

血漿のコレステロール濃度と遊離アミノ酸濃度に 及ぼすメチオニンの影響

水 野 時 子, 山 田 幸 二*

(郡山女子大学短期大学部, * 郡山女子大学家政学部)

平成 5 年 8 月 10 日受理

Effect of Dietary Methionine on the Levels of Plasma Cholesterol and Free Amino Acids in Rat

Tokiko MIZUNO and Koji YAMADA*

Koriyama Women's Junior College, Koriyama, Fukushima 963

**Faculty of Living Science, Koriyama Women's College, Koriyama, Fukushima 963*

The effect of dietary methionine on cholesterol and free amino acid levels in blood plasma was studied in Donryu rat fed 10% and 25% casein and soy protein isolate diets with or without cholesterol.

In the tests carried out in the absence of cholesterol, the supplementation of methionine gave no change to the plasma cholesterol level of the rats fed on 10% and 25% of casein diets and 25% soy protein isolate diet, while a significant decrease in the cholesterol level in plasma of rats fed on a 10% soy protein diet with methionine was observed.

On the other hand, the cholesterol level in plasma was significantly raised by the supplementation of cholesterol to any of the above-mentioned diets, especially when the rats were fed on 10% protein level. In this case, an increased cholesterol level in plasma due to the addition of cholesterol to diets was significantly prevented by the supplementation of methionine.

Decreases of threonine and serine, and an increase of taurine in plasma free amino acids were observed by the supplementation of methionine to 10% casein diet and also to 10% soy protein isolate diet regardless of the supplementation of cholesterol. The same phenomenon was found in the rats fed on the 25% cholesterol free soy protein isolate diet with no supplementation of methionine.

The addition of cholesterol to diet caused a specific decrease in the plasma threonine level, which seems to be independent of protein levels in diet.

(Received August 10, 1993)

Keywords: casein カゼイン, soy protein isolate 分離大豆タンパク質, methionine メチオニン, plasma cholesterol 血漿コレステロール, plasma free amino acid 血漿遊離アミノ酸, rats ラット.

1. 結 言

血漿コレステロールは、動脈硬化性疾患のリスクファクターの一つと考えられているが、摂取タンパク質の違いで異なる応答を示すことがラット^{1)~3)}や兎⁴⁾を用いた実験において明らかにされている。一般にカゼイン摂取に比べ大豆タンパク質⁵⁾や小麦グルテン⁶⁾な

どの摂取で血漿コレステロールの上昇は抑制され、このような現象は、タンパク質の代わりに相応するアミノ酸混合物摂取でも観察されることも明らかにされている⁷⁾⁸⁾。したがって、摂取タンパク質のアミノ酸組成も血漿コレステロールの変動要因と考えられている。一方、摂取タンパク質のアミノ酸組成と血漿遊離ア

ミノ酸組成との関係を指摘する報告もある⁹⁾。また、著者の一人、山田らは穀類飼料に穀類タンパク質の制限アミノ酸であるリジン¹⁰⁾、守時らは低カゼイン飼料にカゼインの制限アミノ酸であるメチオニン¹¹⁾の添加で、血漿遊離アミノ酸組成の特異的変動と肝臓脂質の蓄積を生ずることを明らかにした。以上のことから、摂取タンパク質のアミノ酸組成の違いやタンパク質に特定のアミノ酸添加による血漿のコレステロールと遊離アミノ酸との関連性も考えられる。しかし、このような検討は少ない¹²⁾¹³⁾。本研究は、肝臓脂質代謝¹⁴⁾や血漿コレステロール^{15)~18)}との関連性が大きいメチオニンを、含量の異なるカゼインまたは分離大豆タンパク質飼料(10%, 25%)に添加し、Donryu系ラットの血漿コレステロールと血漿遊離アミノ酸組成の変動を検討した。

2. 実験方法

(1) 実験動物および飼料組成

実験動物には4週齢で体重約100gのDonryu系雄ラット(日本エスエルシー株)を各群5頭用いた。試験飼料による飼育は12時間交替の明暗サイクル下(7時に点灯, 19時に消灯)の温度22~23°C, 湿度50~60%の恒温恒湿の部屋で飼料と水を自由に摂取させ3週間行った。実験に用いた基本飼料は、10%または25%のカゼインと分離大豆タンパク質(フジプロ-R, SPI)それぞれに5%ラード, 4%ミネラル混合(オリエンタル混合), 1%ビタミン混合(オリエンタル混合)を加え、さらに小麦デンプンを加えて100%に調整した(Table 1)。実験1は10%カゼイン飼料, 実験2は25%カゼイン飼料, 実験3は10%SPI飼料, 実験4は25%SPI飼料をそれぞれ対照群(Control)とした。各実験には対照群, メチオニン(Met)を添加したMet群, コレステロール(Chol)とコール酸ナトリウム(Cholate)を添加したChol群, Cholと

CholateとMetを添加したChol+Met群を設けた。Metの添加量はカゼインまたはSPI 10g当たり0.3gの割合, CholとCholateの添加量はそれぞれ0.5%, 0.25%とした。なおMet, Chol, Cholateの添加分は小麦デンプンで調整した。

(2) 分析方法

飼育試験終了後、解剖当日の午前6時に摂取を中止させ、午後1時より1時間以内にエーテル麻酔下で頸動脈より採血し屠殺した。血漿はヘパリン塗布小型試験管に採取した血液より遠心分離機(3,000 rpm, 10 min.)で分離し、直ちに分析に供した。血漿総Chol(血漿Chol)は、血漿よりエチルアルコールとエチルエーテルの混液(3:1)で抽出し、Zak法¹⁹⁾で測定した。血漿遊離アミノ酸は、血漿の5倍量の1%ピクリン酸を加え除タンパク質後、その上清をDowex×50のカラムで脱ピクリン酸を行い、溶媒を除去した後一定量のpH 2.2のクエン酸緩衝液に溶解し分析に供した。分析は日立L-8500形アミノ酸自動分析計を用い、生体試料分析カラム法に従い分析した。トリプトファンの定量は行わなかった。肝脂質はFolchの方法²⁰⁾で抽出精製した後、溶媒を除去し、総脂質をエーテルに溶解して分析した。トリグリセリド(TG)はFletcher法²¹⁾、CholはZak法¹⁹⁾で分析した。実験データの有意差の検定は一次項分散分析によって行った。

3. 実験結果および考察

10%のカゼインまたはSPIを含む飼料に0.3%のMet, 25%含む飼料に0.75%のMetを添加し、成長、飼料摂取量、血漿のCholと遊離アミノ酸の変動を調べた。Table 2に示す通り、体重増加量と飼料摂取量は、両タンパク質ともChol添加の有無に関係なく、10%飼料ではMetの添加により有意に増加したが、25%飼料ではMetの添加による差異は観察されなか

Table 1. Composition of basal diet (%)

Ingredients	10% Protein diet	25% Protein diet
Casein or SPI* ¹	10.00	25.00
Lard	5.00	5.00
Mineral mixture* ²	4.00	4.00
Vitamin mixture* ²	1.00	1.00
Wheat starch	up to 100	

*¹ SPI: soybean protein isolate (Fujipro-R). *² Orientals mixture (obtained from Oriental Yeast Co. Ltd.).

血漿のコレステロール濃度と遊離アミノ酸濃度に及ぼすメチオニンの影響

Table 2. Effects of dietary cholesterol and methionine on the body weight gain and food intake in rats fed casein and SPI diets

Exp.	Diets	Body weight gain (g/3 weeks)	Food intake (g/3 weeks)
1	10% Casein (Control)	86.8± 3.3 ^c	362.4± 4.1 ^c
	+0.3% Met	139.4± 4.5 ^a	437.5± 9.6 ^a
	+Chol	60.6± 2.8 ^d	312.9±10.6 ^d
	+Chol+0.3% Met	110.8±11.3 ^b	396.4±11.8 ^b
2	25% Casein (Control)	132.6± 7.2	384.3±10.4
	+0.75% Met	136.0± 3.0	378.4± 8.6
	+Chol	135.6± 7.3	397.3± 8.0
	+Chol+0.75% Met	133.4± 5.2	381.6±14.9
3	10% SPI (Control)	23.0± 2.1 ^b	318.6± 5.5 ^b
	+0.3% Met	89.0± 5.4 ^a	396.1±10.4 ^a
	+Chol	21.8± 2.4 ^b	311.6± 7.5 ^b
	+Chol+0.3% Met	78.8± 6.0 ^a	387.7±17.3 ^a
4	25% SPI (Control)	134.8± 5.9	591.7±12.0
	+0.75% Met	144.8± 6.8	580.5± 9.2
	+Chol	140.2± 7.2	610.0± 9.4
	+Chol+0.75% Met	150.0± 2.9	602.3±11.7

+Chol, 0.5% cholesterol+0.25% sodium cholate; +0.3% Met, 0.3% methionine; +0.75% Met, 0.75% methionine. 10% SPI, 10% soybean protein isolate; 25% SPI, 25% soybean protein isolate. Values (means±SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a column of the same experiment are significantly different ($p<0.05$).

った。これらの結果、良く知られているように、両タンパク質の制限アミノ酸はMetであるが、ラットが必要とするMet量は25%レベルの飼料で充足された結果であると推察される。

一方、10%カゼイン飼料にCholの添加は、飼料摂取量と体重増加量の減少をもたらしたが、10%SPI飼料にChol添加ではそのような結果は得られなかった。原因は明らかではないが、10%カゼイン飼料と10%SPI飼料へのChol添加による飼料摂取量や成長におよぼす影響は異なると考えられる。先に、80%米飼料にCholateの添加で、Donryu系ラットの飼料摂取量が減少し、成長は著しく阻害されることを明らかにした²²⁾。したがって、本実験での10%カゼイン飼料にCholの添加で生ずる飼料摂取量の減少や成長阻害も、Cholとともに添加したCholateに起因すると推察される。なお、10%カゼイン飼料へのCholの添加による飼料摂取量の減少や成長阻害の原因は明らかではないので今後の検討が必要である。

カゼインまたはSPIを唯一のタンパク質源とした

飼料(10%と25%)にMet, Chol, Chol+Metをそれぞれ添加した飼料摂取によるラットの血漿Cholレベルの変動をFig. 1に示した。10%または25%カゼイン飼料、25%SPI飼料へのMetの添加は血漿Cholには有意な変化を与えなかったが、10%SPI飼料に対するMetの添加は血漿Cholの有意な低下をもたらした。両タンパク質とも、その含量に関係なくChol添加は血漿Cholの上昇を招き、その上昇は25%飼料摂取に比べ10%飼料摂取で顕著であった。しかし、Chol添加で生ずる血漿Cholの上昇は、Metの添加で有意に抑制され、そのレベルは25%SPI飼料を除き、それぞれ対照群(Control)の血漿Cholと差がなかった。

Metの血漿Cholへの影響についての検討は、カゼイン飼料にMetを添加した事例で多く行われている。その結果、Met添加で血漿Cholは変わらない²³⁾²⁴⁾か、上昇する²⁵⁾²⁶⁾データが報告され、その結果は一定しない。また、Metの添加量の違いによって、血漿Cholの応答が異なることを指摘した報告もある²⁷⁾。

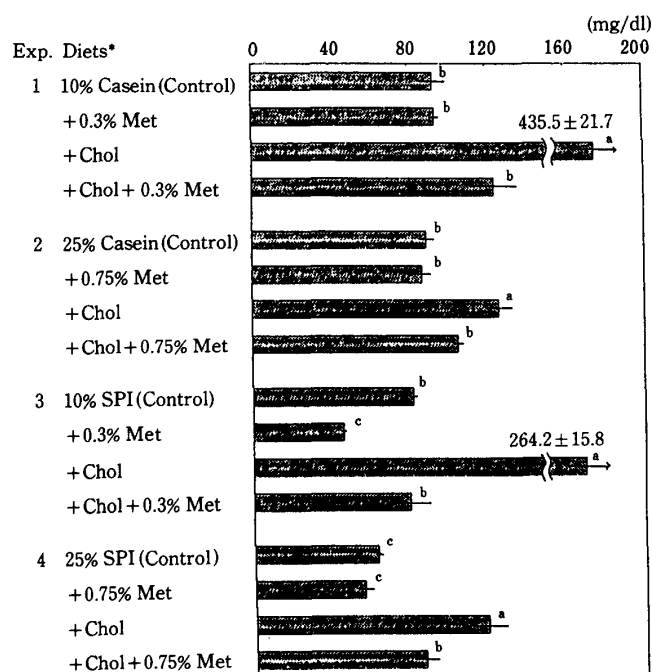


Fig. 1. Effects of dietary cholesterol and methionine on the plasma cholesterol level in rats fed casein and SPI diets

* See Table 2. Values (means±SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a column of the same experiment are significantly different ($p < 0.05$).

本実験での結果、カゼインをタンパク質源とした飼料の場合、その含量に関係なく、Metの添加による血漿Cholの変動は観察されなかった。しかし、SPIをタンパク質源とした場合Metの添加による血漿Cholは、10%飼料で低下したが25%飼料では差異はなく、飼料中のSPI含量の違いで異なる応答を示している。したがって、Cholを含まない飼料へのMet添加による血漿Cholの応答は、飼料中のタンパク質含量やMet添加量などの実験条件の僅かな違いで異なると推察される。なお本実験での10%カゼイン飼料と10%SPI飼料にMet添加で生ずる血漿Cholの応答の違いは、両タンパク質中の含硫アミノ酸含量の違いに起因すると思われる。

低カゼイン飼料(10~15%)へのChol添加で生ずる血漿Cholの上昇は、Met添加で有意に抑制される報告が多いが、その抑制の度合いは小さい³⁾¹⁶⁾。しかし、本実験での結果、Cholを含む10%カゼイン飼料や10%SPI飼料の摂取による血漿Cholは明らかにMetの添加で抑制されており、そのレベルは正常値

(Chol非添加飼料摂取ラットの血漿Cholレベル)を示し、Met添加によりCholの摂取量は増加するが、血漿Cholの上昇は顕著に抑制されることを示唆した。著者ら²⁸⁾は、本実験と同じCholを含む10%カゼイン飼料への0.3%のMet添加によって、血漿Cholの上昇を抑制し、その抑制はWistar系ラットに比べDonryu系ラットで顕著であることを明らかにした。したがって、Met添加による血漿Cholの応答は、日本で飼育されたDonryu系ラットは他の系統に比べ敏感であるように推察される。

20%または25%のカゼインを含む飼料¹⁶⁾や、20%または25%の大豆タンパク質を含む飼料²⁹⁾³⁰⁾へのChol添加で生ずる血漿Cholの上昇が、本実験での結果と同じようにMet添加で抑制される報告が見られる。したがって、ラットにとって適正なカゼインやSPIを含む飼料(20~25%)へのChol添加で生ずる血漿Cholの上昇もMet添加で抑制され则认为される。しかし、一方では本実験と同じCholを含む25%カゼイン飼料に0.75%のMetの添加は、血漿Cholの上昇をもたらし、本実験での結果と相反する結果の報告も見られる⁷⁾。

Cholを含む飼料にMet添加で生ずる血漿Cholの上昇抑制機構は未だ明らかではないが、MetはカゼインやSPIの制限アミノ酸であることから、Met添加でタンパク質の栄養価が向上し、飼料摂取量の増加などにより、摂取Cholの異化促進、CholやCholの代謝産物である胆汁酸の排泄促進などが促され、これが血漿Cholレベルの上昇抑制に関与していることも考察できる。今後、飼料による各必須アミノ酸供給の過不足と血漿Cholとの関連性の解明が必要であろう。

さらにMetによる血漿Cholの上昇抑制は、Met分子のメチル基やメチル基以外の分子に起因することを指摘する報告¹⁵⁾¹⁶⁾もあるので、幅広い検討が必要である。

Met, Chol, Chol+Metの添加による血漿遊離アミノ酸の変動をTable 3とTable 4に示した。

10%カゼイン飼料へのMet添加は、血漿のスレオニン(Thr)とセリン(Ser)の低下、タウリン(Tau)の上昇を生じた。しかし、25%カゼイン飼料へのMet添加はMetのみが上昇した。一方、10%または25%SPIを含む飼料に対するMet添加では、血漿のThrとSerが顕著に低下し、Tauが有意に上昇した。

今回、両タンパク質とも10%または25%の飼料にChol添加で、血漿のThrが特異的に低下した。また、

Table 3. Effects of dietary cholesterol and methionine on plasma free amino acid levels in rats fed casein diets ($\mu\text{M}/\text{dl}$)

Amino acids	Diet*				Amino acids	Diet*			
	10% Casein diets (Exp.1)					25% Casein diets (Exp. 2)			
	10% Casein	+0.3% Met	+Chol	+Chol +0.3% Met		25% Casein	+0.75% Met	+Chol	+Chol +0.75% Met
Thr	37.70±3.81 ^a	22.41±2.39 ^b	19.55±2.31 ^b	10.67±1.73 ^c	Thr	55.33±6.19 ^a	46.44± 3.38 ^{ab}	40.84± 2.97 ^b	40.50± 1.67 ^b
Val	18.86±1.18 ^a	18.10±0.58 ^{ab}	15.79±0.40 ^{bc}	13.50±1.04 ^c	Val	29.78±4.24	27.31± 1.52	26.24± 2.40	26.60± 2.25
Met	3.76±0.36 ^b	5.33±0.35 ^a	2.45±0.10 ^c	2.47±0.26 ^c	Met	4.14±0.24 ^b	8.10± 1.08 ^{ab}	3.35± 0.20 ^b	13.75± 5.83 ^a
Ile	9.11±0.57 ^a	7.83±0.39 ^{ab}	7.38±0.25 ^b	6.00±0.49 ^c	Ile	11.40±0.55	11.29± 0.60	10.11± 0.68	11.11± 1.00
Leu	12.32±0.95 ^a	12.14±0.51 ^a	9.55±0.34 ^b	8.86±0.58 ^b	Leu	18.20±0.75	18.48± 0.85	16.29± 1.21	17.69± 1.48
Phe	4.41±0.28 ^{ab}	4.77±0.22 ^a	3.43±0.12 ^c	3.81±0.23 ^{bc}	Phe	5.76±0.23	6.09± 0.49	6.18± 0.22	6.21± 0.40
Lys	33.33±2.61 ^a	33.31±2.28 ^a	20.96±0.53 ^b	23.73±0.94 ^b	Lys	52.95±2.70	54.90± 3.69	48.80± 5.08	52.95± 2.40
His	6.04±0.47 ^a	5.32±0.27 ^{ab}	6.10±0.25 ^a	4.95±0.28 ^b	His	6.49±0.29	6.45± 0.45	6.18± 0.37	6.88± 0.30
Arg	1.76±0.13	1.83±0.05	2.04±0.15	1.77±0.15	Arg	8.70±0.61	8.01± 0.80	7.37± 1.00	8.08± 0.55
Total EAA *	127.30±7.38 ^a	111.02±3.32 ^b	87.25±2.52 ^c	75.76±4.85 ^c	Total EAA *	192.74±8.15	187.08±10.48	165.35±12.66	183.76±12.16
Ser	42.70±3.36 ^a	27.80±0.65 ^b	39.67±2.57 ^a	30.06±0.39 ^b	Ser	27.10±1.47	23.74± 1.18	25.18± 2.08	24.47± 1.40
Glu	14.14±0.70	14.18±0.81	14.94±1.18	13.13±0.60	Glu	11.95±1.16	15.46± 2.10	14.02± 1.02	14.06± 0.90
Gly	33.56±2.68 ^a	28.85±1.35 ^{ab}	34.90±2.23 ^a	26.44±1.58 ^b	Gly	20.06±1.65 ^{ab}	19.02± 1.13 ^{ab}	22.00± 1.13 ^a	17.80± 0.87 ^b
Ala	47.41±4.07	51.92±0.84	52.20±1.83	47.03±3.52	Ala	49.13±1.47	52.40± 4.17	45.36± 4.41	52.30± 3.89
Tyr	7.69±1.13 ^{ab}	8.57±0.71 ^a	5.73±0.55 ^b	6.59±0.43 ^{ab}	Tyr	8.98±0.47	9.90± 0.73	8.98± 0.96	7.89± 0.62
Pro	23.03±4.03	20.98±1.40	17.85±0.48	17.34±1.04	Pro	36.32±2.01	37.69± 3.26	34.02± 4.77	36.16± 4.01
Tau	8.29±0.70 ^b	17.09±1.19 ^a	6.03±0.50 ^b	14.66±1.21 ^a	Tau	20.39±2.05	23.90± 3.38	16.49± 2.10	20.48± 2.26

* See Table 2. * Total EAA: Thr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His and Arg. Values (means $\pm$ SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a line of the same experiment are significantly different ($p < 0.05$).

Table 4. Effects of dietary cholesterol and methionine on plasma free amino acid levels in rats fed SPI diets ($\mu\text{M}/\text{dl}$)

Amino acids	Diet*				Amino acids	Diet*			
	10% SPI diets (Exp. 3)					25% SPI diets (Exp. 4)			
	10% SPI	+0.3% Met	+Chol	+Chol +0.3% Met		25% SPI	+0.75% Met	+Chol	+Chol +0.75% Met
Thr	44.80±4.09 ^a	5.92±0.18 ^c	26.15±2.67 ^b	6.32±0.68 ^c	Thr	37.71±2.13 ^a	22.18±2.43 ^b	23.72±1.24 ^b	20.56±0.62 ^b
Val	18.78±0.83 ^a	13.47±0.49 ^b	16.54±1.08 ^a	12.77±0.39 ^b	Val	19.40±1.43	17.04±1.05	19.11±0.94	17.40±0.65
Met	3.34±0.29	3.48±0.27	3.44±0.22	3.20±0.26	Met	4.33±0.14 ^b	5.89±0.66 ^a	4.00±0.16 ^b	3.81±0.32 ^b
Ile	9.54±0.46 ^a	7.58±0.19 ^{bc}	8.40±0.47 ^b	6.99±0.32 ^c	Ile	9.28±0.80	8.20±0.63	8.97±0.50	8.60±0.31
Leu	14.59±0.77 ^a	10.54±0.48 ^b	12.91±0.82 ^a	10.04±0.28 ^b	Leu	14.15±0.96	12.34±0.79	13.84±0.61	13.61±0.38
Phe	5.60±0.17 ^a	4.44±0.22 ^b	4.73±0.18 ^b	4.17±0.33 ^b	Phe	5.51±0.26	5.04±0.21	5.13±0.23	5.66±0.18
Lys	28.96±1.80 ^a	21.17±1.37 ^b	23.00±1.96 ^b	22.53±0.69 ^b	Lys	34.45±3.04	31.83±1.47	31.79±1.68	31.92±1.22
His	8.60±0.26 ^a	4.07±0.30 ^b	8.49±0.45 ^a	3.75±0.39 ^b	His	4.37±0.18 ^{ab}	4.24±0.29 ^b	4.86±0.20 ^a	4.45±0.08 ^{ab}
Arg	11.57±0.60 ^a	7.69±0.37 ^b	9.77±1.15 ^{ab}	8.23±0.41 ^b	Arg	11.96±0.82	13.58±1.21	12.14±1.24	12.40±0.76
Total EAA *	145.77±7.55 ^a	78.37±3.24 ^c	113.43±7.83 ^b	78.02±1.33 ^c	Total EAA *	141.18±5.28 ^a	120.34±7.20 ^b	123.56±5.53 ^b	118.41±0.73 ^b
Ser	65.82±1.82 ^a	38.03±1.56 ^c	58.14±2.59 ^b	40.48±2.02 ^c	Ser	31.10±1.69 ^a	17.31±1.13 ^b	27.23±1.74 ^a	18.62±0.33 ^b
Glu	18.62±1.78	22.17±4.16	19.10±1.51	17.92±1.90	Glu	12.06±0.67	10.64±0.77	12.14±0.36	11.93±1.24
Gly	41.08±2.64	41.40±3.01	37.67±2.68	37.44±2.51	Gly	31.86±1.18 ^a	26.41±1.84 ^b	34.04±1.36 ^a	24.96±0.62 ^b
Ala	43.71±2.79	49.66±4.09	49.23±3.77	45.58±4.42	Ala	33.58±3.09	30.87±2.69	36.52±1.28	33.06±1.11
Tyr	6.18±0.48 ^a	4.14±0.30 ^b	5.18±0.38 ^{ab}	4.64±0.43 ^b	Tyr	8.37±0.55 ^a	6.28±0.42 ^{bc}	7.48±0.75 ^{ab}	5.77±0.42 ^c
Pro	19.14±0.91	17.83±1.55	16.72±0.98	16.06±0.61	Pro	17.02±1.24 ^a	14.19±1.18 ^{ab}	14.30±1.73 ^{ab}	12.07±0.87 ^b
Tau	11.45±1.28 ^b	18.44±2.26 ^a	9.29±0.68 ^b	16.50±1.24 ^a	Tau	12.42±1.34 ^b	20.73±1.57 ^a	8.34±0.78 ^c	14.77±1.45 ^b

* See Table 2. * Total EAA: Thr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His and Arg. Values (means $\pm$ SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a line of the same experiment are significantly different ($p < 0.05$).

血漿のコレステロール濃度と遊離アミノ酸濃度に及ぼすメチオニンの影響

Chol 添加飼料に Met 添加は 25% カゼイン飼料を除き、血漿の Thr と Ser が低下し、Tau の上昇をもたらした。

低カゼイン飼料に少量の Met 添加で、血漿の Thr, Ser, グリシンの低下をもたらすことは知られている¹¹⁾。本実験でも 10% カゼイン飼料, 10% SPI 飼料, 25% SPI 飼料それぞれへ Met 添加により、血漿の Thr と Ser が低下した。このような現象は、Chol 添加飼料の場合でも生じた。さらに、肝臓や血漿の Thr は、Thr の不足飼料摂取で低下する報告³¹⁾、Thr を段階的に添加した飼料摂取で血漿 Thr は添加量に従って増加する報告なども見られる¹⁰⁾。このような報告から、血漿の Thr は飼料中の Thr の過不足（生体内の過不足）を敏感に反映するアミノ酸であると推察される。本実験での Met の添加で生ずる血漿の Thr の低下も、生体内での Thr の不足を示唆しているように推察される。Met 添加で生ずる血漿 Thr の低下は、Met の添加による成長促進が著しい場合顕著であることから、体タンパク質への Thr の取り込み促進が一つの要因であることが推察される。

Met 添加による血漿 Met の上昇は、Chol を含まな

い 10% または 25% カゼイン飼料, 25% SPI 飼料と Chol を含む 25% カゼイン飼料で観察されたが、その差は小さい。また、各飼料に Met 添加は、血漿 Tau が上昇した。このような結果は、Tau が Met の代謝中産物³²⁾であることによると推察される。

今回の結果は、各飼料に Chol 添加で血漿の Thr のみが特異的に低下し、Chol 摂取が血漿の Thr レベルの調節に関与していることが推察される。著者ら²²⁾は、米飼料に Chol 添加で Donryu 系ラットの成長は阻害され、血漿の Thr が低下したが、その飼料に Thr 添加で、血漿の Thr は上昇し成長阻害も抑制されることを明らかにした。したがって、本実験でのカゼイン飼料や SPI 飼料に Chol 添加で生ずる Thr の低下も、生体内での Thr の不足を示唆していると考えられる。これらの原因は明らかでないが、飼料中 Thr の消化吸收の阻害や Chol の代謝と Thr など多くの要因が考えられるので、さらに検討が必要である。なお、Nagata ら³³⁾も本実験での結果と同じ 25% のカゼインまたは SPI を含む飼料に Chol 添加で、血漿の Thr が特異的に低下することを明らかにした。摂取タンパク質のアミノ酸組成が血漿 Chol の変動要因

Table 5. Effects of dietary cholesterol and methionine on liver weight and liver lipids in rats fed casein and SPI diets

Exp.	Diets*	Liver weight (g/100 g B.W.)	Triglyceride (mg/g)	Cholesterol (mg/g)
1	10% Casein (Control)	4.7±0.1 ^b	9.5± 1.6 ^c	2.4±0.1 ^c
	+0.3% Met	5.1±0.1 ^b	62.1± 4.8 ^a	8.5±0.4 ^b
	+Chol	6.0±0.1 ^a	16.2± 2.1 ^c	42.0±2.4 ^a
	+Chol+0.3% Met	6.3±0.2 ^a	42.2±14.3 ^b	45.2±3.1 ^a
2	25% Casein (Control)	4.7±0.1 ^b	23.4± 4.4 ^c	3.7±0.2 ^c
	+0.75% Met	5.0±0.1 ^b	26.8± 3.7 ^{bc}	3.9±0.4 ^c
	+Chol	6.0±0.3 ^a	38.0± 4.9 ^b	45.1±1.4 ^a
	+Chol+0.75% Met	6.5±0.2 ^a	55.1± 4.8 ^a	37.0±2.0 ^b
3	10% SPI (Control)	4.0±0.2 ^c	10.4± 1.9 ^c	2.4±0.3 ^b
	+0.3% Met	4.9±0.2 ^b	52.5± 8.4 ^b	4.4±0.3 ^b
	+Chol	5.5±0.2 ^a	33.8± 3.9 ^b	61.7±5.2 ^a
	+Chol+0.3% Met	6.2±0.3 ^a	80.2± 9.4 ^a	56.2±2.2 ^a
4	25% SPI (Control)	4.2±0.1 ^c	8.6± 1.6 ^c	2.4±0.4 ^b
	+0.75% Met	4.5±0.1 ^c	17.8± 4.0 ^c	3.0±0.2 ^b
	+Chol	5.2±0.1 ^b	38.4± 5.4 ^b	35.8±2.0 ^a
	+Chol+0.75% Met	5.7±0.1 ^a	53.8± 6.2 ^a	31.8±1.8 ^a

* See Table 2. Values (means±SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a column of the same experiment are significantly different ($p<0.05$).

の一つであることは知られている。しかし、血漿 Chol と血漿遊離アミノ酸組成との関連で論及した報告は少ないが、大豆タンパク質摂取による血漿 Chol の上昇抑制と血漿中の特定なアミノ酸との関連性を指摘した報告がある³⁴⁾³⁵⁾。本実験での結果、Chol を含まない 10% カゼイン飼料と 10% SPI 飼料への Met 添加による血漿遊離アミノ酸組成は同じ傾向で変動したが、血漿 Chol の応答は一致しなかった。したがって、血漿遊離アミノ酸組成と血漿 Chol の変動との関連性は少ないように思われる。しかし、両タンパク質とも Chol 添加により血漿の Chol が上昇し Thr や Ser の低下、Chol 添加飼料への Met 添加により血漿の Chol が低下し Tau の上昇 (25% カゼイン飼料を除く) などが観察された。また、Chol を添加した場合、Met 添加による血漿の Chol と血漿の遊離アミノ酸組成、特に Thr の変動は、10% タンパク質飼料に比べ 25% タンパク質飼料で小さかった。これらの結果から、血漿 Chol の変動と血漿遊離アミノ酸組成や血漿中 Thr, Ser との関連性も考えられるので一層の検討が必要であると思われる。なお、Met の中間代謝産物である Tau の血漿 Chol の上昇抑制作用は知られている³⁶⁾³⁷⁾。したがって、血漿中 Tau の上昇が血漿 Chol の上昇抑制に関与していることも考えられる。

Met と Chol の添加で生ずる肝臓脂質の変動を Table 5 に示した。10% カゼイン飼料または 10% SPI 飼料の場合、Chol 添加の有無に関係なく、Met 添加は肝臓の TG が上昇した。このような現象は、Chol を添加した 25% 飼料の場合でも観察された。

低カゼイン飼料や低 SPI 飼料に少量の Met 添加は、本実験結果と同じようにアミノ酸インバランスを生じ、肝臓に脂質の蓄積を引き起こすことが知られている²⁵⁾。しかし、本実験では 10% のカゼインまたは SPI を含む飼料のみでなく、Chol を含む 25% 飼料への Met 添加でも肝臓に TG の蓄積を生じ、ラットに適正なカゼインまたは SPI を含む場合でも Met 添加でアミノ酸インバランスを生ずることが示唆された。

4. 要 約

10% レベルのカゼインまたは分離大豆タンパク質を含む飼料に 0.3% のメチオニン、25% レベルのカゼインまたは分離大豆タンパク質を含む飼料に 0.75% のメチオニンを添加し、血漿のコレステロールと遊離アミノ酸に及ぼすメチオニンの影響をコレステロール非

添加、添加の条件で検討した。

メチオニン添加による血漿コレステロールは、10% または 25% カゼイン飼料、25% 分離大豆タンパク質飼料では変動を示さなかったが、10% 分離大豆タンパク質飼料では有意に低下した。両タンパク質ともその含量に関係なく、コレステロール添加は血漿コレステロールを上昇した。しかし、その上昇はメチオニン添加で顕著に抑制され、その値はコレステロール非添加飼料と同じレベルであった。なお、コレステロール添加で生ずる血漿コレステロールの上昇は 25% 飼料に比べ 10% 飼料で顕著であった。コレステロール非添加の 10% カゼイン飼料や 10% 分離大豆タンパク質飼料にメチオニン添加は、血漿のスレオニンとセリンが低下し、タウリンが上昇した。このような血漿アミノ酸レベルの変動は、コレステロール非添加 25% 分離大豆タンパク質飼料にメチオニン飼料でも認められた。また、いずれの飼料でも、コレステロール添加は血漿スレオニンレベルの特異的な低下をもたらした。コレステロールを添加した飼料の場合、10% のカゼインまたは分離大豆タンパク質を含む飼料にメチオニンの添加は、血漿のスレオニンとセリンの低下、タウリンの上昇をもたらしたが、25% のカゼインまたは分離大豆タンパク質を含む飼料へのメチオニン添加による血漿遊離アミノ酸の変動は小さかった。

引 用 文 献

- 1) Nath, N., Harper, A. E. and Elvehjem, C. A.: *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 1375~1384 (1959)
- 2) Park, M.-S. C., Kudchodkar, B. J. and Liepa, G. U.: *J. Nutr.*, **117**, 30~35 (1987)
- 3) Sugiyama, K., Ohkawa, S. and Muramatsu, K.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 413~423 (1986)
- 4) Carroll, K. K. and Hamilton, R. M. G.: *J. Food Sci.*, **40**, 18~23 (1975)
- 5) Gibney, M. J.: *Proc. Nutr. Soc.*, **41**, 19~26 (1982)
- 6) Nath, N., Harper, A. E. and Elvehjem, C. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **77**, 234~236 (1958)
- 7) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M.: *J. Nutr.*, **112**, 1614~1625 (1982)
- 8) Sugiyama, K., Ozawa, M. and Muramatsu, K.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, 121~125 (1985)
- 9) McLaughlan, J. M. and Morrison, A. B.: *In* "Protein nutrition and free amino acid patterns" (ed. by Leatham, J. M.), University of Tokyo Press, Tokyo, 3~18 (1969)
- 10) 山田幸二, 広井 勝: 栄養と食糧, **29**, 29~34 (1976)
- 11) 守時圭子, 吉田 昭: 栄養と食糧, **23**, 351~355 (1970)
- 12) Jarowski, C. I. and Pytelewski, R.: *J. Pharm. Sci.*, **64**,

血漿のコレステロール濃度と遊離アミノ酸濃度に及ぼすメチオニンの影響

- 690~691 (1975)
- 13) Hagemeister, H., Scholz-Ahrens, K. E., Schulte-Coerne, H. and Barth, C. A.: *J. Nutr.*, **120**, 1305~1311 (1990)
 - 14) Aoyama, Y., Yoshida, A. and Ashida, K.: *J. Nutr.*, **97**, 348~352 (1962)
 - 15) Seidel, J. C., Nath, N. and Harper, A. E.: *J. Lipid Res.*, **1**, 474~481 (1960)
 - 16) 辻 啓介, 市川富夫, 河村雅子, 中川靖枝, 猪俣美和子: 含硫アミノ酸, **8**, 489~498 (1985)
 - 17) Sugiyama, K., Kushima, Y. and Muramatsu, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2897~2899 (1984)
 - 18) Bagchi, K., Ray, R. and Datta, T.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **13**, 232~237 (1963)
 - 19) Zak, B.: *Am. J. Clin. Pathol.*, **27**, 583~588 (1956)
 - 20) Folch, L., Lees, M. and Sloane-Stanly, G. H.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497~509 (1957)
 - 21) Fletcher, M. J.: *Clin. Chem. Acta*, **22**, 393~397 (1968)
 - 22) 山田幸二, 水野時子: 栄食誌, **43**, 413~419 (1990)
 - 23) 吉田 昭, 守時圭子, 野田克彦: 栄養と食糧, **19**, 291~295 (1966)
 - 24) Tanaka, K. and Sugano, M.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **35**, 323~332 (1989)
 - 25) Yokogoshi, H., Yasuda, A., Quazi, S. and Yoshida, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 2865~2873 (1985)
 - 26) Renaud, S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **21**, 452~455 (1966)
 - 27) Yagasaki, K. and Funabiki, R.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **36**, S165~S168 (1990)
 - 28) 水野時子, 山田幸二: 郡山女子大学紀要, 第29集, 35 (1993)
 - 29) Fillios, L. C. and Mann, G. V.: *Metabolism*, **3**, 16~26 (1954)
 - 30) 杉山公男: 栄食誌, **42**, 353~363 (1989)
 - 31) Yamasita, K. and Asida, K.: *J. Nutr.*, **99**, 267~273 (1967)
 - 32) Sturman, J. A. (伊藤蘆一 訳): 栄養誌, **45**, 3~9 (1987)
 - 33) Nagata, Y., Imaizumi, K. and Sugano, M.: *Br. J. Nutr.*, **44**, 113~121 (1980)
 - 34) Ikeda, A., Imaizumi, K. and Sugano, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1867~1872 (1993)
 - 35) Horigome, T. and Cho, Y. S.: *J. Nutr.*, **122**, 2273~2282 (1992)
 - 36) Sugiyama, K., Kushima, Y. and Muramatsu, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2897~2899 (1984)
 - 37) 辻 啓介, 関登美子, 岩尾裕之: 含硫アミノ酸, **2**, 143~159 (1979)