

## 成熟ラットでの分離大豆たん白質の栄養学的 再評価：たん白尿症への影響

NUTRITIONAL REASSESSMENT OF SOY PROTEIN ISOLATE IN  
ADULT RATS: EFFECT ON AGE-RELATED PROTEINURIA

藤田美明・大関知子（東京都老人総合研究所）

Yoshiaki FUJITA and Tomoko OZEKI

Nutrition Research Laboratory, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology,  
Tokyo 173

### ABSTRACT

Nutritional characteristics of soy protein isolate were reassessed in adult rats in relation to protein metabolism, serum lipids and age-related proteinuria. Three-month-old rats (Wistar strain, male) were divided into 6 groups of 8 rats each. In experiment 1 (control dietary energy), animals were fed 16 g/day of 20% protein diet containing lactalbumin (LA), casein (CA) or soy protein isolate (SPI) for 6 months. In experiment 2 (50% restricted dietary energy), the other 3 groups received 8 g/day of 40% protein diet instead of 20% protein diet, respectively. From results, we concluded that in adult rats consuming a diet sufficient in protein 1) effect of SPI on whole body protein metabolism is almost the same as that in lactalbumin or casein, irrespective of dietary energy, 2) SPI functions as a hypocholesterolemic factor under control dietary energy and as a hypotriglyceridemic factor under restricted dietary energy, and 3) effect of SPI on age-related proteinuria is slightly different from that of lactalbumin or casein, but not under restricted dietary energy. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **7**, 30-34, 1986.

成長期個体での食たん白質の栄養価は、一般に摂取たん白質の体内保留率の大きさを評価され、食たん白質は、体たん白質合成に必要な基質供給源として位置づけられている。しかし最近、たん白質代謝の維持を主体とする成熟期以降の健康保持と疾病予防への関心が高まり、食たん白質の栄養学的価値をより総合的に再評価する必要が生じつつある。すなわち、食たん白質構成アミノ酸のある種のものは、たん白質代謝以外の体内代謝にも明らかに影響を及ぼすとともに<sup>1,2)</sup>、疾病の発症や進行とも深く関わっていることが報告されている<sup>3,4)</sup>。

また、食たん白質のより有効な体内利用には、十分な食事エネルギー供給が必要である<sup>5)</sup>。しかし成熟期個体での過剰エネルギーの摂取は、加齢にともなう

腎疾患等の発症を促進する<sup>6)</sup>。これらのことは、成熟期個体での食たん白質栄養評価における摂取エネルギー条件の重要性を示している。

一方、最近、その多様な物理化学的特性や血清コレステロール低下作用等で大豆たん白質に注目が寄せられている。しかしその報告の多くは、成長期の個体を対象に比較的短期間の実験で、主にカゼイン食を対照食とした評価が多い。

そこで本研究では対照食としてカゼイン食及びラクトアルブミン食を用い、異ったエネルギー摂取条件下で成熟期ラットに比較的長期間大豆たん白食を投与し、その栄養学的価値を、ラットの腎疾患の発症及びいくつかの生理的変動要因への影響を指標として総合的に再評価しようと試みた。

## 実験方法

90日齢の Wistar 系雄ラット48匹（体重 $317 \pm 20$  g）を1群8匹として6群に分けた。この内3群には対照エネルギー食として20%ラクトアルブミン食（C-LA）、カゼイン食（C-CA）、又は分離大豆たん白食（C-SPI）のいずれかを16 g/日投与した（実験1）。またたん白質の正味摂取量は同じで、エネルギー摂取制限条件下での食たん白質の栄養評価をする目的で、他の3群には40%ラクトアルブミン食（R-LA）、カゼイン食（R-CA）、又は分離大豆たん白食（R-SPI）のいずれかを8 g/日投与した（実験2）。動物はこれら飼料を90日齢から6ヵ月間摂取し、実験食期末の3日間動物を代謝ケージに入れ、尿及び糞を採取した。尿については総N、アンモニアN、クレアチニン、そして尿中総たん白質排泄量を、糞便については総N量をそれぞれ測定した。また、代謝実験前日に新鮮尿を採取し、尿中排泄たん白質の電気泳動分画をセルロース・アセテート膜法で実施した。

270日齢において採血屠殺し、血清中総たん白質、ア

ルブミン、コレステロール（T-Chol, HDL-Chol）、中性脂肪（TG）及び遊離アミノ酸を測定した後、カーカスについて体水分、体たん白質及び体脂肪量を測定した。

## 結果と考察

成長期ラットにおいては、SPIの体内利用効率はラクトアルブミン（LA）やカゼイン（CA）に比べて劣り、その主な原因は、SPIにおけるMet含量の低さにあると考えられている。しかし、3ヵ月齢の成熟ラットに20%たん白質を含むLA食、CA食、及びSPI食を16 g/日、6ヵ月間投与した本実験においては、その間の体重増加量、体たん白質濃度、N出納値、血清総たん白質及びアルブミン、ヘモグロビン濃度のいずれにおいても3群間に有意の差は認められなかった（Table 1）。また血清遊離Met及びCys濃度も3群間で有意の差を示さなかった（Table 2）。このように日常摂取レベルの食たん白質条件下では、体たん白質代謝関連指標は成長期ラットで観察されるようなSPIとLA及びCAの間の大きな質的相異を生じなかつ

Table 1. Effect of dietary protein sources on some nitrogenous variables in adult rats

|                          | EXP 1                         |                               |                                | EXP 2                         |                              |                               |
|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                          | C-CA                          | C-LA                          | C-SPI                          | R-CA                          | R-LA                         | R-SPI                         |
| Final body weight (g)    | 486 $\pm$ 26 <sup>a</sup>     | 502 $\pm$ 55 <sup>a</sup>     | 496 $\pm$ 54 <sup>a</sup>      | 271 $\pm$ 13 <sup>a</sup>     | 294 $\pm$ 16 <sup>b</sup>    | 265 $\pm$ 20 <sup>a</sup>     |
| Carcass protein (%)      | 16.2 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>   | 16.8 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>   | 16.7 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>    | 21.1 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>   | 21.3 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>  | 22.4 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>   |
| N-balance (mg N/day)     | 141.2 $\pm$ 47.8 <sup>a</sup> | 183.3 $\pm$ 26.1 <sup>b</sup> | 163.6 $\pm$ 33.7 <sup>ab</sup> | 112.4 $\pm$ 64.9 <sup>a</sup> | 83.2 $\pm$ 33.8 <sup>a</sup> | 104.1 $\pm$ 55.9 <sup>a</sup> |
| Serum protein (g/100 ml) | 6.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>    | 6.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>    | 6.4 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>     | 6.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>    | 6.1 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>   | 6.3 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>    |
| albumin (g/100 ml)       | 3.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>    | 3.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>    | 3.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>     | 3.0 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>    | 3.1 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>   | 3.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>    |
| BUN (mg/100 ml)          | 15.8 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>   | 15.5 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>   | 15.0 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>    | 25.4 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>   | 19.0 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>  | 19.1 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>   |
| Hemoglobin (g/100 ml)    | 16.0 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>   | 15.5 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>   | 16.1 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>    | 16.0 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>   | 19.9 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>  | 17.5 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>   |

Abbreviation: LA, lactalbumin; CA, casein; SPI, soy protein isolate, C-, control energy intake (16 g/day of 20% protein diet); R-, restricted energy intake (8 g/day of 40% protein diet).

Values are means  $\pm$  SD of 8 rats.

Values in the same line not sharing a common superscript in each experiment are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Effect of dietary protein sources on serum free amino acids in adult rats

|     | EXP 1             |                   |                   | EXP 2                          |                               |                               |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|     | C-CA              | C-LA              | C-SPI             | R-CA                           | R-LA                          | R-SPI                         |
| Met | 33.3 $\pm$ 8.7    | 29.2 $\pm$ 10.5   | 34.4 $\pm$ 12.8   | 34.4 $\pm$ 10.4                | 38.1 $\pm$ 5.9                | 33.9 $\pm$ 11.4               |
| Cys | 47.2 $\pm$ 11.0   | 54.4 $\pm$ 10.8   | 45.6 $\pm$ 5.9    | 32.0 $\pm$ 9.4                 | 33.5 $\pm$ 3.8                | 30.3 $\pm$ 7.3                |
| Thr | 367.7 $\pm$ 162.4 | 412.8 $\pm$ 148.0 | 487.8 $\pm$ 180.5 | 314.3 $\pm$ 135.1 <sup>a</sup> | 284.9 $\pm$ 65.9 <sup>a</sup> | 159.7 $\pm$ 38.4 <sup>b</sup> |
| Lys | 325.4 $\pm$ 140.6 | 421.7 $\pm$ 73.6  | 427.3 $\pm$ 51.2  | 452.5 $\pm$ 116.5              | 383.2 $\pm$ 94.7              | 402.5 $\pm$ 46.4              |
| Arg | 118.2 $\pm$ 83.0  | 141.2 $\pm$ 26.3  | 125.5 $\pm$ 23.0  | 83.1 $\pm$ 15.7                | 75.0 $\pm$ 18.5               | 86.5 $\pm$ 31.1               |

Abbreviation: Refer to table 1.

Values are means  $\pm$  SD of 8 rats.

Values in the same line not sharing a common superscript in each experiment are significantly different ( $p < 0.05$ ).

た。一方同量のたん白質をエネルギーの制限量とともに摂取した時には、たん白源の相異よりもむしろ、エネルギー摂取量の相異がより大きく影響した (Table 1)。しかしエネルギー摂取が十分であるに拘わらず、尿中アンモニア排泄量は LA 及び CA 群に比べて SPI 群で有意に低く、特にエネルギー制限条件下では対照 2 群の 50% 以下であった (Table 3)。同様の所見が小石らによっても報告されている<sup>7)</sup>。これらが血中レベルでも観察されるかどうかは今後に残された興味ある所見である。

大豆たん白質の血清総コレステロール (Chol) 上昇抑制作用は、よく知られた事実である。一方大豆たん白質の血清 TG 上昇抑制作用に関しては否定的<sup>8)</sup>、肯定的<sup>9)</sup>、両見解がある。一般に、大豆たん白質のこれら血清脂質上昇抑制作用に関する報告のほとんどは、成長期ラットを用い、CA 食を対照群として比較的短期間 (1 ヶ月以内) の投与実験で確められている。また血清脂質濃度は一般に摂取エネルギー条件によっても影響される。本実験では、成熟ラットに 6 ヶ月間の長期に亘って、SPI を 2 つの異った食事エネルギー条件下で投与し、比較対照群として CA と同時に LA を用いて再検討した。その結果、SPI 群の血清総 Chol 及

び TG 値を CA 対照群と比べた時、エネルギー制限の有無に拘わらず SPI 群では有意に低く、特に対照エネルギー条件下でより著明であった。このように CA 食と比べた時の SPI の血清総 Chol 及び TG 上昇抑制作用は本実験の条件下でも観察された。しかし一方、結果を LA 対照群と比べた時、SPI の血清総 Chol 上昇抑制作用は対照エネルギー条件下 (実験 1) でのみ、TG 上昇抑制作用はエネルギー制限条件下でのみ観察された。以上の結果は、SPI の血清脂質上昇抑制作用は、同時に摂取している食事エネルギー条件に依存していることを示唆している (Table 4)。

自由摂食下において加齢にともなう腎症の発症することはよく知られた事実である。そしてこの疾病は、主に食事エネルギーの過剰摂取に起因し、エネルギー制限食の投与により抑制される<sup>6,10)</sup>。本実験でもエネルギー制限食を摂取した実験 2 においては、尿中たん白質排泄量は食たん白源に拘わらず、生理的排泄量のほぼ上限値を維持していた。しかし一方対照エネルギー摂取群 (実験 1) においては、C-LA、C-CA 及び C-SPI 群でそれぞれ平均 68.4±44.3、77.1±37.5、及び 103.3±52.6 mg/日の尿たん白排泄が観察され、中等度の腎症を示した。それぞれの群における大きな個体差

Table 3. Effect of dietary protein sources on urinary protein, urea-N, ammonia-N and creatinine excretion in adult rats

|            | EXP 1                   |                         |                         | EXP 2                   |                         |                         |
|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|            | C-CA                    | C-LA                    | C-SPI                   | R-CA                    | R-LA                    | R-SPI                   |
| Protein    | 77.1±37.5 <sup>a</sup>  | 68.4±44.3 <sup>a</sup>  | 103.3±52.6 <sup>a</sup> | 23.7±5.1 <sup>a</sup>   | 22.2±4.3 <sup>a</sup>   | 24.0±3.6 <sup>a</sup>   |
| Urea-N     | 271.8±37.5 <sup>a</sup> | 226.3±21.4 <sup>b</sup> | 334.0±44.3 <sup>c</sup> | 332.6±51.4 <sup>a</sup> | 333.5±30.7 <sup>a</sup> | 392.2±51.4 <sup>b</sup> |
| Ammonia-N  | 28.1±3.9 <sup>a</sup>   | 24.1±2.8 <sup>b</sup>   | 15.1±1.3 <sup>c</sup>   | 36.1±5.7 <sup>a</sup>   | 36.0±1.9 <sup>a</sup>   | 14.2±2.2 <sup>b</sup>   |
| Creatinine | 11.5±1.3 <sup>a</sup>   | 12.5±1.2 <sup>a</sup>   | 15.2±1.5 <sup>b</sup>   | 8.39±0.35 <sup>a</sup>  | 9.85±0.84 <sup>b</sup>  | 10.33±0.85 <sup>b</sup> |

Abbreviation: Refer to table 1.

Values are means±SD of 8 rats.

Values in the same line not sharing a common superscript in each experiment are significantly different (p<0.05).

Table 4. Effect of dietary protein sources on serum lipids in adult rats

|                      | EXP 1                   |                            |                         | EXP 2                  |                          |                        |
|----------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
|                      | C-CA                    | C-LA                       | C-SPI                   | R-CA                   | R-LA                     | R-SPI                  |
| T-Chol (mg/100 ml)   | 148.0±13.5 <sup>a</sup> | 142.0±15.2 <sup>a</sup>    | 112.5±15.8 <sup>b</sup> | 92.5±10.7 <sup>a</sup> | 81.2±10.9 <sup>a,b</sup> | 81.4±4.9 <sup>b</sup>  |
| HDL-Chol (mg/100 ml) | 73.4±5.7 <sup>a</sup>   | 62.8±8.3 <sup>b</sup>      | 58.1±6.9 <sup>a</sup>   | 45.9±8.0 <sup>a</sup>  | 45.8±8.2 <sup>a</sup>    | 40.3±8.4 <sup>a</sup>  |
| HDL/TOTAL            | 0.50±0.03 <sup>a</sup>  | 0.44±0.02 <sup>b</sup>     | 0.52±0.02 <sup>a</sup>  | 0.50±0.07 <sup>a</sup> | 0.50±0.06 <sup>a</sup>   | 0.49±0.10 <sup>a</sup> |
| TG (mg/100 ml)       | 278.8±42.5 <sup>a</sup> | 281.3±119.8 <sup>a,b</sup> | 201.9±42.2 <sup>b</sup> | 76.6±2.3 <sup>a</sup>  | 78.0±3.5 <sup>b</sup>    | 75.8±2.8 <sup>c</sup>  |

Abbreviation: Refer to table 1.

Values are means ± SD of 8 rats.

Values in the same line not sharing a common superscript in each experiment are significantly different (p<0.05).

により3つの群の間に有意の差は認められなかったが、C-SPI群の平均排泄量はC-LA群のそれの約150%に達した (Table 3)。またC-LA群及びC-CA群では軽度のたん白尿症の例もみられたが、C-SPI群ではいずれのラットも中等～高度の尿たん白排泄を示した。さらにまた排泄尿たん白質のセルローズアセテート膜電気泳動分画では、いずれのたん白食群もアルブミンが主要画分であったが、C-SPI群でのみプレアルブミン画分が出現し、他の2群と比べその電気泳動パターンは異っていた (Fig. 1)。

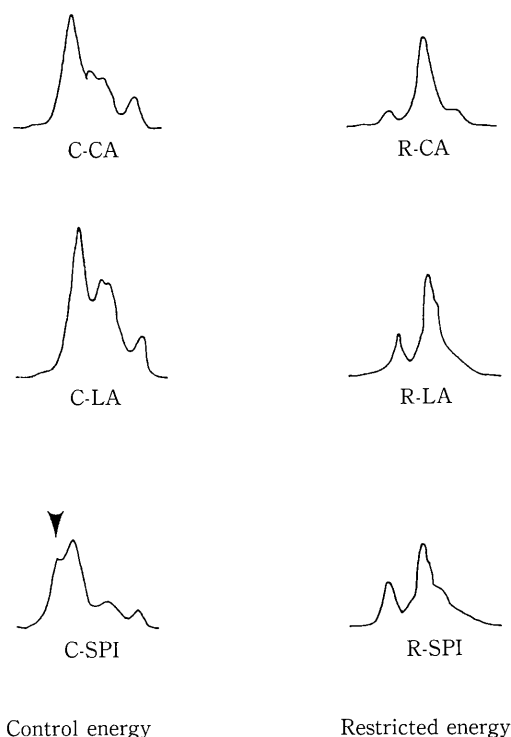


Fig. 1. Electrophoretic patterns of urinary protein excreted by adult rats. Three-month-old rats (male, Wistar) were fed 16 g/day of 20% protein diet containing lactalbumin (LA), casein (CA) or soy protein isolate (SPI) for 6 months (experiment 1) and the other three groups received 8 g/day of 40% protein diet instead of 20% protein diet (experiment 2). In the final week of the experimental period, the same volume of fresh urine from eight rats in each group was pooled and subjected to electrophoresis on a cellulose-acetate membrane.

これらラットのたん白尿症は、一般にヒトのネフローゼ症候群と同様の所見を示し、高 Chol 血症、尿たん白排泄及び低アルブミン血症を特徴とする。Fig. 2

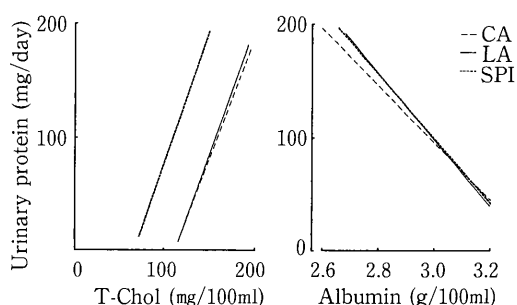


Fig. 2. Relationship between urinary protein excretion and total cholesterol or albumin in serum. Three-month-old rats (male, Wistar) were fed 16 g/day of 20% protein diet consisting of lactalbumin (LA), casein (CA) or soy protein isolate (SPI) for 6 months. The regression equations were estimated as:

Urinary protein (Y: mg/day) vs serum total cholesterol (X: mg/100 ml)

——, with LA  $Y = 2.24 X - 250.6$   
(n=8,  $r = 0.795$ ,  $p < 0.05$ )

-----, with CA  $Y = 2.14 X - 240.2$   
(n=8,  $r = 0.768$ ,  $p < 0.05$ )

....., with SPI  $Y = 2.40 X - 166.4$   
(n=8,  $r = 0.723$ ,  $p < 0.05$ )

Urinary protein (Y: mg/day) vs serum albumin (X: g/100 ml)

——, with LA  $Y = -291.3 X + 971.2$   
(n=8,  $r = -0.703$ , NS)

-----, with CA  $Y = -253.6 X + 856.9$   
(n=8,  $r = -0.866$ ,  $p < 0.01$ )

....., with SPI  $Y = -284.2 X + 952.3$   
(n=8,  $r = -0.888$ ,  $p < 0.01$ )

に見られるように、実験1ではいずれのたん白食においても尿中たん白質排泄量は血清総 Chol 値との間に正の、血清アルブミン値との間に負の、それぞれ有意の相関関係を示した。しかし、SPI群の血清総 Chol と尿たん白排泄量との間の回帰式は明らかに他の2群と異なる。すなわち、他の2群では尿たん白排泄の認められないようなより低い血清 Chol レベルにおいてもC-SPI群では高度のたん白尿症を呈している。

大豆たん白質の血清脂質上昇抑制作用のメカニズムに関して、現在結論は得られていない。しかしいくつかの報告は、大豆たん白質を構成するある種のアミノ酸、例えば Arg, S-AA, Thr などの関与を示唆している。

一方、ラット腎症の発症に対する食たん白質源の影響も古くから指摘されている<sup>11,12)</sup>。そして特に、Arg, Lys, S-AA, His, Tyr の静脈内投与による腎性毒性作用が知られている<sup>13)</sup>。また最近、食事への Trp 補足のたん白尿症改善効果が報告されている<sup>14)</sup>。

本実験で得られたいくつかの所見と文献報告は、大

豆たん白質の血清 Chol 上昇抑制作用はたん白尿症の発症と共通した因子によるのかも知れないことを示唆している。しかし一方、本実験では、食事エネルギー制限は、たん白尿症の発症を抑制するとともに、食たん白質源による若干の差はあるが、いずれのたん白食でも血清 Chol レベルを約80～90 mg/100 ml の範囲に抑制した。

以上の所見から、成熟ラットに20%レベルの SPI を6ヵ月間の長期投与した時、体たん白質代謝の面では SPI は CA 及び LA とほぼ同様の栄養価を示すことが判明した。そして SPI は成熟ラットにおいても成長期ラットの場合と同様に、脂質代謝の面で利的効果をもたらす反面、ラットの加齢にともなう腎疾患の発症に対しては、やや負の影響を示すことが示唆された。しかし全体として、成熟ラットにおいては食たん白質の質の相異よりむしろ同時に摂取するエネルギー量がより大きな影響をもたらすことが示唆された。

## 文 献

- 1) Wasserman, R. H., Comar, C. L. and Nold, M. M. (1956) : The influence of amino acids and other organic compounds of the gastrointestinal absorption of calcium<sup>45</sup> and strontium<sup>89</sup> in the rat. *J. Nutr.*, **59**, 371-392.
- 2) Rocha, D. M., Faloona, G. R. and Unger, R. H. (1972) : Glucagon-stimulating activity of 20 amino acids in dogs. *J. Clin. Invest.*, **51**, 2346-2451.
- 3) DuBois, E. L. and Stnain, L. (1973) : Effect of diet on survival and nephropathy of NZW/NZB hybrid mice. *Biochem. Med.*, **7**, 336-342.
- 4) Cherkin, A. and Van Harreveld, A. (1978) : L-Proline and related compounds : Correlation of structure, amnesic potency and anti-spreadig depression potency. *Brain Res.*, **156**, 265-273.
- 5) Inoue, G., Fujita, Y. and Niiyama, Y. (1973) : Studies on protein requirements of young men fed egg protein and rice protein with excess and maintenance energy intakes. *J. Nutr.*, **103**, 1673-1687.
- 6) Everitt, A. V., Porter, B. D. and Wyndham, J. R. (1982) : Effects of caloric intake and dietary composition on the development of proteinuria, age-associated renal disease and longevity in the male rat. *Gerontology*, **28**, 168-175.
- 7) 小石秀夫, 奥田豊子, 服部佳子, 馬瀬佳子, 梶原苗美, 河井徳子, 志岐勝美(1982) : 大豆たん白質にグルテンと鶏卵たん白質を組み合わせたときの栄養価. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **3**, 65-70
- 8) Okita, T. and Sugano, M. (1981) : Effects of dietary soybean globulins on plasma and liver lipids and on fecal excretion of neutral steroids in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **27**, 379-388.
- 9) 芦田淳(1981) : 分離大豆たんぱく質と脂質代謝. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 27-30.
- 10) Fujita, Y., Ichikawa, M., Kurimoto, F. and Rikimaru, T. (1984) : Effects of feed restriction and switching the diet on proteinuria in male Wistar rats. *J. Gerontol.*, **39**, 531-537.
- 11) Newburgh, L. H. and Curtis, A. C. (1928) : Production of renal injury in the white rat by the protein of the diet. *Arch. Int. Med.*, **42**, 801-821.
- 12) Kaunitz, H. and Johnson, R. E. (1976) : Dietary protein, fat, and minerals in nephrocalcinosis in female rats. *Metabolism*, **25**, 69-77.
- 13) Newburgh, L. H. and Marsh, P. L. (1925) : Renal injuries by amino-acids. *Arch. Int. Med.* **36**, 682-711.
- 14) Kaysen, G. A. and Kropp, J. (1983) : Dietary tryptophan supplementation prevents proteinuria in the seven-eighths nephrectomized rat. *Kidney Int'l.*, **23**, 473-479.