

肝オルニチン脱炭酸酵素活性を 指標とする分離大豆たん白質の 栄養価評価

●東京慈恵会医科大学…………… 林 伸一・野口民夫・村上安子

ポリアミン（プトレッシン・スペルミジン・スペルミン）は生物界全般に広く分布¹⁾、その生理的役割としては細胞の増殖・肥大との密接な関係が示唆されている^{2,3)}。動物細胞におけるポリアミン合成の律速酵素はオルニチン脱炭酸酵素（ODC）であるが、本酵素活性は細胞が増殖あるいは肥大を開始する初期に著明に上昇する。

我々は今までに、ラット肝の ODC 活性が食餌たん白質の摂取により、顕著に増加することを示すと共に、この増加度は食餌中のたん白質の含量ならびに、栄養価に依存することを見出している^{4,5)}。すなわち、トリプトファンとリジンの両必須アミノ酸を欠く低栄養価たん白質であるツェインは肝 ODC 誘導効果が非常に弱く、これらの両アミノ酸を添加するとカゼインに匹敵する効果が見られた。同様に、トリプトファンとメチオニンを欠くゼラチンはこれらの両アミノ酸を添加した場合にのみ強い肝 ODC 誘導効果を示した。

また、栄養価の異なる種々のたん白質をラットに与えて、体重増加量と肝 ODC 誘導効果の関係を調べたところ、この両者間には高い相関関係が存在することが認められた。このように反応がすみやかで、かつ組織の増殖・肥大と密接な関係のある ODC 活性を指標とするたん白質の栄養価評価は価値ある方法と考えられるので、我々は ODC 活性による分離大豆たん白質の栄養価の評価を試みた。

実験方法

4週齢の Sprague-Dawley 系雄性ラットを日本クレア株式会社より購入し、恒温（ $22\pm 1^\circ$ ）、恒湿（ $60\pm 5\%$ ）、人工照明（点灯 9 a.m.～9 p.m.）下の動物室で飼育した。食餌は毎日、午前10時から午後5時までの7時間だけ与えた。ODC 活性測定のためには、給餌前および給餌5時間後に、ラットを断頭により屠殺し、ただちに肝、腎および皮膚（背部）を取り出して氷冷し、0.25M シュク

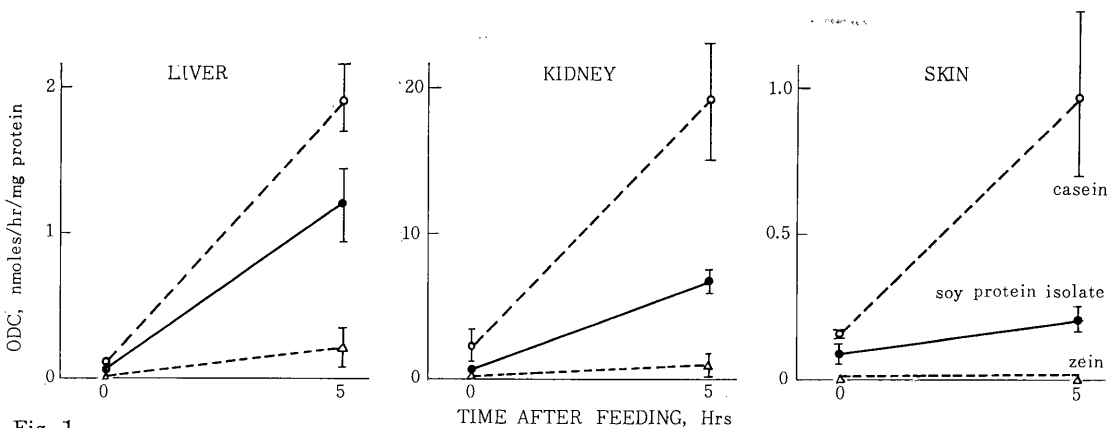


Fig. 1

Effect of dietary proteins on the activity of ornithine decarboxylase (ODC) in various tissues of rats. Rats which had been meal-fed (10 a.m.-5 p.m.) laboratory chow and then test diets one day were given test diets containing 50% protein at 10 a.m. Half of them were sacrificed at 10 a.m. and remaining rat 5 hrs later. Results are means $\pm$ S.D. for 4 rats.

コース, 1mM ジチオスレイトール溶液でホモゲナイズしてから, 30,000×g, 30分遠心し, 上清を粗酵素抽出液として使用した。ODC 活性の測定は, 次のように行った。

反応液は40mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4), 20 μ M ピリドキサールリン酸, 1.4mM ジチオスレイトール, 0.125 あるいは 0.25 μ Ci L-¹⁴C-DL-オルニチン, 0.4mM ML-オルニチンおよび粗酵素抽出液からなり, 全量を1.25 あるいは 2.5ml とした。反応は 50 μ l の 10%水酸化カリウムでしめらせた沓紙の入った center well をもつ密閉した 25ml のマイヤー中で 37°, 1時間行い, 6N 塩酸を加えて反応を止めた後, 沓紙に吸収された放射活性を測定した。キサンチン酸化酵素は 4匹のラットの肝抽出液をプールし, 透析した後, 脱水素酵素型の活性を Stirpe らの方法⁶⁾で測定した。たん白質量は牛血清アルブミンを基準とし, ビューレット法で求めた。

結果および考察

Fig. 1 は実験前日および当日に50%たん白質を含む合成食を与え, 給餌直前および給餌後5時間目の ODC 活性を調べたものである。すでに報告した成績と同様に, ツェインの摂取による肝 ODC 活性の増加はわずかで, カゼインの12%にすぎなかった。この傾向は腎や皮膚でも認められ, ツェイン食を摂取したラットの ODC 活性は腎でカゼインの6%, 皮膚では2%であった。分離大

Table 1. Effect of dietary proteins on the growth of rats.

Diet*	Daily body weight gain (g)	Relative body weight gain (g)	% to casein group
Protein-free	-1.00±0.57	0	0
Soy protein isolate	1.94±0.42	2.94	77
Soy protein isolate+1% Met	2.63±0.37	3.63	95
Soy protein isolate+2% Met	3.13±0.71	4.13	108
Casein	2.83±0.50	3.83	100

Rats were meal-fed (10 a.m. - 5p.m.) an equal amount of diets containing 10% protein for 6 days. Results are means±S.D. for 8 rats.

豆たん白質の場合はツェインとカゼインの中間値を示し, 肝ではカゼインの62%, 腎や皮膚では35%前後と, ツェインの場合と同様に, 肝に比べ腎や皮膚でより低値を示す傾向が見られた。

このように, 分離大豆たん白質の ODC 活性に対する効果は, 報告されている栄養価と同様にカゼインとツェインとの中間値を示したので, 次に分離大豆たん白質に対するメチオニン補足の影響を検討した。Table 1 に示すように, 分離大豆たん白質を与えたラットの体重比較量 (無たん白食飼育ラットとの体重増加量の差) はカゼインの場合の77%で, これに1%のL-メチオニンを補足すると, ほぼカゼインに匹敵する体重増加がえられ, 2%添加ではカゼインを少し上回った。この時の肝キサンチン酸化酵素の活性を測定すると, すでに村松ら⁷⁾により報告されているように体重増加とよく関連する値がえられた (Table 2)。

Table 3 は, 分離大豆たん白質にメチオニンを添加した場合の ODC 活性に与える効果を示したものである。この実験では実験当日に30%たん白食を含む試験食を与えた。分離大豆たん白質の摂取による ODC 活性の増加は, 肝では Fig. 1 と同様にカゼインの約60%であったが, 腎ではカゼインに近い値が得られた。皮膚では摂食直前の値が高かったためか, たん白質摂取による ODC 活性の増加は見られなかった。1%メチオニン補足の影響はどの組織でも顕著には認められなかったが, 2%メチオニンを添加すると興味あることに, 腎と皮膚で ODC 活性は著明に抑制された。

血漿必須アミノ酸パターンを調べると Table 4 のように, 摂食後必須アミノ酸は摂取たん白質の必須アミノ酸組成を比較的反映

Table 2. Effect of dietary proteins on hepatic xanthine oxidase activity.

Diet*	Xanthine oxidase (μ moles/hr/g liver)
Protein-free	2.8
Soy protein isolate	4.4
Soy protein isolate+1% Met	6.4
Soy protein isolate+2% Met	7.6
Casein	10.0
Laboratory chow	19.6

Rats were meal-fed (10 a.m. ~ 5p.m.) an equal amount of diets containing 10% protein for 10 days. Crude liver extracts from each group of 4 rats were combined and dialyzed. The enzyme activity was measured as a dehydrogenase by following the reduction of NAD.

Effect of L-methionine supplementation to soy protein isolate on the
Table 3. activity of ornithine decarboxylase (ODC) in various tissues of rats.

Diet	ODC activity (pmoles/hr/mg protein)		
	Liver	Kidneys	Skin
Fasted	3± 3	690± 120	870±130
Soy protein isolate	330± 80	3670±1030	710± 90
Soy protein isolate+1% Met	370±110	4520± 580	780±120
Soy protein isolate+2% Met	311±130	1100± 350	430±110
Casein	560± 40	4530±1030	940±240

* Rats which had been meal-fed (10a.m.~5p.m.) laboratory chow for one week were given test diets containing 30% protein. Half of them were sacrificed at 10 a.m. and remaining rats 5 hrs later. Results are means±S.D. for 4 rats.

して増加したが、2%メチオニンを補足すると分岐鎖アミノ酸とリジンの増加が抑制された。これが腸管からの吸収の抑制を示すのか、また腎や皮膚の ODC 活性の抑制と関係あるのかは興味ある問題である。

このように、分離大豆たん白質にメチオニンを添加すると、体重比較量、肝キサンチン酸化酵素活性から判断して、カゼインに匹敵する、あるいはそれ以上の栄養価がえられたが、ODC 活性に関しては顕著な補足効果は認められず、逆に2%添加では腎と皮膚での抑制が見られた。この理由は明らかでないが、今回 ODC 活性は摂食開始後5時間目しか調べていないので、この酵素が非常に速い代謝回転を営んでいることを考えると、各実験食で各組織の ODC 活性のタイムコースを調べる必要があると思われる。今後、ODC 活性が摂取たん白質の栄養価をもっとも良く反映する実験条件を検討して、ODC 活性を指標とするたん白質栄養価評価法を確立するとともに、大豆たん白質の栄養価評価を試みたい。

Table 4. Effect of dietary proteins on plasma amino acid pattern.

Amino acid	Plasma concentration (pM/l)				
	Fasted	SI	SI 1% Met	SI 2% Met	Casein
Met	26	34	86	199	168
Leu	129	309	307	250	424
Ile	75	210	215	169	245
Val	145	362	375	294	603
Lys	496	612	556	514	805
Arg	98	251	291	266	114
His	55	118	138	120	162
Try	38	142	132	155	150
Phe	58	123	115	110	134
Thr	213	495	540	482	773
NEAA	2558	4015	4302	4200	5401

Plasma samples from each group of 4rats used in the experiment of Table 3 were combined for amino acid analysis. SI, Soy isolate. NEAA, Nonessential amino acids.

文 献

- 1) Tabor, H. and Tabor, C.W. (1964): Spermidine, spermine, and related amines. *Pharmacol. Rev.*, **16**, 245-300.
- 2) Russel, D.H. (Ed.) (1973): In Polyamine in Normal and Neoplastic Growth. Raven Press, New York, pp. 1-429.
- 3) Kameji, T., Murakami, Y. and Hayashi, S. (1979): Effect of diaminobutene and diaminopropane on diet-stimulated polyamine synthesis and cell proliferation in rat liver. *J. Biochem.*, **86**, 191-197.
- 4) Hayashi, S., Aramaki, Y. and Noguchi, T. (1972): Diurnal change in ornithine decarboxylase activity of rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 795-800.
- 5) Noguchi, T., Aramaki, Y., Kameji, T. and Hayashi, S. (1979): Correlation between circadian rhythms of polyamine synthesis and cell proliferation in rat liver. *J. Biochem.*, **85**, 953-959.
- 6) Stirpe, F. and Della Corte, E. (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of the enzyme activity

from dehydrogenase (Type D) to oxidase
(Type O). *J. Biol. Chem.*, 244, 3855-3863.
7) Muramatsu, K. and Ashida, K. (1962):

Relation between nutritive value of dietary
protein and liver xanthine oxidase activity
in young rats. *Agr. Biol. Chem.*, 26, 25-29

EVALUATION OF NUTRITIVE VALUE OF SOY PROTEIN ISOLATE USING HEPATIC ORNITHINE DECARBOXYLASE ACTIVITY AS A MARKER

Shin-ichi HAYASHI, Tamio NOGUCHI and Yasuko MURAKAMI

Department of Nutrition, Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

We have previously shown that dietary induction of hepatic ornithine decarboxylase (ODC) depended not only on the quantity but also on the nutritive value of dietary protein. In the present study we attempted to evaluate nutritive value of soy protein isolate by ODC activity of liver and other tissues of the rat. Feeding 50% casein diet caused marked induction of ODC activity in liver, kidneys or skin in 5 hours while 50% zein diet had only negligible effect. Soy protein isolate produced ODC induction of intermediate degree in all the tissues. Relative growth rate obtained with 10% soy protein isolate was 77% of that with casein, while supplementation of 1 or 2% methionine to soy protein isolate improved the value to 95 or 108%, respectively. Methionine supplementation similarly improved hepatic xanthine oxidase level. When tested at 30% protein level, supplementation of 1% methionine slightly improved ODC level of three rat tissues. Unexpectedly, however, supplementation of 2% methionine significantly depressed the ODC levels. The reason for the discrepancy between these parameters remains to be elucidated.

最近の大豆たん白質栄養研究に関する報告 ④

- Biological effects of alkali-treated soya protein and lactalbumin in the rat and mouse.
Karayiannis, N. I./Macgregor, J. T./Bjeldanes, L. F. *Food Cosmet. Toxicol.* 17 (6) 591-604, '79.

- Lowering of cholesterol levels by adding pectins and soybean proteins to a reduced diet.
Liebermeister, H./Tolupur, H. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 105 (10) 333-338, '80.