

大豆および分離大豆たん白質への 含硫アミノ酸補足効果

SUPPLEMENTAL EFFECT OF METHIONINE AND CYSTINE TO DIETS CONTAINING SOYBEAN OR A SOY PROTEIN ISOLATE

吉田 昭・横越英彦・河合京子（名古屋大学農学部栄養化学教室）

Akira YOSHIDA, Hidehiko YOKOGOSHI and Kyoko KAWAI

Department of Agricultural Chemistry, Nagoya University

ABSTRACT

It has been reported that the supplementation of cystine to a diet containing raw soybean protein stimulates the growth of rats whereas the similar supplementation of cystine to a diet containing the soy protein isolate is not effective. We assumed the difference would be due to the presence of trypsin inhibitor which stimulates the excretion of trypsin and chymotrypsin and produces pancreatic hypertrophy. We compared the supplemental effects of methionine and cystine to diets containing raw soybean, heated soybean or a soy protein isolate.

Male young rats of the Wistar strain weighing about 90 g were used. Experimental diets contained 10% of protein as raw soybean, heated soybean or soy protein isolate (Fujipro R). Supplementation of 0.3% of methionine to these diets stimulated the growth significantly only when the basal diet contained the raw soybean. Pancreas weights of rats fed the raw soybean diets were also significantly higher than those fed the heated soybean diets or soy protein isolate.

Liver polysome patterns were improved by the supplementation of the S-amino acids. In the group of rats fed the raw soybean diet, cystine supplementation was more effective than methionine supplementation.

In the next experiments, rats were previously injected with ^{35}S -methionine and then fed either the raw soybean diet or the heated soybean diet. Feces were collected for the first 3 days and ^{35}S contents were determined.

The group of raw soybean diet excreted more ^{35}S in feces than the group of heated soybean diet.

These results indicate the supplementation of cystine is effective only when the soybean protein contained trypsin inhibitor and excreted more S-amino acid, especially cystine as pancreatic proteases.

さきに、われわれは脱脂生大豆に含硫アミノ酸を補足する際、メチオニン添加で著しく成長が増加するばかりでなく、文献にもみられるように、シスチンでも明らかに補足効果のあることを示した¹⁻³⁾。一方、昨年度の本

報告会において井上ら⁴⁾は分離大豆たん白質（フジプロ R）ではメチオニン添加は有効であるが、シスチンの添加は効果がないばかりでなく、かえって成長割合が低下することを示した。生大豆たん白質と分離大豆たん白質

に対するこのような含硫アミノ酸の補足効果の差異に関し、われわれは生大豆ではトリプシン阻害物質（あるいは胰臓肥大物質）が存在するため、シスチン含量が生体の他の組織成分より著しく高くトリプシンやキモトリプシンの分泌が促進するため、シスチンの添加でも有効であるが、分離大豆たん白質ではトリプシン阻害物質が大部分除かれているためシスチン要求量が少なく、メチオニンでなければ効果がないもので推定した。このような可能性を検討するため、分離大豆たん白質（フジプロ R）、生大豆、加熱大豆に対するメチオニン、シスチンの補足効果を比較するとともに、胰臓の肥大の有無や、腹腔内注射した ^{35}S -メチオニンの糞への排泄や体内保留状況について観察した。また、含硫アミノ酸補足と肝ポリゾームパターンについても検討した。

実験方法

〔実験 1〕では初体重約 90g の Wistar 系雄ラットを 1 群 6 匹として用いた。分離大豆たん白質は、フジプロ R を、大豆は低湿脱脂粉末をそのまま、あるいは 120 度に 20 分蒸気加熱して飼料のたん白源とした。基本飼料はたん白質 10% (N×5.71) とし、飼料および水は自由に摂取させた。含硫アミノ酸は L-メチオニン、または、L-シスチンを 0.3% 添加した。ラットは 2 週間飼育し、飼料摂取量、体重増加量を測定した。屠殺後、胰臓重量、肝臓重量を測定、また、肝臓についてはたん白合成の指標として肝ポリゾームパターンも測定した。

〔実験 2〕ではラットに ^{35}S -メチオニン (50 μC) を腹腔内注射して後、生大豆食または加熱大豆食にて 3 日間飼育し、その間の糞、尿を採取、 ^{35}S の排泄を測定した。さらに、屠殺後臓器中の ^{35}S 保留量、 ^{35}S のメチオニン、シスチンの分布比について調べた。

結果と考察

実験 1 におけるラットの体重増加、飼料摂取量などを Table 1, Fig. 1 に示す。生の大豆飼料群の飼料摂取量は 1 日約 10g で分離大豆たん白群と殆んど同じであった。加熱大豆群では僅かに多かった。含硫アミノ酸の補足によって飼料摂取は余り変わらなかった。

加熱大豆群や分離大豆たん白群ではメチオニンの添加で体重増加は顕著に改善された。しかし、いずれの群でもシスチンによる補足効果は認められなかった。ただしシスチンの添加によって成長が低下するようなことはなかった。分離大豆たん白群は加熱大豆群よりも成長は低かった。ところが、生大豆群では含硫アミノ酸無添加の場合体重増加量は 2 週間で僅かに 7.1g であったが 0.3% のメチオニンの添加で 36.1g と著しく増加し、また 0.3% のシスチンの添加でも 16.6g とメチオニンの補足には及ばなかったが明らかな効果が認められた。

つまり、加熱大豆のようにトリプシン阻害物質を失活させたものや、分離大豆たん白質のようにトリプシン阻害物質の大部分が除かれている場合にはシスチンは無効か、ごく僅かな効果しか示さないことが分かった。このことと関連して、体重 100g 当たりの胰臓重量は生大豆群では含硫アミノ酸の添加の有無にかかわらず、加熱大豆群や分離大豆たん白群に比し約 2 倍の 400mg であり、明らかに肥大していることが認められた (Table 2)。

分離大豆たん白群では加熱大豆群と殆んど同重量であるので、トリプシン阻害物質は殆んど除かれていることが分る。このようなことは生大豆群ではトリプシン阻害物質の存在のため、より多くのトリプシン、キモトリプシンを生産、分泌するため胰臓が肥大しているものと考えられる。トリプシンやキモトリプシンは生体組織中の

Table 1. Changes in body weight and food intake of rats fed raw-, heated- or soy protein isolate diets supplemented with Met or Cys for 2 weeks

Diet	Changes in BW for 2 wks	Food intake	
		day 1	day 2
	g	g/day	
(1) 10% Raw soy bean	7.1 $\pm$ 3.0	10.2	11.5
(2) " +0.3% Met	36.1 $\pm$ 2.9	10.8	13.1
(3) " +0.3% Cys	16.6 $\pm$ 1.9	11.3	10.8
(4) 10% soy bean Heate	32.1 $\pm$ 1.8	11.7	14.6
(5) " +0.3% Met	53.4 $\pm$ 3.8	13.5	14.1
(6) " +0.3% Cys	29.7 $\pm$ 2.9	10.8	11.9
(7) 10% Soy prot. isolate	23.5 $\pm$ 2.8	9.7	11.9
(8) " +0.3% Met	45.4 $\pm$ 1.2	10.7	10.9
(9) " +0.3% Cys	27.9 $\pm$ 2.3	11.0	10.5

Means $\pm$ SD of six rats per group
10% net protein content
Soy protein isolate, Fujipro R

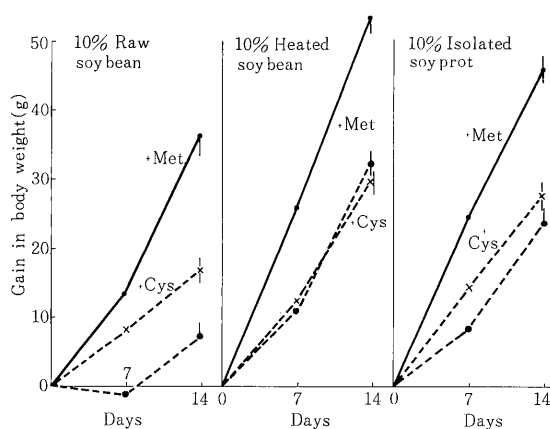


Fig. 1 Gain in body weight of rats fed raw, heated- or soy protein isolate diets supplemented with Met or Cys for 2 wks

他の成分に比しシスチンの含有量が著しく高く 4.6~5.3g/gN である (Table 3)。

また、メチオニンの含有量は低い (0.8~1.2g/gN)。筋肉や肝臓のシスチン量はメチオニン量より低く、心臓、腎臓ではほぼ等しい。肺、脾臓、脾臓では逆に高いが、からだ全体としてはシスチンとメチオニンの比は大体 1.4:2.1 でメチオニンの含量が高い。トリプシン、キモトリプシンのシスチン含量は特異的に高いと考えられる。したがって、このような消化酵素の分泌が促進されると相対的にシスチンの必要量が増加し、シスチンの添加でも効果が出るものと考えられる。

生大豆群で脾臓の肥大とともに実際にシスチンを多く含む消化酵素の分泌が増加しているかどうかを調べる目的で、実験2では注射した ^{35}S -メチオニンの ^{35}S が糞中に排泄される割合が生大豆と加熱大豆でどのように異なるかを調べた。注射後3日間に糞中に排泄された ^{35}S の量は加熱大豆群の 7.1% に対し、生大豆群では 10.4% と

Table 3. Contents of S-amino acids in tissues and pancreatic enzymes¹

Organs or Enzymes	g/16gN	
	Cys	Met
Muscle	1.4	2.5
Liver	1.7	2.3
Heart	2.2	2.3
Kidney	2.1	2.1
Lung	3.3	1.7
Spleen	2.7	1.7
Pancreas	3.2	1.9
Whole body	1.4	2.1
Chymotrypsin	4.6	1.2
Trypsin	5.3	0.8

1: R.J. Block and K.W. Weiss: Amino Acid Handbook.

Table 2. Changes in liver weight, pancreas weight and hepatic polysome profiles of rats fed raw-, heated- or soy protein isolate diets supplemented with Met or Cys for 2 wks.

Diet	Liver wt g/100gBW	Pancreas wt g/100gBW	Monomer-dimers per total ribosomes (%)
(1) 10% Raw soy bean	4.96±0.43	0.431±0.027 ^a	41.4±3.7 ^a
(2) " +0.3% Met	4.62±0.13	0.364±0.018 ^b	35.8±0.7 ^b
(3) " +0.3% Cys	4.21±0.25	0.403±0.020 ^a	29.8±0.6 ^c
(4) 10% Soy protein isolate	4.46±0.34	0.186±0.011 ^c	32.3±1.0 ^c
(5) " +0.3% Met	4.77±0.15	0.183±0.015 ^c	28.9±3.7 ^{cd}
(6) " +0.3% Cys	4.59±0.16	0.191±0.008 ^c	26.2±1.3 ^d
(7) 10% Soy protein isolate	4.09±0.22	0.196±0.013 ^c	35.6±0.9 ^b
(8) " +0.3% Met	4.58±0.37	0.182±0.014 ^c	28.2±2.1 ^{cd}
(9) " +0.3% Cys	4.45±0.21	0.188±0.009 ^c	29.9±1.3 ^c

Means ± SD. of six rats per group, 10% net protein contents
Values with different alphabetical superscripts within a column are significantly different (P < 0.05)

有意な増加を示した。脾臓中の ^{35}S の量も加熱群の0.52%に対し、生の群では0.61%と増加していた(Table 4)。

このようなことから、体内のより多くの ^{35}S が消化酵素などの形で腸管に放出されていることが示される。尿中の ^{35}S が増加していることが ^{35}S -メチオニンの分解促進を示すものかどうかは今のところ明らかではない。

シスチンのメチオニン節約作用に関し、古く Womack ら⁹⁾は全含硫アミノ酸の6分の1をシスチンで代替できうると述べているが、その後 Rama Rao⁶⁾は68%を、Sowers ら⁷⁾は64%を幼ラットの成長に対して置換しうると報告している。また、成熟ラットのN-平衡に対しては Womack ら⁹⁾は71%と述べている。宮崎ら⁹⁾のデータでは33%である。このように含硫アミノ酸の中でシスチンで代替しう割合は研究者によってかなりの幅があるので動物や飼料条件によってもかなり影響するものと考えられる。

分離大豆たん白質(フジプロR)のメチオニンおよびシスチン含量はそれぞれ0.081g/gN, 0.93g/gNでシスチンの占める割合は53%であるから、本実験結果のようにシスチン添加ではごく僅かしか効果がみられなかったことは十分理解できる。前述の如くからだ全体としてはシスチンは含硫アミノ酸の約40%であり、それにもかかわらず全含硫アミノ酸の60~70%をシスチンで置換えうることは興味深い。体内のシスチンの代謝回転はメチオニンよりかなり速いのかもしれない。

大豆や分離大豆たん白質に含硫アミノ酸を補足すると肝ポリゾームパターンは Table 2 に示すように一般に改善されている。加熱大豆や分離大豆たん白質の場合にはメチオニンでもシスチンでも同様の効果であり、生大豆の場合にはむしろシスチンの効果が大きい。肝たん白そのものはシスチンよりむしろメチオニンが多いが、肝は分泌たん白質である血清アルブミンの合成の場でもあり、血清アルブミン中のシスチンとメチオニンの割合は4.5対1であるので、肝ではシスチンの要求量が意外に高いのかもしれない。

また、さらに生大豆の場合にはトリプシン、キモトリプシンの分泌が高まり、シスチン要求がさらに高くなるため、シスチンの添加の方がポリゾームパターンが改善されるのかもしれない。これらの点についても今後検討することが必要であろう。

文 献

- 1) Hayward, J.W. and Hafner, F.H. (1941): The supplementary effect of cystine and

Table 4. Distribution of injected ^{35}S (%)

	Raw	Heated
Feces	10.4 $\pm$ 0.96	7.12 $\pm$ 0.64
Urine	9.93 $\pm$ 0.66	6.86 $\pm$ 0.26
Liver	5.08 $\pm$ 0.21	5.40 $\pm$ 0.24
Pancreas	0.613 $\pm$ 0.029	0.520 $\pm$ 0.031

methionine upon the protein of raw and cooked soybeans as determined with chicks and rats. *Poultry Sci.*, 20, 139-150.

- 2) Hayward, J.W., Steenbock, H. and Bohstedt, G. (1936): The effect of cystine and casein supplements upon the nutritive value of the protein of raw and heated soy beans, 12, 275-283.
- 3) 吉田昭, 桐山修八, 守時圭子(1968): 生大豆による成長阻害と含硫アミノ酸の代謝変動. 必須アミノ酸研究, No. 40, 13-14.
- 4) 井上五郎, 岸恭一, 八木郁子(1980): 分離大豆たん白質へのメチオニン補足量に関する研究, 大豆たん白質栄養研究会会誌, 1, 6-9.
- 5) Womack, M., Kemmerer, K.S. and Rose, W.C. (1937): The relation of cystine and methionine to growth. *J. Biol. Chem.*, 121, 403-410.
- 6) Rama Rao, P.B., Norton, H.W. and Johnson, B.C. (1961): The amino acid composition and nutritive value of proteins IV. Phenylalanine, tyrosine, methionine and cystine requirements of the growing rat. *J. Nutr.*, 73, 38-42.
- 7) Sowers, J.E., Stockland, W.L. and Meade, R.J. (1972): L-Methionine and L-cystine requirements of the growing rat. *J. Animal Sci.*, 35, 782-788.
- 8) Womack, M., Harlin, H.A. and Lin, Pei-Hsing (1953): The influence of the non-essential amino acids on the requirement of the adult rat for isoleucine, methionine and threonine. *J. Nutr.*, 49, 513-526.
- 9) 宮崎基嘉, 早川清一(1964): タンパク質, アミノ酸の栄養学(島薮順雄, 中川一郎編) p. 284.