

分離大豆たん白質摂取シロネズミ組織 におけるビタミンA消費

VITAMIN A CONSUMPTION IN TISSUES OF RATS FED ON A
VITAMIN A FREE DIET CONTAINING SOY PROTEIN ISOLATE

舩重正一・和田政裕・田所忠弘（東京農業大学農学部）

Shoichi MASUSHIGE, Masahiro WADA and Tadahiro TADOKORO

Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, Tokyo 156

ABSTRACT

The effect of quality of dietary protein on the development of symptoms due to vitamin A deficiency was demonstrated in rats by the use of casein, soy protein isolate and wheat gluten as the sole protein source respectively. During feeding, vitamin A contents in various tissues and urea concentration in blood were determined, and activities of ornithine carbamoyltransferase and arginase were also assayed at the several stages of vitamin A deficiency. The decrease of vitamin A in the livers with the vitamin deficiency was rapid in the order of casein, SPI and gluten diet groups. Similar changes in vitamin A content were observed in plasma, lung and kidney. Urea content in blood of rats in the vitamin A deficient group increased compared with that of the pair-fed control group. The activities of both enzymes of livers in the deficient group increased compared with those of the control group.

たん白質源をカゼインとしたビタミンA（以下Aと略記）欠乏飼料で、ニワトリヒナあるいはシロネズミを飼育すると、たん白質レベルが高いほどA欠乏の発症が早くなる。典型的A欠乏のサインである成長停止時期は高たん白質飼料（40%）では標準たん白質（20%）に比べて数日早くなり、低たん白質（5%）にすると成長が遅れ同時にA欠乏は極めて現れにくくなる。肝臓中Aの消費速度もこれを反映して高たん白質ほど速い^{1,2)}。

一方、A欠乏飼料で飼育すると、その初期すなわち肝臓にAが存在し、血中A濃度が十分に高い段階でも、たん白質と核酸代謝系に異常が起こり、ニワトリヒナでは尿酸の *de novo* 合成系酵素の活性が上昇し、その結果として尿酸排泄量が増加する^{1,3)}。同様な現象はシロネズミでも見られ、特に高たん白質飼料のA欠乏で、肝臓尿素回路の酵素活性が上昇し、尿素排泄が顕著に増加し、標準レベルでもたん白質とRNAの代謝回

が亢進する^{4,5)}。

これらのことはAがたん白質代謝に何らかの影響を及ぼしていることを示唆するものである。そこで本研究では、たん白質の質がA欠乏の発症、特に組織Aの消費にどのような影響を及ぼすかを分離大豆たん白質と小麦グルテンを用いてシロネズミにより実験し、カゼインの場合と比較した。

実験方法

実験に用いた飼料の組成は Table 1 に示す通りで、基本的には Harper A.E.⁶⁾ の組成に準じた。カゼイン、分離大豆たん白質（フジプロ R）および小麦グルテンはいずれも 3 倍容の 95% エタノールで 12 時間、2 回還流してビタミンフリーとした。A 給与の対照飼料には 1 kg に対し 4,000 IU のビタミン A アセテートを大豆油に溶解して添加し、A 欠乏飼料からは除いて調製した。

実験動物は離乳直後の Wistar 系雄シロネズミを用

Table 1. The composition of experimental diets

(in per cent)

Ingredient	Casein	Soy protein	Gluten
Vitamin free protein*	20.79	21.39	27.24
Vitamin mixture**	1.00	1.00	1.00
Mineral mixture**	5.00	5.00	5.00
Choline-Cl	0.15	0.15	0.15
Soybean oil	5.00	5.00	5.00
Cellulose powder	2.00	2.00	2.00
Wheat starch	66.06	65.46	59.61

* 20% as crude protein

** Identical with A.E.Harper

Fat soluble vitamins were dissolved in this ingredient, vitamin A 400IU, vitamin D 200IU, vitamin E-acetate 10mg per 100g diet.

Vitamin A deficient diets were prepared by omitting the vitamin from this ingredient.

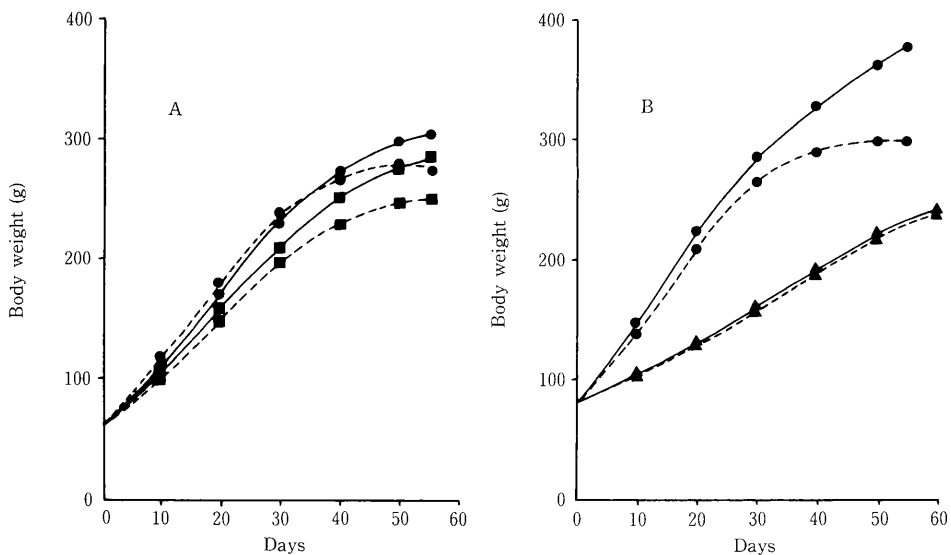


Fig. 1 Growth of rats fed on various protein diets with or without vitamin A.

All solid lines represent the control groups, and the dotted lines represent the vitamin A deficient groups.

A : ●, Casein diet groups ; ■ Soy protein groups.

B : ●, Casein diet groups (ad libitum feeding as control and vitamin A free).

▲, Gluten diet groups.

いた。実験飼料による飼育に入る前1週間、肝臓中のAを減少させる目的で20%カゼインのA欠乏飼料で飼育し、SPIの実験では500IU、グルテンの実験では100IUのビタミンAアセテートを大豆油に溶解して全動

物に1回経口投与し、翌日それぞれの実験群に区分けした。

飼育はSPI、グルテン試験群ともにA給与対照群を欠乏群に合わせる pair-feeding とした。また比較のた

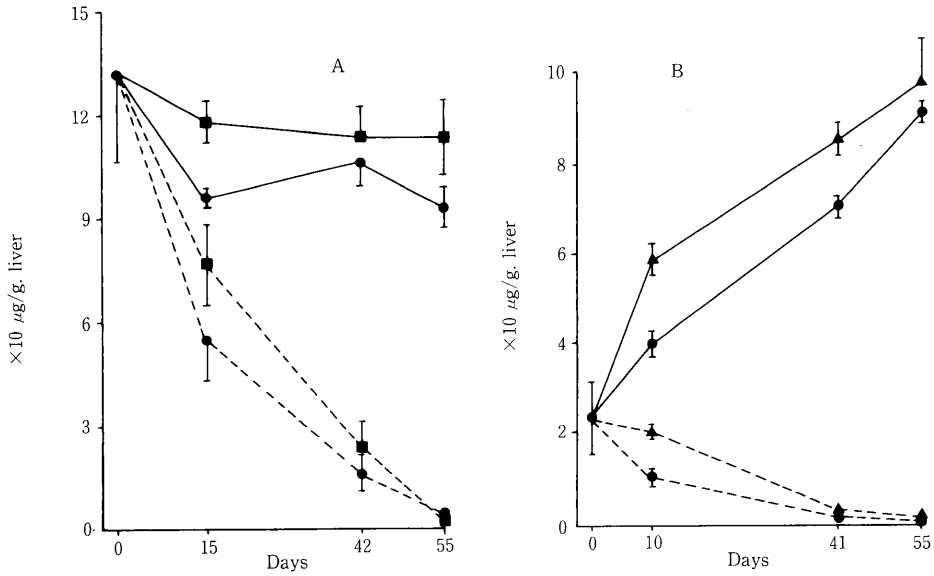


Fig. 2 Changes in vitamin A content in liver of rats fed on various protein diets with or without vitamin A.

Each point shows the average content of 7 rats, and vertical lines represent the standard deviation. All solid lines represent the control groups, and the dotted lines represent the vitamin A deficient groups.

A : ●, Casein diet groups ; ■, Soy protein diet groups.

B : ●, Casein diet groups ; ▲, Gluten diet groups.

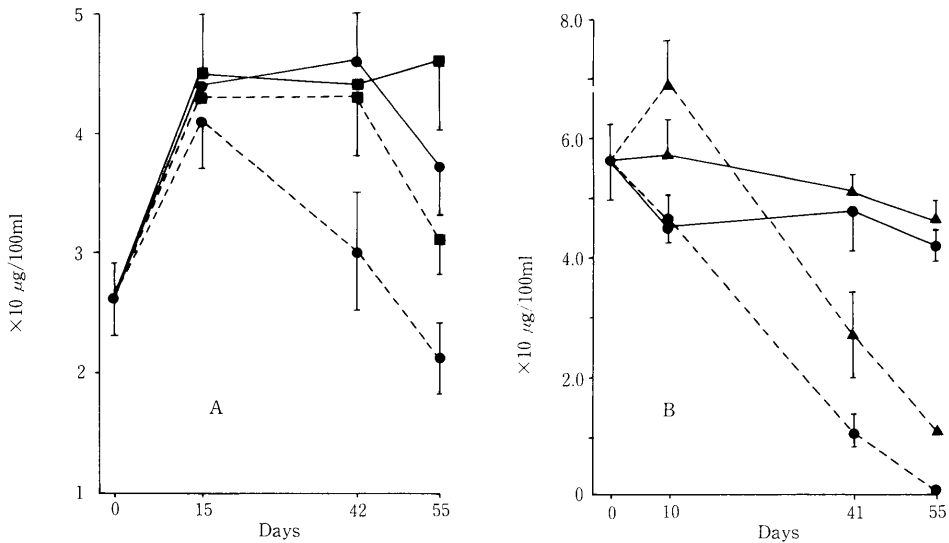


Fig. 3 Changes in vitamin A content in plasma of rats fed on various protein diets with or without vitamin A.

Each point shows the averages of 7 rats, and vertical lines represent the standard deviation. All solid lines represent the control groups, and the dotted lines represent the vitamin A deficient groups.

A : ●, Casein diet groups ; ■, Soy protein diet groups.

B : ●, Casein diet groups ; ▲, Gluten diet groups.

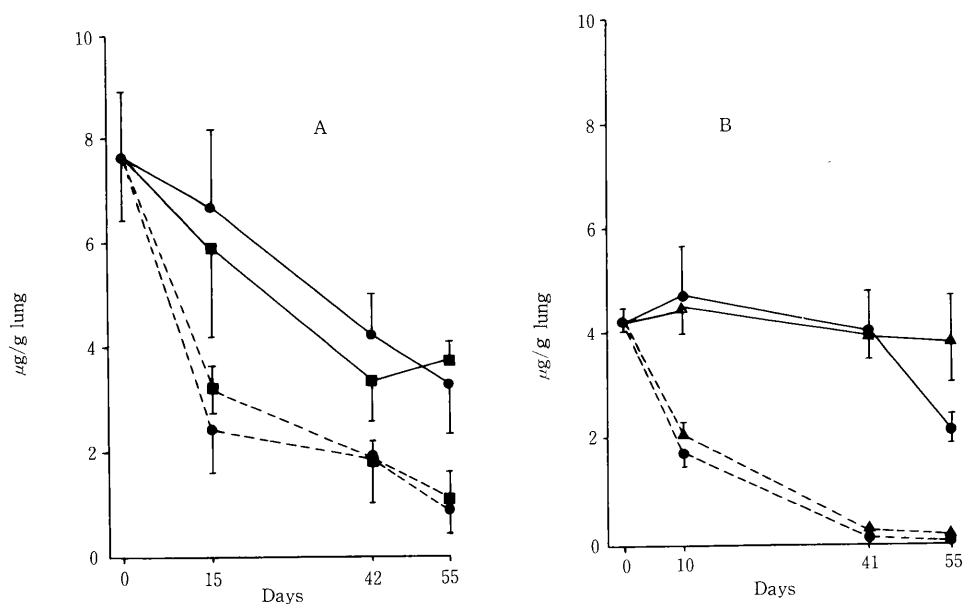


Fig. 4 Changes in vitamin A content in lung of rats fed on various protein diets with or without vitamin A.

Each point shows the averages of 7 rats, and vertical lines represent the standard deviation. All solid lines represent the control groups, and the dotted lines represent the vitamin A deficient groups.

A : ●, Casein diet groups ; ■, Soy protein diet groups.

B : ●, Casein diet groups ; ▲, Gluten diet groups.

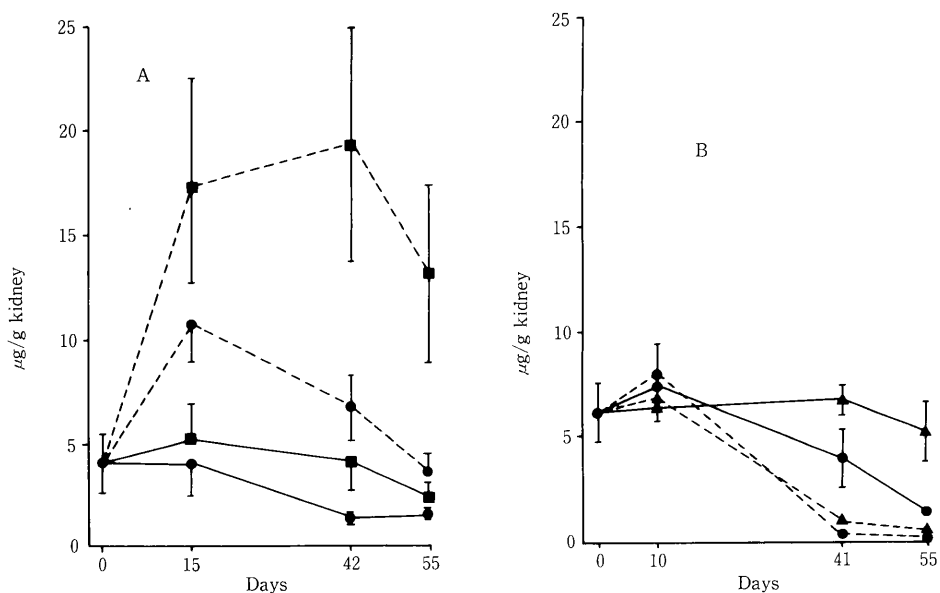


Fig. 5 Changes in vitamin A content in kidney of rats fed on various protein diets with or without vitamin A.

Each point shows the averages of 7 rats, and vertical lines represent the standard deviation. All solid lines represent the control groups, and the dotted lines represent the vitamin A deficient groups.

A : ●, Casein diet groups ; ■, Soy protein diet groups.

B : ●, Casein diet groups ; ▲, Gluten diet groups.

め SPI の試験ではカゼイン飼料 A 欠乏と対照の pair-fed 群, グルテンの試験ではともに自由摂取としたカゼイン飼料の A 欠乏と対照の 2 群をおいた。飼育期間中摂食量, 成長ならびに外見的状态の変化を観察するとともに, SPI の試験では 15, 42, 55 日目, グルテンの試験では 10, 41, 55 日目に各群より 7 匹を選んで屠殺し, 血漿ならびに各組織中の A を蛍光検出器を接続した HPLC で定量した。また, 血漿中の尿素量を diacetyl-monoxime 法, 肝臓 ornithine carbamoyltransferase (OCT) 活性を Schimke ⁷⁾, arginase 活性を Schimke ⁸⁾ の方法により測定して変動を調べるとともに各群間で比較した。

結果ならびに考察

各試験飼料で飼育したときのシロネズミの成長曲線

を Fig. 1 に示す。SPI とカゼイン飼料間で摂食量に有意の差はなかったが, 成長ではたん白質の質の違いに基づくと考えられる差がみられた。欠乏群, A 給与対照群ともにカゼイン飼料群の成長が SPI およびグルテン群よりすぐれていた。また, pair-fed したにもかかわらず, SPI 群の全期間, カゼイン群の後期に A 欠乏と対照群の間に成長の差がみられた。しかし, グルテン群では欠乏と対照の間に差は生じなかった。

このときの肝臓, 血漿, 肺および腎臓中の A 量の変動をそれぞれ Fig. 2, 3, 4, および 5 に示した。欠乏群肝臓中 A の減少速度をその残存率により比較してみると, SPI の場合 15 日目カゼイン群で 41% に対して 58% の残存率であり, グルテン飼料による試験では 10 日目でカゼイン群の 43.7% に対し, グルテン群では 87% 残存しており, 肝臓 A の消費速度はカゼイン > SPI > グルテ

Table 2. Urea contents in plasma of rats fed on vitamin A deficient diets as compared with those of pair fed control
(Urea-N mg/100 ml plasma)

Experimental groups		days		
		15	42	55
Soy protein	A-free	11.43 ± 1.81	14.48 ± 0.55*	17.83 ± 3.19*
	Control	8.85 ± 1.58	12.64 ± 0.70*	10.96 ± 1.71*
Casein	A-free	11.54 ± 1.26	15.55 ± 3.25	15.30 ± 2.52
	Control	12.50 ± 2.73	13.61 ± 1.35	15.47 ± 1.58

Values are the M ± SD of 7 rats.

* Significantly different (p < 0.001) between control and vitamin A free groups.

Table 3. Changes of liver ornithine carbamoyltransferase activity in rats fed on a vitamin A deficient diet as compared with those of the pair fed control
(× 10⁻⁴ M/min/mg protein)

Groups		Days		
		15	42	55
Soy protein	A-free	3.03 ± 0.28	4.51 ± 0.42*	3.21 ± 0.09**
	Control	3.13 ± 0.24	3.82 ± 0.11*	2.91 ± 0.13**
Casein	A-free	3.19 ± 0.23*	4.86 ± 0.41**	2.86 ± 0.18
	Control	3.51 ± 0.18*	3.96 ± 0.18**	2.96 ± 0.07

Values are the M ± SD of 7 rats.

* Significantly different (p < 0.05) between control and vitamin A free groups.

** Significantly different (p < 0.001) between control and vitamin A free groups.

Table 4. Changes of liver arginase activity in rats fed on a vitamin A deficient diet as compared with those of the pair fed control

		(μ M/min/mg protein)		
		Days		
Groups		15	42	55
Soy protein	A-free	1.96 $\pm$ 0.16**	3.16 $\pm$ 0.14*	2.88 $\pm$ 0.22
	Control	1.59 $\pm$ 0.16**	2.80 $\pm$ 0.12*	2.91 $\pm$ 0.24
Casein	A-free	2.00 $\pm$ 0.15*	3.37 $\pm$ 0.15	2.93 $\pm$ 0.17
	Control	1.84 $\pm$ 0.07*	3.45 $\pm$ 0.39	2.94 $\pm$ 0.19

Values are the M $\pm$ SD of 7 rats.

* Significantly different(p<0.05) between control and vitamin A free groups.

** Significantly different(p<0.001) between control and vitamin A free groups.

ンの順に大きいといえる。また、A給与対照群の肝臓中A量もカゼイン群がSPIならびにグルテン群より低い傾向にあり、良質のたん白質ほどAの消費を高めることを示すものと考えられる。これらの結果は、飼料中のたん白質レベルを変えた場合^{1,2)}と完全な対応を示すものである。

A欠乏飼料で動物を飼育すると、まず肝臓に貯蔵されているAが急激に減少し、ついで血中A、最後に末梢組織からAが消失しダメージを与えると一般に考えられている。しかし、今回の実験から肺(Fig. 4)は肝臓に似て早期から急激な減少を示し、腎臓(Fig. 5)では逆に一過性に上昇したのち減少することが明確にされ、A欠乏にともなう組織からのAの消失モードには特異性のあることが示された。また、これらの変動もたん白質の影響を受け、栄養価が高いほど減少速度が大きい傾向にあった。

以上の結果はAとたん白質の間に何らかの代謝的相関性のあることを示すものと考えられるが、事実成長に差のみられたSPI飼料A欠乏群の血中尿素濃度がTable 2に示すように有意に上昇し、尿素回路のメンバー酵素であるOCT(Table 3)とarginase(Table 4)活性がこれに対応して変動する傾向にあった。これはA欠乏の進行にともなう、たん白質の異化が亢進することを示唆するものであるが、カゼインでは著明な差がみられないことから、たん白質によって影響の受け方が異なることも考えられる。組織Aレベルの低下はたん白質や核酸の代謝回転を亢進させるが^{4,5)}、これらのメカニズムの解明にSPIの利用は有効であろうと考えられる。

文 献

- 1) 舩重正一, 菊永茂司, 田所忠弘, 鈴木隆雄(1980): ニワトリヒナのビタミンA欠乏に及ぼす飼料タンパク質含量の影響. ビタミン, **54**, 303-310.
- 2) 舩重正一, 菊川忠裕, 田所忠弘, 鈴木隆雄(1981): ラット肝及び血漿遊離アミノ酸と脂肪含量に及ぼすビタミンA欠乏並びにタンパク質の影響. 必須アミノ酸研究, **No. 90**, 12-16.
- 3) 菊永茂司, 田所忠弘, 舩重正一, 鈴木隆雄(1980): ニワトリヒナ肝臓尿酸生成系酵素活性に及ぼすビタミンA欠乏の影響. ビタミン, **54**, 537-544.
- 4) 舩重正一, 菊永茂司, 菊川忠裕, 田所忠弘, 鈴木隆雄(1979): たんぱく質代謝に及ぼすビタミンAの影響. 必須アミノ酸研究, **No. 84**, 34-38.
- 5) 舩重正一, 田所忠弘, 鈴木隆雄(1982): ラット臓器のRNA代謝に及ぼすビタミンA欠乏の影響. 必須アミノ酸研究, **No. 96**, 53-55.
- 6) Harper, A.E. (1959): Amino acid balance and imbalance. *J.Nutr.*, **68**, 405-418.
- 7) Schimke, R.T. (1962): Adaptive characteristics of urea cycle enzyme in the rat. *J. Biol. Chem.*, **237**, 459-468.
- 8) Schimke, R.T. (1964): The importance of both synthesis and degradation in the control of arginase levels in rat liver. *J. Biol. Chem.*, **239**, 3808-3817.