

# 大豆たん白質による促進老化抑制効果について —老化促進モデルマウスによる実験的研究

EFFECT OF CHRONIC FEEDING OF SOY PROTEIN ISOLATE ON  
THE ADVANCE OF SENESCENCE IN THE SENESCENCE ACCELER-  
ATED MOUSE (SAM)

河野篤子・梅沢眞樹子・細川昌則・竹田俊男（京都大学結核胸部疾患  
研究所病理学部門）

Atsuko KOHNO, Makiko UMEZAWA, Masanori HOSOKAWA and Toshio  
TAKEDA

Department of Pathology, Chest Disease Research Institute, Kyoto University,  
Kyoto 606

## ABSTRACT

A murine model of accelerated senescence, the Senescence Accelerated Mouse (SAM), consisting of senescence-prone (SAM-P) series and senescence resistant (SAM-R) series, was recently developed in our laboratory. Judging from the ageing characteristics such as changes in grading score with advancing age, life span, ageing dynamics and autopsy findings, the ageing pattern in this model seems to be due to an accelerated senescence rather than to a premature ageing. The present studies were undertaken to observe the effect of soy protein feeding on the grading score of senescence, deposition of senile amyloid (AS/SAM), mean life span, survival and the incidence of thymoma using SAM-P/1, SAM-P/7 and SAM-R/1 strains of mice. The experimental groups consisted of soy protein group (fed SPI as protein source) and casein group (fed casein as protein source). The growth curve of these three strains and the grading score of SAM-P/1 and SAM-P/7 revealed no significant difference between the two groups. The increase in grading score of SAM-R/1 fed soy protein diet for 18 ~ 22 months was suppressed compared to that fed casein diet. Survival at 18 months after the start of experiment was much greater in soy protein group (75.0%) than that in casein group (38.8%). Survivorship curves of SAM-P/1 and SAM-P/7 fed soy protein shifted slightly to the right side of the each curve of the strains fed casein diet. In SAM-P/7, the mean life span of 30% survivors in soy protein group was significantly greater than that in casein group. There were no significant differences in the severity of senile amyloid deposition and in the incidence of thymoma between the two groups of SAM-P/1 and SAM-P/7, respectively. These results suggested that chronic feeding of soy protein diet affected more efficiently to the normal ageing than to the accelerated senescence. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 7, 25-29, 1986.

1968年 Jackson Lab. より入手した AKR マウスを  
兄妹交配により維持していたところ1973年頃より腹  
(litter) により急速に老化を示すものがあるのに気づ

き、老化が著しく進行しているとみられる5腹を選び  
これに由来する系統をP-1, -2, -3, -4, -5, 対  
照として同じ AKR に由来し比較的緩徐な老化を示す

とみられる3腹を選び、それに由来する系統をR-1, -2, -3, とした<sup>1)</sup>。これらマウスの老化度のより客観的な評価法として、行動性、皮膚所見、眼所見、骨格所見等の計11項目について肉眼的観察を行い、程度の強弱に応じて0～4までの評点をつけその合計を該個体の老化評点とした。個体の評点を腹毎に平均しさらに各系統毎に平均値を算出して比較した。この結果老化度評点はR系に比しP系において高値を示し、生後6ヶ月にてすでに有意な差を有する。この傾向は加齢に伴い増強される<sup>1,2)</sup>。次に集団としての老化特性をみるために、体重成長曲線、生存率曲線、ゴムペルツ函数、平均寿命について検討したところ、P系にみられる老化特性は正常な成長ののちに急速に発来する老化徴候の出現、死亡率の低下、平均寿命の短縮(約30%)で、促進老化= accelerated senescence と規定することができる<sup>3)</sup>。この意味で私達はこのP系を Senescence Accelerated Mouse (SAM) 老化促進モデルマウスと名づけSMA-Pとして現わし、対照であるR系統をSAM-Rと示すことにした<sup>2)</sup>。また斃死例の病理組織学的観察を行ったところ、SAM-P系に加齢に伴ってその頻度と重症度が増加する、いわゆる systemic な senile amyloidosis がみられることが判った<sup>3)</sup>。このアミロイド症にみる沈着アミロイドは生化学的、免疫生

化学的に全く新しいアミロイドたん白で AS<sub>SAM</sub> と命名された<sup>4,5)</sup>。又、この他に SAM-P/1 系には特に高年齢において白内障の発生をみて(生後16ヵ月、約70%)<sup>6)</sup>、SAM-P/6 および SAM-P/8 系ではそれぞれ加齢に伴い増強する骨粗鬆症<sup>7)</sup>および学習記憶障害<sup>8)</sup>をみることが明らかになった。

今回、SAM-P 系統の中で老化アミロイド症を示し促進老化を示す SAM-P/1, 老化アミロイド症が軽度であるに拘らず促進老化を示し、比較的胸線腫発生の頻度の高い SAM-P/7 系、および対照として正常老化を示す SAM-R/1 系を用い、たん白質の質的差異の促進老化におよぼす影響をみるためにカゼインおよび大豆たん白を夫々たん白源とする実験群において、老化度評点、生存率、アミロイド沈着等におよぼす効果を観察した。但し、SAM-R/1 は現在なお生存例があり実験継続中である。

## 実 験 方 法

生後4週齢に達した SAM-R/1 系 SAM-P/1 系および SAM-P/7 系を夫々2群、即ちカゼイン食群と大豆たん白食群に分けた。

(1)カゼイン食群：25%カゼイン食(組成は Table 1 に示す)、SAM-R/1 雄13匹、雌13匹；SAM-P/1 雄11

Table 1 Composition of diet (%)

| Components                | Casein diet | Soy protein diet |
|---------------------------|-------------|------------------|
| Casein                    | 25.0        | —                |
| SPI                       | —           | 25.0             |
| DL-Methionine             | 0.3         | 0.3              |
| Corn starch               | 34.1        | 34.1             |
| Sucrose                   | 20.4        | 20.4             |
| Cellulose powder          | 5.0         | 5.0              |
| Soybean oil               | 9.0         | 9.0              |
| Salt mix.                 | 5.0         | 5.0              |
| Vitamin mix.              | 1.0         | 1.0              |
| Choline chloride          | 0.2         | 0.2              |
| Soybean oil plus vitamins | 0.1         | 0.1              |

匹、雌12匹；SAM-P/7 雄14匹、雌15匹。

(2)大豆たん白食群：25% SPI (フフジプロ R, 不二製油(株))食(組成は Table 1 に示す)、SAM-R/1 雄14匹、雌12匹；SAM-P/1 雄11匹、雌7匹；SAM-P/7 雄10匹、雌17匹。カゼイン食および大豆たん白食共にたん白質のみ変化させた等カロリー食である。これら食餌と水はいずれの群も自由摂取とし、毎週体重測定を行った。老化度の判定は私達の考案した老化度判定

基準に従って2ヵ月毎に行われた。各マウスの斃死期を確認し、ほぼ全臓器のパラフィン切片が作製され、その HE 染色、コンゴ赤染色標本を用いて病理組織学的観察を行った。老化アミロイドの同定は生後8～12ヶ月の期間に死亡したマウスを対象とし、抗 AS<sub>SAM</sub> 血清を用いた PAP 法により免疫組織学的に行った<sup>4,5,9)</sup>。老化アミロイド沈着程度は画像解析装置 (Kontron Mop-AM03)を用い、沈着部位の全面積に

占める割合で表した<sup>9)</sup>。また寿命および生存率の算定にあたっては、老化とは無関係な原因で死亡することが多い生後6ヶ月以前の死亡例は除いて行われた。現在SAM-R/1系における実験が終了していないため、この系統についての結果は現時点において算定可能な範囲で記述した。

## 結 果 と 考 察

各系統の成長曲線は両食餌群間で有意の差を示さなかった。またSAM-P/1およびSAM-P/7系の老化度評点は、すでに発表したように両群の間で差はなかった<sup>10)</sup>。一方SAM-R/1系では生後14ヶ月までの観察

ではほとんど両群間で差はなかったが、生後19～23ヶ月の時点で両群間に軽度の差がみられた。即ち、大豆たん白食群で $4.1 \pm 1.5$ 、カゼイン食群 $5.6 \pm 1.3$ と、前者で明瞭な低値の傾向( $0.05 < p < 0.1$ )を示した(Fig. 1)。アミロイド沈着の程度はSAM-P/1系を用いた実験群で肝、脾、皮膚を用いて検索されたが、Table 2に示すようにカゼイン食群と大豆たん白群の間で有意の差はみられなかった。この結果は、同じくSAM-P/1を用いた食餌摂取量制限(40%制限)が顕著なアミロイド沈着減少を示した事実と対照的できわめて興味ある所見である。

次に寿命に対する影響を観察した結果では、まず平

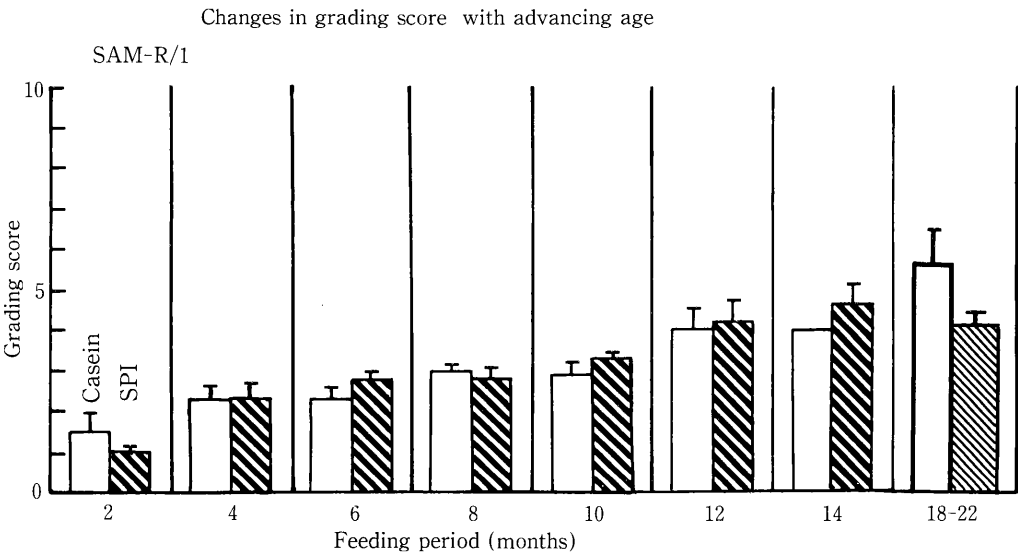


Fig. 1. Changes in grading score with advancing age in male and female SAM-R/1. Vertical line represents standard error for each mean value.

均寿命においてSAM-P/1, SAMP/7系で両群間で有意な差はみられなかった。ただSAM-P/7系で全体

Table 2 Effect of soy protein on senile amyloid deposition in SAM-P/1

| Organ  | Group   | Area of deposition (%) |
|--------|---------|------------------------|
| Liver  | Soybean | 5.30±5.25              |
|        | Casein  | 1.01±0.89              |
| Spleen | Soybean | 2.09±2.09              |
|        | Casein  | 0.23±0.16              |
| Skin   | Soybean | 4.50±1.65              |
|        | Casein  | 3.22±2.19              |

の30%生存群についてその寿命を平均すると、カゼイン食群12.2ヶ月に対し、大豆たん白食群で13.7ヶ月と有意な寿命延長を示した。生存率曲線はFig. 2Aに示されるようにSAM-P/1, SAM-P/7両系ともにいずれも軽度であるが、大豆たん白食群の曲線がカゼイン食群の曲線の右方に移動していることが判った。

SAM-R/1における結果は生存マウスが現在も存在するため、これまでの結果を示すにとどまるが、最初スタートさせた実験、即ち現在実験開始後22ヶ月で大豆たん白食群およびカゼイン食群でそれぞれ1匹の生存マウスをみるが、これまでに死亡した例で平均寿命を計算すると前者で16.5ヶ月と後者の11.5ヶ月に比し有意な延長( $p < 0.05$ )を示した(Table 3)。また生

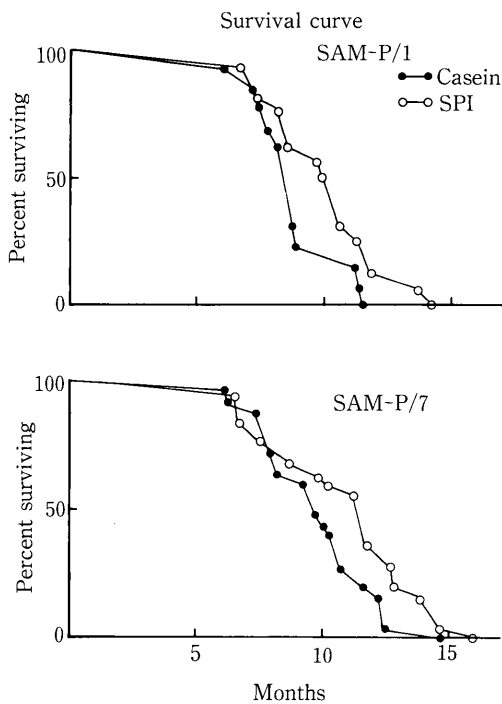
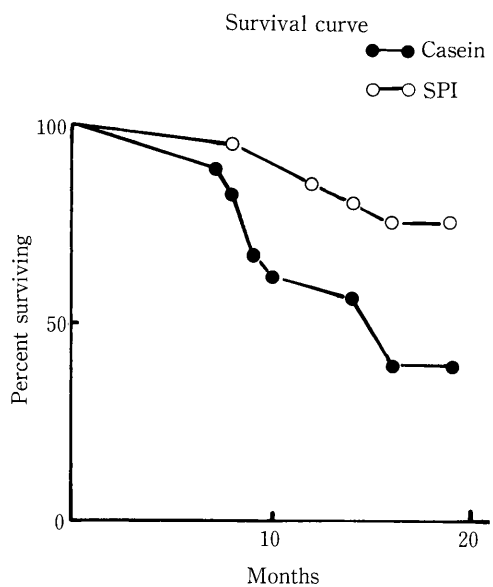


Fig. 2A. Curves related to survival in SAM-P/1 and SAM-P/7. ●—● casein diet group, ○—○ soy protein (SPI) diet group;

存曲線は、あとからスタートさせた実験即ち現在実験開始後18ヶ月の結果を加えて生後19ヶ月時点での結果を示しているが、カゼイン食群38.8%に比し大豆たん白食群で75.0%と明瞭な生存率の増加を示した (Fig. 2B)。

なお、SAM-P/7系における胸腺腫の発生率は両食餌群間で明瞭な差はみられなかった。

前回の実験で私達の教室で開発に成功した促進老化を主徴とする老化促進モデルマウスの1系統であるSAM-P/1系を用い、食餌摂取量制限が促進老化に対し明らかに改善(抑制)効果があることを報告した。この際、SAM-P/1の老化アミロイド沈着が制限食で



2B. Curves related to survival in SAM-R/1. ●—● casein diet group, ○—○ soy protein (SPI) diet group;

著しく軽減されていた<sup>9)</sup>。今回の実験では摂取量は制限せずに、たん白質をカゼインあるいは大豆たん白をそれぞれ主成分とする等カロリー食を長期投与して、その促進老化におよぼす影響が観察された。前述したように大豆たん白食群でSAM-P/1系で老化度評点、老化アミロイド沈着にはほとんど改善はみられないが、平均寿命、30%生存マウスの平均寿命、生存率曲線に、ごく軽度の延長改善傾向がみられた。然しこの改善は前回の食餌摂取量制限による結果に比べると、きわめて軽微である。またSAM-P/7系においても、SAM-P/1系におけると同様の傾向を示したが、30%生存マウスの平均寿命では統計的に有意な差(大豆たん白食群>カゼイン食群)を示した。

一方、正常老化を示すSAM-R/1系を用いた実験結果は、現在なお相当数の生存マウスがいるため、結

Table 3 The effect of chronic soy protein feeding on the life span in SAM-R/1

|        |        | No. of mice   | No. of survivors | Mean life span (months) |
|--------|--------|---------------|------------------|-------------------------|
| Exp. 1 | Casein | 8 (m 4, f 4)  | 1 (12.5%)        | 11.5±3.7                |
|        | SPI    | 9 (m 5, f 4)  | 1 (11.1%)        | 16.5±4.6                |
| Exp. 2 | Casein | 10 (m 5, f 5) | 5 (50.0%)        |                         |
|        | SPI    | 11 (m 7, f 4) | 8 (72.7%)        |                         |

Exp. 1: 22 months after the start of experiment

Exp. 2: 18 months after the start of experiment

論的なことは言えないが、明らかに寿命の延長、生存率の増加を大豆たん白食群で示している。生後19~23ヶ月の老化度評点も、大豆たん白食群で明瞭な増加抑制傾向のみられることもこれらの事実を裏付けている。

また SAM-P/1, SAM-P/7 系を用いた今回の実験で、これらいずれの系統でも体重増加(成長)は、カゼイン食群と大豆たん白食群の間でほとんど差がなかった。このことは前回の実験で食餌摂取量制限とくに40%制限で体重が自由摂取に比し30~50%の低下を示していた結果を考えると<sup>9)</sup>、ヒトに応用できる栄養条件を模索する立場よりみれば、今回のこの実験条件とその結果は十分に考慮に値するものと言えよう。

さらに上記に示したように大豆たん白食の寿命、生存率等に与える延長改善効果が、SAM-P/1, SAM-P/7 系等の促進老化を顕著に示す系統においてきわめて軽度であるのに対し、むしろ正常老化を示す SAM-R/1 系で明瞭にみられることは、食餌摂取量制限がむしろ SAM-P/1 系において、SAM-R/1 に比しより明瞭に老化抑制効果を示した前回の結果とは対照的できわめて興味深い。今後、より詳細な各方面からの検討により、大豆たん白による老化あるいは促進老化に与える効果の発現機序を明らかにする必要がある。

## 文 献

- 1) Takeda, T., Hosokawa, M., Takeshita, S., Irino, M., Higuchi, K., Matsushita, T., Tomita, Y., Yasuhira, K., Hamamoto, H., Shimizu, K., Ishii, M. and Yamamuro, T. (1981): A new murine model of accelerated senescence. *Mech. Ageing Dev.*, **17**, 183-194.
- 2) Hosokawa, M., Kasai, R., Higuchi, K., Takeshita, S., Shimizu, K., Hamamoto, H., Honma, A., Irino, M., Toda, K., Matsumura, A., Matsushita, M. and Takeda, T. (1984): Grading score system: A method for evaluation of the degree of senescence in Senescence Accelerated Mouse (SAM). *Mech. Ageing Dev.*, **26**, 91-102.
- 3) Takeshita, S., Hosokawa, M., Irino, M., Higuchi, K., Shimizu, K., Yasuhira, K. and Takeda, T. (1982): Spontaneous age-associated amyloidosis in Senescence Accelerated Mouse (SAM). *Mech. Ageing Dev.*, **20**, 13-23.
- 4) Matsumura, A., Higuchi, K., Shimizu, K., Hosokawa, M., Hashimoto, K., Yasuhira, K. and Takeda, T. (1982): Characterization of a novel amyloid fibril protein (As/SAM) isolated from senescence-accelerated mice. *Lab. Invest.*, **47**, 270-275.
- 5) Higuchi, K., Matsumura, A., Takeshita, S., Hashimoto, K., Hosokawa, M., Yasuhira, K. and Takeda, T. (1983): Systemic amyloid in Senescence Accelerated Mouse (SAM): A unique fibril protein (As/SAM) demonstrated in tissues from various organs by the unlabeled immunoperoxidase method. *Lab. Invest.*, **48**, 231-240.
- 6) Hosokawa, M., Takeshita, S., Higuchi, K., Shimizu, K., Irino, M., Toda, K., Honma, A., Matsumura, A., Yasuhira, K. and Takeda, T. (1984): Cataract and other ophthalmic lesions in senescence associated ophthalmic changes in mice. *Exp. Eye Res.*, **38**, 105-114.
- 7) Matsushita, M., Tsuboyama, T., Kasai, R., Okumura, H., Yamamuro, T., Higuchi, K., Higuchi, K., Kohno, A., Yonezu, T., Utani, A., Umezawa, M. and Takeda, T. (1986): Age-related changes in bone mass in the Senescence Accelerated Mouse (SAM): SAM-R/3 and SAM-P/6 as new murine models for senile osteoporosis. *Am. J. Pathol.*, in press.
- 8) Miyamoto, M., Kiyota, Y., Yamazaki, N., Nagaoka, A., Matsuo, T., Nagawa, Y. and Takeda, T. (1986): Age-related changes in learning and memory in the Senescence Accelerated Mouse (SAM). submitted.
- 9) Kohno, A., Yonezu, T., Matsushita, M., Irino, M., Higuchi, K., Higuchi, K., Takeshita, S., Hosokawa, M. and Takeda, T. (1985): Chronic food restriction modulates the advance of senescence in the Senescence Accelerated Mouse (SAM). *J. Nutr.*, **115**, 1259-1266.
- 10) 河野篤子, 梅沢眞樹子, 竹田俊男 (1986): 大豆たん白質による老化制御—老化促進モデルマウス (SAM) による実験的研究. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **6**, 32-37.