25% 群で最大となり、これについて 30~45% 群、3% と 5% 群、50% 以上の群の順で少なくなり、さらに 50% 以上の群では飼料中タンパク質含量の多い群ほど摂取量は少なかった。2 日目より、50% 以下の群での飼料摂取量はほとんど変化しないが、55% 以上の群では 3 日目までに飼料摂取量は徐々に増加した。タンパク質摂取量は、飼料中アルブミン含量が増えるにつれて多くなったが、高タンパク食群では摂取量が著しく低下したので 60% 以上の群ではほとんど差異がみられなかった。このような飼料摂取に伴い、体重変化は 1 日めに 3%, 5% 群および 70% 以上の群で減少し 60~65% 群の増加量は小さかったが、

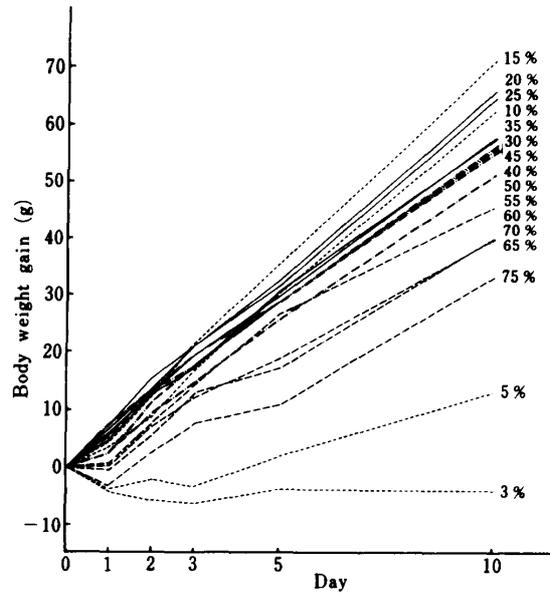


Fig. 1. Body weight gain of sixteen groups of young adult rats fed albumin diet for 10 days

その後は徐々に増加した。10~45% 群は毎日順調に増加した。10 日間の総体重増加量は、3%, 5% 群および 55% 以上の群では対照群と比べ有意に少なかった。

2) 組織中遊離アミノ酸濃度

各群ラットの血漿中 FAA 濃度を Table 3, 脳中 FAA 濃度を Table 4 に示した。

まず血漿中 FAA についてみると総必須アミノ酸 (EAA) 濃度は、3% および 30% 以上の群で有意に低濃度となった。総分枝アミノ酸 (BCAA: Val, Leu, Ile) 濃度は、20% までは食餌中タンパク質含量の増加に伴い段階的に高まったが、それ以上の群ではほとんど差はみられなかった。個々のアミノ酸についてみると、EAA のうち Met 濃度は 3% と 5% 群および 65% 以上の群で有意に低濃度となった。Trp は、3% 群で有意に低濃度となり 60% 以上の群で対照群より高濃度となる傾向を示した。His は 3% 群では有意に高濃度となったが、5%, 10% 群と濃度は下がり、10% 以上の群ではほぼ一定となった。非必須アミノ酸 (NEAA) については、総 NEAA 濃度が 15% 以上の群で有意に低濃度となり、なかでも Ser・Gly は食餌中タンパク質含量の増加とは反対に濃度が低下し、25% 以上の群では一定値となり対照の 10% 群との間に有意差がみられた。

つぎに脳中 FAA 濃度についてみると、総 EAA 濃度は一部例外がみられるものの、どの群でもよく似た値となった。総 BCAA 濃度は 30% 群ではタンパク質摂取量の増加とともに上昇したが、それ以上の群ではかえっ

Table 2. Food intake (albumin diet)

group	Albumin (g)				
	1d	2d	3d	5d	10d
3%	10.8±0.5**	12.4±0.8**	12.1±0.4**	14.0±1.1**	11.3±1.8**
5%	11.1±0.5**	13.3±0.5**	14.0±0.6*	14.4±0.8**	13.6±1.1**
10%	14.5±0.6	17.1±1.0	17.6±1.2	19.6±0.8	18.6±1.0
15%	13.3±1.5	15.1±1.4	16.5±0.6	16.4±1.1*	18.0±0.9
20%	14.9±0.5	15.1±0.4*	16.9±0.5	15.6±0.6**	17.3±0.4
25%	13.2±0.9	14.1±1.0*	13.7±0.8*	14.9±1.1**	17.4±1.1
30%	12.9±0.4**	14.0±0.8**	14.5±1.1*	13.8±1.1**	15.2±0.7**
35%	12.8±0.6**	12.5±1.0**	13.3±0.9**	12.8±1.1**	14.1±1.1**
40%	11.7±0.4**	13.1±0.7**	13.1±0.4*	12.8±0.9**	14.7±1.5
45%	12.6±0.9*	12.7±0.6**	12.6±1.3*	13.6±0.7**	15.5±1.2*
50%	10.4±0.6**	12.8±0.7**	11.4±1.3**	13.1±0.3**	14.3±0.9**
55%	9.3±0.5**	10.9±0.5**	11.9±0.8**	12.8±0.6**	15.0±0.7**
60%	8.4±0.4**	11.2±0.4**	11.7±0.4**	11.1±0.3**	12.6±0.8**
65%	7.5±0.8**	10.0±0.8**	10.7±0.6**	12.0±0.5**	13.6±0.8**
70%	9.2±2.4	9.6±0.9**	11.5±0.5**	10.1±1.1**	12.7±0.9**
75%	6.4±1.0**	9.2±0.9**	10.7±0.3**	10.4±0.9**	12.7±0.8**

\* : Significantly different from the value of Group 10% Control, p<0.05

\*\* : Significantly different from the value of Group 10% Control, p<0.01

Table 3. Free amino acid concentration in plasma (albumin diet)

Amino acid	Dietary albumin level, %															
	3	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
$\mu\text{mol/ml}$																
EAA																
Thr	0.778	0.716	0.894	1.018	0.806	0.835	0.759	0.705*	0.774	0.713	0.701*	0.708*	0.672*	0.592**	0.648**	0.608**
Val	0.089*	0.089**	0.127	0.163	0.166*	0.208	0.165*	0.147	0.156	0.152*	0.171*	0.168	0.139	0.137	0.167*	0.154
Met	0.024**	0.028**	0.041	0.049**	0.046	0.070	0.041	0.038	0.041	0.042	0.038	0.041	0.036	0.031**	0.034**	0.032**
Ile	0.047*	0.047*	0.070	0.087	0.090*	0.070	0.080	0.072	0.075	0.074	0.082	0.080	0.061	0.065	0.082	0.077
Leu	0.067*	0.072*	0.097	0.117	0.130	0.096	0.118	0.108	0.114	0.121	0.132*	0.130*	0.097	0.103	0.131	0.122
Phe	0.076	0.081	0.082	0.088	0.088	0.095	0.087	0.077	0.094	0.082	0.082	0.079	0.073	0.068	0.081	0.083
Lys	0.318*	0.360	0.529	0.574	0.424	0.426	0.327*	0.347	0.331*	0.361	0.378	0.437	0.391	0.346*	0.415	0.356
His	0.101**	0.084	0.064	0.073	0.068	0.074	0.065	0.060	0.066	0.070	0.065	0.067	0.059	0.057	0.063	0.056
Arg	0.090*	0.114	0.113	0.127	0.115	0.133	0.110	0.108	0.118	0.110	0.119	0.132	0.105	0.092**	0.114	0.099**
Trp	0.025*	0.037	0.046						0.046				0.055	0.053	0.049	0.053
Total EAA <sup>1</sup>	1.585*	1.790	1.974	1.915	1.859	2.012	1.582**	1.591*	1.899*	1.536**	1.691*	1.688*	1.702*	1.532**	1.692*	1.662*
BCAA <sup>2</sup>	0.203*	0.208*	0.294	0.367	0.386	0.374	0.363	0.327	0.345	0.347	0.385	0.378	0.297	0.305	0.380	0.353
NEAA																
Ser	0.485	0.386	0.373	0.267*	0.204*	0.236	0.163**	0.149**	0.163**	0.170**	0.167**	0.165**	0.149**	0.150**	0.157**	0.139**
Glu	0.205	0.218	0.235	0.206	0.215	0.231	0.181	0.175	0.183	0.201	0.170*	0.166*	0.163**	0.138**	0.171*	0.173
Gly	0.475	0.411	0.466	0.363	0.305**	0.275**	0.248**	0.225**	0.231**	0.259**	0.251**	0.224**	0.218**	0.240**	0.218**	0.197**
Ala	0.273	0.227	0.342	0.314	0.306	0.438	0.324	0.291	0.305	0.294	0.201	0.353	0.296	0.252	0.313	0.292
Cys	0.032	0.034	0.037	0.058*	0.035	0.062	0.033	0.041	0.037	0.042	0.026	0.042	0.040	0.037	0.033	0.029
Tyr	0.040*	0.048	0.060	0.062	0.053	0.096	0.050	0.051	0.058	0.049	0.051	0.059	0.064	0.042*	0.062	0.055
Pro	0.128	0.151	0.145	0.148	0.123	0.158	0.110	0.119	0.110	0.105*	0.095**	0.138	0.134	0.091**	0.101*	0.112
Total NEAA <sup>3</sup>	1.638	1.475*	1.658	1.238**	1.241**	1.496	1.109**	1.051**	1.087**	1.120**	1.061**	1.147**	1.064**	0.950**	1.055**	0.997**

<sup>1</sup>: Total EAA: Thr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His, Arg      <sup>2</sup>: BCAA: Val, Leu, Ile  
<sup>3</sup>: Total NEAA: Ser, Glu, Gly, Ala, Cys, Tyr, Pro  
\* : Significantly different from the value of Group 10% Control, p<0.05  
\*\* : Significantly different from the value of Group 10% Control, p<0.01

Table 4. Free amino acid concentration in brain (albumin diet)

Amino acid	Dietary albumin level, %															
	3	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
$\mu\text{mol/g}$																
EAA																
Thr	4.628	5.076	4.962	5.363	5.189	4.800	4.934	4.875	5.125	5.036	4.648	4.696	4.639	4.339	4.874	4.712
Val	0.205	0.230	0.318	0.304	0.299	0.318	0.283	0.272	0.269	0.264	0.263	0.263	0.238	0.254	0.225	0.244
Met	0.070*	0.100	0.178	0.123	0.133	0.164	0.136	0.121	0.162	0.078	0.120	0.120	0.121	0.104	0.083*	0.125
Ile	0.092	0.099	0.167	0.149	0.157	0.149	0.132	0.120	0.145	0.107	0.120	0.123	0.116	0.113	0.099	0.124
Leu	0.169	0.167	0.182	0.265	0.271	0.263	0.264	0.196*	0.205	0.182	0.196	0.173	0.187	0.190	0.172	0.197
Phe	0.359	0.338	0.388	0.333	0.330	0.344	0.357	0.336	0.377	0.331	0.363	0.238*	0.283	0.322	0.216*	0.330
Lys	0.374	0.492	0.554	0.523	0.432	0.423	0.417	0.410	0.483	0.442	0.457	0.391*	0.521	0.377	0.420	0.528
His	0.326	0.310	0.284	0.251	0.250	0.230	0.270	0.233	0.261	0.260	0.250	0.194**	0.231	0.210	0.198*	0.231
Arg	0.196	0.177	0.256	0.270	0.280	0.224	0.208	0.239	0.220	0.234	0.197	0.200	0.197	0.210	0.182	0.204
Trp	0.014	0.015	0.017						0.014				0.013*	0.013*	0.014	0.014
Total EAA <sup>1</sup>	1.728	1.913	2.327	2.218	2.152	2.115	2.067	1.747	2.122	1.898	1.966	1.702	1.894	1.780	1.595	1.983
BCAA <sup>2</sup>	0.466*	0.496	0.667	0.718	0.727	0.730	0.679	0.588	0.620	0.533	0.579	0.559	0.541	0.557	0.496*	0.565
NEAA																
Asp	2.040	1.909	2.100	2.149	2.305	2.360	2.430	2.187	2.151	2.224	2.120	2.188	2.006	2.328	2.181	2.502
Ser	1.528	1.470	1.231	1.150	1.166	1.140	1.109	0.991	0.979*	0.971*	0.984*	0.956*	0.930*	0.951*	0.947*	0.941*
Glu	8.697	8.493	7.908	7.928	8.431	8.762	8.628	9.053*	8.780	9.760*	8.392	9.319*	8.125	8.376	8.601	7.800
Gly	1.370	1.252	1.245	1.129	1.524	1.490	1.484	1.179	1.165	1.202	1.156	1.142	1.054*	1.364	1.087*	1.218
Ala	0.798	0.818	0.854	1.050	1.108	1.106	1.008	0.968*	0.881	0.922	0.852	0.959*	0.827	0.912	0.824	0.851
Cys	0.092	0.104	0.110	0.136	0.119	0.125	0.116	0.095	0.118	0.096	0.108	0.102	0.097	0.087	0.087	0.108
Tyr	0.108	0.135	0.121	0.167	0.166	0.208	0.106	0.173	0.138	0.216	0.102	0.139	0.127	0.156	0.112	0.159
Total NEAA <sup>3</sup>	14.728*	14.260	13.678	15.843**	14.433	15.250**	14.898**	14.430	14.731	15.379**	13.763	14.994*	12.968*	14.276	13.899	13.583

<sup>1</sup>: Total EAA: Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His, Arg      <sup>2</sup>: BCAA: Val, Leu, Ile  
<sup>3</sup>: Total NEAA: Asp, Ser, Glu, Gly, Ala, Cys, Tyr  
\* : Significantly different from the value of Group 10% Control, p<0.05  
\*\* : Significantly different from the value of Group 10% Control, p<0.01

タンパク質レベルの異なる食餌がラットの飼料摂取量および血漿、脳の遊離アミノ酸濃度に及ぼす影響

て濃度は下がった。個々のアミノ酸では Met が 5% 以下および 45% 以上の群で濃度は低い傾向となり、His 濃度は 3% 群を最高に食餌中タンパク質含量の増加につれて下がり、血漿中濃度と同様の傾向がみられた。Trp 濃度は 10% 群までは上昇したが、60% 以上の群で低濃度となった。NEAA のうち Ser 濃度は 40% 以上の群で有意に低くなり、Gly 濃度も食餌中タンパク質含量の増加とともに下がったが、これらは後述するような肝臓中 SDH などのアミノ酸分解酵素活性の上昇に関連する<sup>2)</sup>といわれている。

3) 肝臓中 SDH 活性

肝臓中 SDH 活性測定の結果を Fig. 2 に示した。10% 以下の群ではほとんど活性がみられないが、食餌中タンパク質含量の増加に比例して活性は高まり、75% 群では対照の 10% 群の 130 倍も活性が高まった。

(2) カゼイン投与実験

1) 飼料摂取量および体重変化

各群ラットの飼料摂取量を Table 5, 体重変化を Fig. 3 に示した。

飼料摂取量は、1 日めには 15~40% 群で最大となり、10% 以下および 45~55% の群、60% 以上の群の順に少なくなった。2 日め以降については、10% 以下および 60% 以上の群では対照の 20% 群に対して有意に摂食量

は少なかったが、アルブミン投与実験よりも食餌摂取量の抑制の度合いは小さかった。タンパク質摂取量は、アルブミン投与実験とほぼ同じ傾向がみられた。つぎに体重変化をみると、1 日めは 20~35% 群での増加量が大きい。15% 以下および 40% 以上の群では 20% 群に

Table 5. Food intake (casein diet)

group	Casein (g)				
	1d	2d	3d	5d	10d
5%	12.0±0.3*	11.9±0.8*	11.3±1.1**	10.7±1.4**	11.4±1.2**
10%	12.2±1.0	10.6±1.0*	11.3±1.4**	11.3±1.4**	15.2±1.8
15%	13.4±0.3	14.4±1.1	14.9±1.0	15.2±0.8	17.5±1.7
20%	13.1±0.3	14.6±1.0	15.2±0.6	15.5±0.6	17.6±0.7
25%	10.9±2.4	11.2±2.5	14.4±0.7	15.4±0.3	17.9±0.9
30%	12.2±0.7	13.5±0.6	14.3±0.6	14.8±0.7	16.4±1.1
35%	13.3±1.0	13.4±0.6	14.7±1.0	15.4±0.5	17.7±1.3
40%	12.9±0.5	13.5±0.7	14.3±0.5	14.9±0.7	16.3±0.7
45%	11.8±0.3*	12.7±0.4*	14.1±0.5	14.8±0.6	16.6±0.6
50%	12.1±0.3*	12.5±0.4*	13.0±0.8*	13.6±0.8*	15.7±0.7*
55%	12.5±0.4	13.6±0.7	12.9±0.4**	14.8±0.7	16.5±0.8
60%	11.4±0.1**	12.2±0.3*	12.2±0.6**	12.2±0.5**	14.1±0.7**
65%	11.3±0.2**	11.7±0.4**	12.8±0.7**	13.2±0.9*	15.5±0.8*
70%	10.1±0.7**	12.3±0.6*	12.3±1.4*	13.6±0.9*	15.8±0.4*
75%	10.3±0.5**	11.3±0.7**	12.2±0.9**	13.1±0.8**	16.4±1.3

\* : Significantly different from the value of Group 20% Control, p<0.05  
 \*\* : Significantly different from the value of Group 20% Control, p<0.01

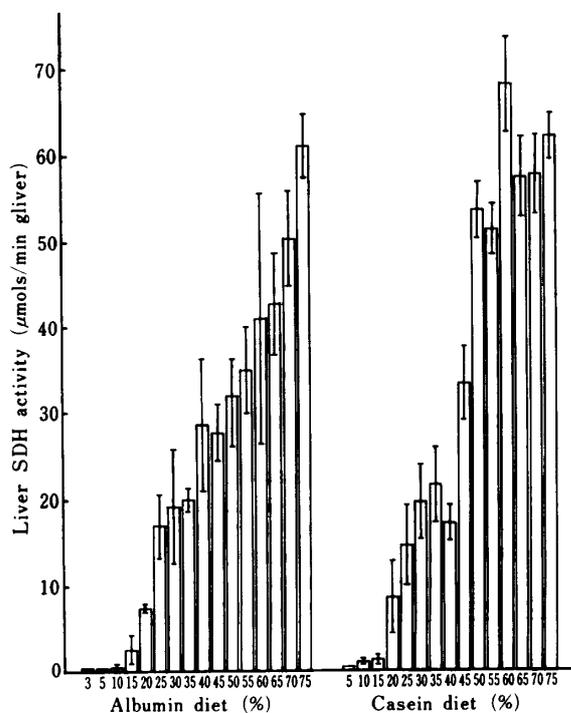


Fig. 2. Liver serin-threonin dehydratase (SDH) activity

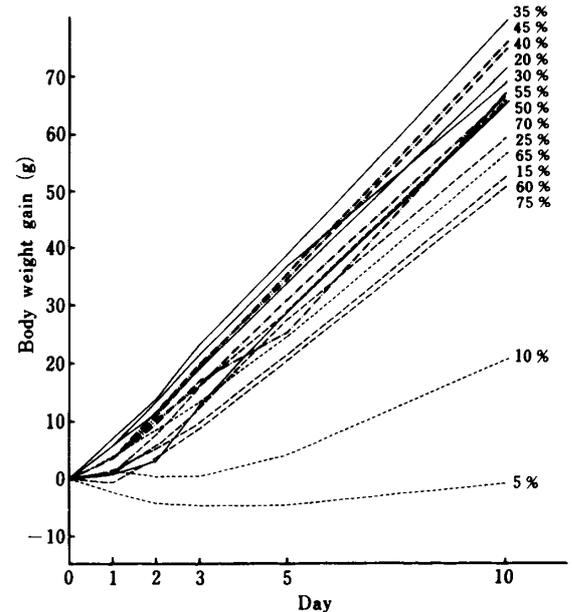


Fig. 3. Body weight gain of fifteen groups of young adult rats fed casein diet for 10 days

## 日本家政学会誌 Vol.42 No.6 (1991)

Table 6. Free amino acid concentration in plasma (casein diet)

Amino acid	Dietary casein level, %														$\mu\text{mol/ml}$		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75		
<b>EAA</b>																	
Thr	0.864	1.026	1.165	0.994	0.797	0.783*	0.756*	0.746*	0.713*	0.674*	0.620*	0.637*	0.626*	0.670**	0.637*		
Val	0.089**	0.115**	0.113	0.155	0.153	0.169	0.152	0.147	0.151	0.139	0.127**	0.144	0.129**	0.138*	0.135*		
Met	0.024**	0.031**	0.042	0.047	0.045	0.040*	0.044	0.041*	0.046	0.040*	0.037**	0.036**	0.038**	0.040*	0.036**		
Ile	0.046**	0.060**	0.074	0.084	0.078	0.081	0.084	0.080	0.080	0.081	0.087**	0.075*	0.069*	0.069**	0.072*		
Leu	0.060**	0.082*	0.095	0.106	0.106	0.119	0.117	0.113	0.113	0.099	0.095	0.103	0.097	0.095	0.103		
Phe	0.060*	0.068	0.084	0.092	0.085	0.079	0.093	0.085	0.085	0.082	0.087	0.092	0.073*	0.079	0.090		
Lys	0.240**	0.261	0.338	0.329	0.304	0.315	0.324	0.293	0.326	0.313	0.266*	0.286*	0.277*	0.314	0.288		
His	0.085*	0.088**	0.077*	0.089	0.086	0.089	0.070	0.088	0.065	0.057**	0.056**	0.055**	0.051**	0.055**	0.054**		
Arg	0.080*	0.092*	0.101	0.106	0.112	0.099	0.112	0.099	0.109	0.123	0.100	0.116	0.101	0.114	0.110		
Trp	0.027	0.027	0.035					0.044				0.056**	0.043*	0.051**	0.054**		
Total EAA <sup>1</sup>	1.506*	1.823	2.054	1.984	1.744	1.754	1.752	1.671**	1.688*	1.596**	1.455**	1.544**	1.460**	1.573**	1.525*		
BCAA <sup>2</sup>	0.195**	0.257**	0.302	0.346	0.336	0.368	0.352	0.340	0.343	0.319	0.290**	0.321	0.295*	0.302**	0.310		
<b>NEAA</b>																	
Ser	0.383**	0.397**	0.324*	0.232	0.171	0.166*	0.165*	0.141*	0.151*	0.128**	0.117**	0.127**	0.118**	0.134**	0.126**		
Glu	0.169	0.168	0.167	0.164	0.167	0.141	0.157	0.158	0.159	0.147	0.121	0.122*	0.154	0.125*			
Gly	0.368**	0.402**	0.321*	0.254	0.209*	0.203	0.204*	0.174**	0.174**	0.158**	0.146**	0.159**	0.129**	0.164**	0.149**		
Ala	0.168*	0.228	0.231	0.239	0.220	0.230	0.212	0.187*	0.211**	0.186*	0.168*	0.174*	0.167*	0.202	0.184		
Cys	0.043**	0.051**	0.061**	0.074	0.064	0.058**	0.064*	0.056**	0.055**	0.058**	0.051**	0.056**	0.051**	0.054**	0.059**		
Tyr	0.053**	0.067	0.082	0.077	0.080	0.070	0.094	0.076	0.099	0.090	0.079	0.087	0.082	0.102**	0.087		
Pro	0.100	0.129	0.154	0.122	0.120	0.151	0.129	0.110	0.123	0.125	0.084*	0.079*	0.118	0.102	0.114		
Total NEAA <sup>3</sup>	1.283*	1.442**	1.339	1.092	1.031	1.021	1.025	0.901**	0.987*	0.903**	0.792**	0.814**	0.788**	0.912*	0.844**		

<sup>1</sup>: Total EAA: Thr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His, Arg<sup>2</sup>: BCAA: Val, Leu, Ile<sup>3</sup>: Total NEAA: Ser, Glu, Gly, Ala, Cys, Tyr, Pro\*: Significantly different from the value of Group 20% Control,  $p < 0.05$ \*\*: Significantly different from the value of Group 20% Control,  $p < 0.01$ 

Table 7. Free amino acid concentration in brain (casein diet)

Amino acid	Dietary casein level, %														$\mu\text{mol/g}$		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75		
<b>EAA</b>																	
Thr	4.976*	5.445	5.815	5.060	4.811	4.891	4.428	4.718	4.421	4.302	4.465	4.224*	4.665	4.311	4.562		
Val	0.240	0.221	0.247	0.234	0.277	0.226	0.235	0.226	0.224	0.225	0.210	0.196	0.187	0.193	0.188		
Met	0.075	0.070	0.084	0.087	0.111	0.075	0.088	0.073	0.082	0.095	0.094	0.055	0.068	0.070	0.133		
Ile	0.130	0.122	0.167	0.116	0.121	0.156	0.104	0.129	0.124	0.114	0.122	0.098	0.097	0.090	0.085		
Leu	0.172	0.178	0.183	0.168	0.188	0.180	0.180	0.218	0.173	0.162	0.187	0.158	0.170	0.134*	0.152		
Phe	0.242	0.225	0.186*	0.295	0.278	0.270	0.252	0.286	0.279	0.322	0.341	0.317	0.288	0.291	0.335		
Lys	0.324	0.277*	0.278	0.343	0.352	0.349	0.317	0.329	0.329	0.300*	0.327	0.294*	0.283*	0.304*	0.290**		
His	0.274	0.258	0.295	0.212	0.310	0.222	0.212	0.215	0.195	0.180*	0.196	0.166*	0.196*	0.176*	0.196		
Arg	0.186	0.172	0.145	0.174	0.214	0.187	0.186	0.201	0.183	0.158	0.215*	0.172	0.152	0.149	0.179		
Trp	0.018	0.017		0.020				0.017				0.017	0.021	0.018	0.020		
Total EAA <sup>1</sup>	1.643	1.523	1.585	1.629	1.851	1.665	1.574	1.675	1.589	1.556	1.692	1.456**	1.441**	1.407**	1.558		
BCAA <sup>2</sup>	0.542	0.521	0.579	0.518	0.585	0.562	0.519	0.571	0.521	0.501	0.518	0.451	0.454	0.417*	0.444		
<b>NEAA</b>																	
Asp	2.155	2.074	2.079	2.182	2.385	2.351	2.427	2.316	2.309	2.140	2.318	2.172	2.206	2.183	2.259		
Ser	1.415**	1.134	1.132	1.039	0.985	0.914*	0.912*	0.965	0.904	0.839**	0.900*	0.883*	0.850**	0.827*	0.865*		
Glu	8.542	8.989	8.785	8.940	8.806	8.544*	8.297*	8.517	8.415	8.410	8.378	7.996**	8.124	8.616	8.779		
Gly	1.392*	1.210	1.260	1.237	1.288	1.200	1.148	1.187	1.176	1.082	1.247	1.173	1.042*	1.038*	1.067		
Ala	0.844	0.815	0.852	0.923	0.926	0.862	0.859	0.890	0.818	0.787	0.831	0.773*	0.742**	0.735**	0.739**		
Cys	0.118	0.118	0.123	0.125	0.128	0.111	0.113	0.115	0.099*	0.095*	0.090*	0.089*	0.123	0.080**	0.091*		
Tyr	0.193	0.183	0.179	0.203	0.195	0.194	0.197	0.191	0.222*	0.180**	0.212	0.211	0.171*	0.206	0.176*		
Total NEAA <sup>3</sup>	14.670	14.564	14.407	14.721	14.713	14.175	13.953	14.180	13.982	13.547*	13.975	13.298	14.275	13.665	13.975		

<sup>1</sup>: Total EAA: Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His, Arg<sup>2</sup>: BCAA: Val, Leu, Ile<sup>3</sup>: Total NEAA: Asp, Ser, Glu, Gly, Ala, Cys, Tyr\*: Significantly different from the value of Group 20% Control,  $p < 0.05$ \*\*: Significantly different from the value of Group 20% Control,  $p < 0.01$

## タンパク質レベルの異なる食餌がラットの飼料摂取量および血漿、脳の遊離アミノ酸濃度に及ぼす影響

して有意に小さく、5%、75%群では減少した。2日め以降については、一部例外がみられるものの15%以下および60%以上の群で対照群と比べ有意に少なく、とくに10%以下の群での増加量はわずかであった。

## 2) 組織中遊離アミノ酸濃度

各群ラットの血漿中 FAA 濃度を Table 6, 脳中 FAA 濃度を Table 7 に示した。

血漿中 FAA は、10%以下の群ではほとんどのアミノ酸が有意に濃度が低く、総 EAA 濃度は5%および40%以上の群で有意に低濃度であった。総 BCAA 濃度は20%までは食餌中タンパク質含量に比例して段階的に上昇し、アルブミン投与実験と同様の結果となったが、55%以上の群では濃度が低下する傾向がみられた。個々のアミノ酸についてもアルブミン投与実験と同様で Met 濃度が10%以下および50%以上の群で有意に低く、Trp 濃度についても60%以上の群で有意に高濃度となった。His は、15%以下の群では有意に高濃度となり、食餌中タンパク質含量が増加するとともに濃度は低下し、50%以上の群では有意に低下した。NEAA については、総 NEAA 濃度が10%以下の群で有意に高濃度となり、40%以上の群では有意に低濃度となったが、これは主として Ser 濃度・Gly 濃度が、15%以下の群では有意に高く25%以上の群で有意に低濃度となったことに起因している。

つぎに脳中 FAA についてみると、総 EAA 濃度はアルブミン投与実験と同様にどの群でもよく似た値となった。

総 BCAA は55%以下の群ではほぼ同濃度だが60%以上の群では濃度は低下した。個々のアミノ酸については、Met 濃度が10%以下および60%以上の群で低濃度となり、Trp も10%以下の群で低濃度となる傾向がみられた。His 濃度は15%以下の群で高濃度となり、20~40%群はほぼ一定となるが45%以上の群では徐々に低濃度となった。Thr は、5%および35%以上の群で低濃度となる傾向であった。NEAA では、Ser 濃度は5%群で有意に高く、食餌中タンパク質含量が多くなると、しだいに濃度は低下し50%以上の群で有意に低くなり、Gly 濃度も同様の結果を示した。

## 3) 肝臓中 SDH 活性

肝臓中 SDH 活性測定の結果を Fig. 2 に示した。

15%以下の群では活性がほとんどみられないが、20%群から食餌中タンパク質含量の増加に伴い活性は急激に高まり、アルブミン投与実験と同様の結果となった。

## 4. 考 察

以上の結果を総括して考察すると、アルブミン、カゼインといったタンパク質の質に関係なく、低タンパク食群および高タンパク食群で飼料摂取量が少なかった。1日めについては、予備飼育時に投与された固型飼料(粗タンパク質含量25%)に比べて、質的・量的に大きく異なる食餌を摂取した群ほど飼料摂取量が少なかった。低タンパク食群は、タンパク質摂取量が少ないため、体タンパク質の合成が十分行われず、体重はほとんど増加しないか、わずかに増加するに留まり、飼料摂取量が少なくなったものと思われる。つぎに高タンパク食群は文献によれば、高タンパク食へ切り替えられると、肝臓中でのアミノ酸の異化および糖新生を促す酵素が増加するのに1日か2日を要する<sup>12)</sup>ことが知られている。そこで、本研究の高タンパク食群で摂食量が少なくなったものと推察されるが、3日めまでに飼料摂取量は徐々に増加した。また、非常に高い割合でタンパク質を含む食餌であるため摂取した糖質・タンパク質のバランスがくずれ、飼育終了時まで飼料摂取量の抑制は持続したと考えられる。このような飼料摂取状況と本研究で注目した脳中や血漿中 FAA 濃度との関連をみると、脳中 His 濃度が低タンパク食時に高濃度となり、高タンパク食時に低濃度となった。とくにカゼイン投与実験では50%以上の群で有意に濃度が低かった。His は筋肉中に多く含まれるアミノ酸で、タンパク質欠乏により筋肉中の His 化合物が分解されて血中に His が流出する<sup>6)</sup>ことが明らかにされている。さらに、His が神経伝達物質前駆体であり食餌栄養欠乏時に血液よりも脳に多く集中することから、脳中 His 濃度上昇はタンパク質摂取量欠乏の指標となりうる<sup>13)</sup>との報告がある。本実験の結果では、脳中 His 濃度が低タンパク食群では対照群の1.1倍以上の濃度となり、高タンパク食群では濃度が低くなり有意差のあった群もみられた。これは、タンパク質摂取量が適正か否かを判定する指標となることを示唆する。また血漿ならびに脳中の Met 濃度は、アルブミン投与実験、カゼイン投与実験とも低タンパク食あるいは高タンパク食群で低い値を示したが、Met のメチル基は多くのメチル基を有するホスファチジルコリン、アドレナリン等の生成前駆体<sup>12)</sup>として知られており、Met から神経伝達物質への移行が活発になり脳内 Met 濃度が下がると飼料摂取量を抑制しタンパク質摂取量を調節するものと考えられる。血漿中、脳中 BCAA 濃度は、食餌中のこれらのアミノ酸の含有量に比例して濃度が高まり蓄積される傾向があり<sup>2)14)</sup>、これは Phe, Trp などの中性アミノ酸

(NAA) の脳内への流入が減少したため、脳中全必須アミノ酸含量は一定レベル(最大濃度 2.5 mM)に維持するようにタンパク質摂取量は調節されている<sup>2)</sup>ことが報告されている。本実験では脳中総 EAA 濃度は一定レベルとなり、血漿中 BCAA 濃度では 25% 以下の群で報告と同様の傾向がみられたが、それ以上の群ではほぼ一定あるいは濃度が低下し、脳中 BCAA 濃度では、はっきりとした傾向はみられなかった。これは、Peters ら<sup>2)</sup>は離乳直後のラット(55~60 g)を用いたが本研究では 110 g のラットで実験を行ったという、条件が異なることも関与するものと考えられる。つぎに各組織の遊離の Thr・Ser・Gly 濃度と関連のみられた肝臓中 SDH 活性については、アルブミン投与実験、カゼイン投与実験とも 20% 群から活性が著しく高まった。各組織で遊離の Thr・Ser・Gly 濃度がタンパク質摂取量の増加に伴い下降したのは、Thr→Gly→Ser→ピルビン酸→グルコースという代謝経路が SDH により活発になったことによると推察できる。余剰のアミノ酸は SDH のような酵素により異化、糖新生を促進され、血漿、脳中でのアミノ酸濃度が調節されたのは、高タンパク食への適応現象とみなされる。

## 5. 要 約

タンパク質源に卵アルブミン、カゼインの二種を用い、タンパク質含量を段階的に変えた食餌を Wistar 系雄ラットに投与し 10 日間飼育し、この間の食餌摂取量、体重を計測した。飼育期間終了後は、血漿、脳中の遊離アミノ酸濃度、肝臓中 SDH 活性を測定した。これらから、各種食餌への適応過程、さらにタンパク質の質、含量の違いによる差異を検討した。結果は以下のとおりであった。

(1) 低タンパク食群、高タンパク食群で飼料摂取量が抑制され、体重増加量も有意に少なくなり、ことに低タンパク食群での増加量はわずかであった。

(2) 飼料摂取量が少なかった低タンパク食群、高タンパク食群では、脳中の Met が低濃度となった。また、脳中 His 濃度は低タンパク食時に高濃度、高タンパク食時に低濃度となった。脳中の Met 濃度および His 濃

度の変化が飼料摂取量を調節する因子のひとつと考えられる。

(3) 肝臓中 SDH は、タンパク質摂取量の少ない群ではほとんど活性がみられないが、タンパク質摂取量の多い群では著しく亢進され、飼料中タンパク質含量の増加に比例して高まった。高タンパク食摂取群では、肝臓中アミノ酸分解酵素の活性が高まり高タンパク食へ適応した。

(4) タンパク質の質の違いによる差はほとんどみられなかった。

なお本研究の一部は、昭和 62 年度、63 年度科学研究費補助金(一般研究 C)によって行われたものである。

## 引 用 文 献

- 1) 食糧栄養調査会編: 1989 年版 食料・栄養・健康, 医歯薬出版, 東京, 33 (1989)
- 2) Peters, J.C. and Harper, A.E.: *J. Nutr.*, **115**, 382 (1985)
- 3) Peng, Y., Meliza, L.L., Vavich, M.G. and Kemmerer, A.R.: *J. Nutr.*, **104**, 1008 (1974)
- 4) 吉川春寿監修, 小池五郎, 福場博保, 細谷憲政編: 栄養学, 朝倉書店, 東京, 50 (1976)
- 5) 宮岡洋子, 水上戴子, 堀川蘭子: 栄養と食糧, **33**, 31 (1980)
- 6) 松下千江子, 水上戴子, 堀川蘭子: 栄食誌, **36**, 347 (1983)
- 7) 久岡祥子, 水上戴子, 堀川蘭子: 家政誌, **39**, 1039 (1988)
- 8) Denckla, W.D. and Dewey, H.K.: *J. Lab. Clin. Med.*, **69**, 160 (1967)
- 9) Bloxam, D. L. and Warren, W.H.: *Anal. Biochem.*, **60**, 621 (1971)
- 10) 日本生化学会編: 生化学実験講座 11 アミノ酸代謝と生体アミン 中, 東京化学同人, 東京, 424(1976)
- 11) Muramatsu, K. and Ashida, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **26**, 25 (1962)
- 12) 中尾 真監訳: レーニンジャー生化学(下)第 2 版, 共立出版, 東京, 776 (1984)
- 13) Gustafson, J.M., Dodds, S. J., Burgus, R.C. and Mercer, L.P.: *J. Nutr.*, **116**, 1667 (1986)
- 14) Soemitro, S., Block, K.P., Crowell, P.L. and Harper, A.E.: *J. Nutr.*, **119**, 1203 (1989)