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(その2)

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

林 伸一・村上安子・原 淑子・野口民夫^{*}(東京慈恵会医科大学 栄養学教室) Shin-ichi HAYASHI, Yasuko MURAKAMI, Yoshiko HARA, and Tamio NOGUCHI Department of Nutrition, Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

We attempted to demonstrate whether hepatic ornithine decarboxylase (ODC) activity of rats could be a good marker for the nutritive value of dietary proteins by comparing casein and soy protein isolate. In some disagreement with last year's results, soy protein isolate gave ODC activity not significantly different from that given by casein either in liver or in kidneys. Methionine supplementation did not show any stimulatory effect. It was concluded that, in contrast to proteins of very low nutritive value such as zein, gelatin or hemoglobin, soy protein isolate is as good as casein in inducing ODC activity, although it has lower nutritive value than casein. Feeding of zein or hemoglobin was found to be followed in 3 to 4 hours by a marked decrease in plasma concentrations of their limiting amino acids, namely tryptophan and lysine or isoleucine, respectively. In contrast to this, feeding of soy protein isolate was followed in 5 hours by 30% rise in plasma concentration of methionine. Since dietary induction of ODC is a rapid process completing in several hours it may be most affected by plasma amino acid concentrations during several hours after feeding. This seems to explain the discrepancy between ODC induction by and nutritive value of soy protein isolate.

酵素活性を指標とするたん白質の栄養価評価法として は、すでに村松らによってラット肝キサンチン酸化酵素 による方法が報告されているが、この方法では被験食に よる10日間の飼育が必要とされている¹³。私共はラット 肝オルニチン脱炭酸酵素 (ODC) が鋭敏な指標として栄 養価判定に使用できるのではないかと考えた²³。本酵素 活性は細胞増殖速度とよく相関し、たん白質摂取によっ て数時間内に迅速な活性上昇を示す²³。これは本酵素が 十数分という短い半減期をもって代謝回転するためであ る。さらに、これまでの研究によって、低栄養価たん白 質であるツェインやゼラチンは肝 ODC 誘導効果が非常 に弱く、欠損アミノ酸であるトリプトファンとリジン、 あるいはトリプトファンとメチオニンをそれぞれ補足す るとカゼインに匹敵する誘導効果を示すことをみいだ し²⁾、同様にヘモグロビンも欠損するイソロイシンの補 足が有効であることをみとめている(未発表)。

昨年度の本研究では、分離大豆たん 白質 に ついて, ODC による栄養価評価を試みた。 その結果, 肝, 臀お よび皮膚のいずれの組織においても、分離大豆たん白質 の摂取による ODC 誘導効果はカゼインには劣るがツェ インには優るという結果を得たが、分離大豆たん白質に 対するメチオニン補足の効果は明確ではなかった³⁰。 そ

* 現大阪大学医学部栄養学教室

こで本年度の研究では、 ODC 活性が食餌たん白質の栄 養価を 100 パーセント反映する指標たり得るか否かを分 離大豆たん白質(±メチオニン)を用いて明確にしよう とした。

実 験 方 法

実験動物としては, 4 週齢の Sprague-Dawley 系の 雄性ラットを日本クレア㈱より購入し, 恒温(22±1℃), 恒湿(60±5%), 人工照明(点灯 9a.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時までミール・フィ ーディングによって与えた。合成食は,ビタミン混合1 %,塩混含4%,セルロース粉末2%,油混合2%,塩 化コリン0.1%,ショ糖10%をふくみ,残りの81%はた ん白質およびデキストリンで調製した。

組織の粗抽出液の作製および ODC 活性の測定は昨年 度に報告したのと同様の方法で行った³⁾。

血漿遊離アミノ酸濃度は、断頭により採取した血漿を 直ちに1.5倍量の冷5%ズルホサリチル酸溶液と混合し、 1時間氷冷保存後、10,000×gで20分間遠心した上澄に ついて、JCL 6AH アミノ酸分析器により測定した。

結果および考察

Fig. 1 は50%たん白質をふくむ被験食を摂食させたラ ットの肝および腎 ODC 活性誘導の時間経過を示す。い ずれの場合も、分離大豆たん白質はカゼインとほとんど 同一の ODC 誘導効果を示し、1%および2%のメチオ ニンを補足した分離大豆たん白質の場合にも有意の差が みとめられなかった。また、あらかじめ10%たん白質を ふくむ被験食で6日間ミール・フィーディングによる飼 育を行ったのち、30%たん白質を含む被験食を与え、5時 間後に屠殺して調べたところ分離大豆たん白質群はカゼ イン群に比し肝 ODC 活性はむしろ高値を示し、腎 ODC 活性は差がなかった。メチオニンの補足も有意の差を示 さなかった。昨年度の成績と総合的に判断した結果、分 離大豆たん白質は、ツェイン、ゼラチン、ヘモグロビン などの低栄養価たん白質と異なり、 ODC 活性を指標と すればカゼインに匹敵する良質たん白質であると結論し た。

しかしながら,私供自身も昨年度に報告したように, ラットの成長あるいはラット肝キサンチン酸化酵素を指 標とすると,分離大豆たん白質の栄養価はカゼインより もかなり低く,2%メチオニン補足によって改善され る。このような不一致はいかなる原因によっておこるの であろうか。すでに報告したように,小麦グルテンも栄 養価はあまり高くないにもかかわらず肝 ODC 誘導効果 は卵アルブミンやカゼインと変わらなかった²⁾。

分離大豆たん白質や小麦グルテンの場合にみられる栄 養価とODC 誘導効果との不一致の原因を検討するた め、30%たん白食摂取後5時間目の血漿遊離アミノ酸濃 度を測定したところ、すでに昨年度に報告したように、 メチオニンの濃度は絶食時に比しカゼイン摂取後は6倍 に増加し、分離大豆たん白質摂取後は1.3倍に増加した。 分離大豆たん白質にメチオニンを1%および2%補足し た場合にはメチオニン濃度はそれぞれ絶食時の3倍、8 倍に増加した。このように、第一制限アミノ酸であるメ チオニンの血漿中濃度が、分離大豆たん白質摂取5時間 後には軽度ながら上昇している事実は注目に値する。



□: Soy protein isolte + 2% Met

Fig. 1 Effect of soy protein isolate with or without menthionine on ODC activity in liver and kidneys of rat. Rats which had been meal-fed (10 a.m.-5 p.m.) laboratory chow for 10 days and then test diets for 1 day were given test diets containing 50% protein with or without supplementation at 10 a.m. Results are means of 4 rats.

そこで, ODC 誘導効果をほとんど示さないツェイン ならびにヘモグロビンを摂取したのちの血漿遊離アミノ 酸濃度を測定した。Table 1 にそれぞれの制限アミノ酸 ならびにそれ以外の必須アミノ酸濃度を絶食時濃度に対 するパーセントで表示した。表から明らかなように, ツ ェイン摂取後にはリジンとトリプトファンがそれぞれ絶 食時の10%および33%に低下し,またヘモグロビン摂取 後にはイソロイシンが7.7%に低下したのが注目される。 これら制限アミノ酸を補足した食餌を与えた場合には, 上記のような低下が完全に防止された。肝臓内の遊離ア ミノ酸濃度もほぼ血漿中濃度と平行する変動を示した。

ODC の誘導はたん白食 摂取後数時間内にピークに達 する極めて速かな反応であるので,この時期に特定の必 須アミノ酸の血漿中濃度,ひいては肝臓内濃度が顕著に 低下する場合には ODC の合成が障碍されるであろうこ とは容易に理解できる。しかし分離大豆たん白質摂取後 の数時間は制限アミノ酸であるメチオニンの血漿中濃度 は低下せずむしろ軽度ながら上昇する。このため ODC 誘導が支障なく行われるものと考えられる。

これに対し、10%たん白食のミール・フィーディングに よって10日間飼育したのち、空腹時に断頭採血したラットの血漿遊離アミノ酸濃度を調べたところ、Table 2 に 示すように、分離大豆たん白質の場合にはメチオニンの 濃度がカゼインの場合の50%以下に低下し、無たん白食 の場合に比べてもより低値であった。他の必須アミノ酸 には、メチオニンほど顕著な低下を示したものはなかっ た。すなわち分離大豆たん白質におけるメチオニンの欠 乏は空腹時の血漿アミノ酸パターンに明確に反映した。

以上を要約すると, 肝あるいは腎の ODC 活性は食餌 たん白質に対する反応が迅速であるために, 分離大豆た ん白質やグルテンによってカゼインや卵アルブミンによ るのと同様に顕著に誘導されるものと結論しうる。した がって, ODC 活性は栄養価判定の指標としては問題が あるといえる。

文 献

- 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.
- 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.
- 3) 林伸一,野口民夫,村上安子(1980):分離大豆たん 白質の栄養価評価,大豆たん白質栄養研究会会誌,
 1,39-42.

Protein	Amino acid	Plasma concentration ^a (% of that in starved rat)		
		Control	Supplemented	
Zein	Lysine	10	123	
	Tryptophan	33	204	
	Other EAA ^c	70	56	
Hemoglobin	Isoleucine	7.7	94	
	Other EAA	125	121	
Soy protein isolate	Methionine	130	330	
	Other EAA	201	204	

Table 1. Plasma amino acid concentrations after feeding proteins with or without amino acid supplementation

- a: Rats had been meal-fed with laboratory chow for 1 week. They were sacrificed 3 hr after feeding 25% zein, 4 hr after feeding 25% hemoglobin, or 5 hr after feeding 30% soy protein isolate. Blood samples of 4 rats of each group were pooled for amino acid analysis.
- b: Zein was supplemented with 1.5% tryptophan and 7% lysine, hemoglobin was supplemented with 6% isoleucine, and soy protein isolate was supplemented with 1% methionine.
- c: EAA, essential amino acids.

Amino acid		Plasma concentration $(\mu moles/l)$					
	NP	SI	SI 1% Met	SI 2% Met	Caseir		
Met	16	13	21	27	27		
Leu	57	87	89	109	100		
Ile	35	46	45	57	63		
Val	72	104	109	128	137		
Lys	376	469	311	300	387		
Arg	131	108	100	98	113		
His	101	73	71	66	60		
Trp	t	t	t	t	t		
Phe	34	42	40	46	43		
Thr	182	532	246	149	394		
NEAA	2450	2430	2480	2720	2570		

Table 2. Effect of dietary proteins on plasma amino acid concentrations at starvation.

Rats which had been meal-fed 10% protein diets or a protein-free diet were sacrificed 17 hr after the removal of last food. Blood samples of 4 rats of each group were pooled for amino acid analysis.

NP, protein-free; SI, Soy protein isolate; NEAA, non-essential amino acids; t, trace.