

分離大豆たん白質のアミノ酸組成と血漿コレステロール濃度との関係

RELATIONSHIP BETWEEN AMINO ACID COMPOSITION OF SOY PROTEIN ISOLATE AND PLASMA CHOLESTEROL LEVELS IN RATS

杉山公男・村松敬一郎（静岡大学農学部）

Kimio SUGIYAMA and Keiichiro MURAMATSU

Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka 422

ABSTRACT

Experiments were conducted to investigate the relationship between amino acid composition of dietary protein and plasma cholesterol levels with rats fed diets containing amino acid mixture essentially simulating casein or soy protein isolate (SPI) in the presence or absence of dietary cholesterol. A higher plasma cholesterol level induced by feeding the casein-simulating amino acid mixture diet was decreased by reducing dietary Met content (or increasing Cys content) in both animals fed high cholesterol and cholesterol-free diets. Although the amino acid mixture resembling SPI led to a lower plasma cholesterol level, the deprivation of Cys (or increase in Met) and/or Gly from the amino acid diets caused the enhancement of plasma cholesterol level. Elevation of plasma cholesterol level which was induced by relatively high Met (or low Cys) diets was markedly depressed by the omission of dietary choline. The results suggest that the differential effect of casein and SPI on the plasma cholesterol level might be attributable to the different composition of sulfur amino acids and Gly. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 7, 80-85, 1986.

植物性たん白質の血漿コレステロール (CHOL) 上昇抑制作用はよく知られているが¹⁻³⁾, その機構については未だ不明な点が多い。筆者らは先に, CHOL 負荷ラットの血漿 CHOL 濃度に及ぼす飼料添加アミノ酸の影響を検討し, Met, Cys, および Met 代謝に関わりのある Gly が大きな効果を有することを認めた^{4,5)}。また, 同じ条件下でカゼインおよび小麦グルテン類似のアミノ酸混合 (AAmix) 食を用いて, 上記3種類のアミノ酸組成を変えただけで血漿 CHOL 濃度を昇降させうることを報告した^{6,7)}。これらの事実は, 食品たん白質のアミノ酸組成が血漿 CHOL 濃度調節に関わりのあることを示唆している。

本研究は, 分離大豆たん白質 (SPI) およびカゼイン類似の AAmix 中の含硫アミノ酸と Gly 含量を変え

たときの血漿 CHOL 濃度に及ぼす影響を調べ, たん白質のアミノ酸組成と血漿 CHOL 濃度調節との関係をさらに明確にするために行った。

実験方法

初体重 100 g の Wistar 系雄ラットを用い, 実験食を2週間自由摂取させた。基本飼料の組成は Table 1 に示した。実験1では 1% CHOL と 0.25% コール酸ナトリウムおよび 15% ラードを含む高 CHOL 食を, また実験2では CHOL-free 食を基本飼料とした。一部の実験ではコリン (Cho) 欠食を用いた。SPI はフジプロ R (不二製油) を用いた。アミノ酸はすべて L-型を用い, カゼインおよび SPI 類似の AAmix は文献値⁸⁾および分析値 (不二製油 (株)) に基づいて調製

Table 1. Composition of basal diets (%)

Ingredient	CHOL-containing diet (Experiment 1)	CHOL-free diet (Experiment 2)
Protein or AAmix ¹	25	25
α -Starch	35.55	51.8
Sucrose	15	15
Lard	15	—
Corn oil	2	2
Salt mixture	5	5
Vitamin mixture	1	1
Choline chloride	0.2	0.2
Cholesterol	1	—
Sodium cholate	0.25	—

¹When AAmix was used, diet was supplemented with Se and Zn.

した (Table 2)。血漿の各脂質は酵素法による市販キット (和光純薬 (株)) を用いて定量した。実験 1 では 11~12 時間の絶食ののちに、また実験 2 では絶食せず にラットを 11:00~12:00 の時間帯に解剖した。

Table 2. Amino acid composition of casein and SPI (%)

Amino acid	Casein	SPI
Gly	1.82	4.17*
Ala	2.69	4.17
Val	6.42	4.84
Leu	8.77	7.58
Ile	5.73	4.84
Ser	5.47	4.46
Thr	3.91	3.62
Met	2.86	1.33*
Cys	0.35	1.23*
Asp	5.64	11.19
Glu	20.49	20.86
Arg	3.65	7.68*
Lys	7.12	6.12
His	2.60	2.47
Phe	5.04	5.02
Tyr	5.47	3.98
Trp	1.30	1.25
Pro	10.68	5.21*

*Over 2-fold or under one half as compared with the value of casein.

結 果

実験 1

カゼインと SPI ならびにそれに類似の AAmix あ

るいは Met, Cys, Gly 含量を変えた AAmix の血漿 CHOL 濃度に及ぼす影響を CHOL 添加食を用いて検討した。Table 1~3 に結果を示す。動物の成長は、たん白質食に比べて AAmix 食ではやや劣っているが、AAmix 各群ではそれ程大きな差はみられなかった。飼料摂取量も成長とはほぼ同様な傾向であった。Cho 欠食ではよく知られているように脂肪肝による肝肥大がみられた。血漿 CHOL 濃度は、SPI 群ではカゼイン群に比べて有意に低い値を示し、また SPI 類似 AAmix(S) 群もカゼイン類似 AAmix(C) 群に比べて有意に低い値を示した。

カゼイン類似 AAmix より Met 含量を SPI レベルまで減少させ、代りに Cys 含量を増加させた AAmix(C') 群では、血漿 CHOL 濃度は有意に低下し、AAmix(C') に 0.3% Cys および SPI と同一レベルになるように Gly を添加した AAmix(C')+CG 群ではさらに低い値を示した。一方、SPI 類似 AAmix 中の Cys のすべてを Met で置換した AAmix(S)-C 群では AAmix(S) 群に比べて有意な血漿 CHOL 濃度の上昇がみられ、また Gly を除いた AAmix(S)-G 群でもかなりの上昇がみられた。Cys と Gly を除いた AAmix(S)-CG 群で最も高い血漿 CHOL 濃度を示した。AAmix(S)-CG 食から Cho を除いた AAmix(S)-CG-Cho 群では血漿 CHOL 濃度の上昇は強く抑制された。血漿 HDL-CHOL 濃度は Cho 欠群では上昇したが、その他の群ではそれ程大きな変化はみられなかった。血漿トリグリセリッド濃度は従来の報告通り、SPI 群ではカゼイン群に比べて低く、また Cho 欠群も著しく低い値を示した。血漿リン脂質濃度は CHOL 濃度と類似の変化を示した。

実験 2

つぎに実験 1 と同様な実験を CHOL-free 食を用いて行った。各 AAmix の組成は実験 1 とほぼ同じだが、カゼイン類似 AAmix の Met 含量を SPI のレベルまで減少させ、Gly 含量を SPI のレベルにまで増加させたものを、この場合は AAmix(C') とした。ラットの成長は、実験 1 と同様に AAmix 食では、たん白質食に比べて劣っていたが、AAmix 各群では差はみられなかった (Table 6)。血漿 CHOL 濃度を Fig. 1 に示す。SPI 群ではカゼイン群に比べてかなり低い総 CHOL 値を示したが、HDL-CHOL 濃度も同時に減少した。一方、AAmix 各群の血漿 CHOL 濃度の差は、実験 1 の CHOL 添加食の場合に比べてはるかに小さかったが、それでも CHOL 添加食の場合とよく似た変化がみられた。すなわち、血漿総 CHOL 濃度は AAmix(C') 群では AAmix(C) 群に比べて有意に低く、

Table 3. Body weight gain, food intake and liver weight of animals (Experiment 1)

Diet	Amino acid content (% diet)			Body wt gain (g/14 days)	Food intake (g/14 days)	Liver wt (g/100 g B.W.)
	Met	Cys	Gly			
I. 25% Casein	0.645	0.078	0.410	75±2 ^{a,1}	164±3 ^a	5.39±0.11 ^a
25% SPI	0.299	0.277	0.938	81±2 ^b	190±5 ^b	4.64±0.08 ^b
II. 25% AAmix(C)	0.645	0.078	0.410	61±2 ^a	159±3 ^{abc}	5.00±0.04 ^a
25% AAmix(C')	0.299	0.357	0.410	56±3 ^{ab}	160±6 ^{ad}	6.00±0.27 ^b
25% AAmix(C')+CG	0.299	0.577	0.938	55±1 ^{ac}	149±2 ^b	5.66±0.20 ^{bc}
25% AAmix(S)	0.299	0.277	0.938	59±3 ^a	170±3 ^d	5.61±0.22 ^{bc}
25% AAmix(S)–C	0.643	0	0.938	57±3 ^a	161±5 ^{ad}	4.84±0.12 ^a
25% AAmix(S)–G	0.299	0.277	0	49±1 ^b	160±3 ^{abd}	5.14±0.08 ^{ac}
25% AAmix(S)–CG	0.643	0	0	51±1 ^{bc}	152±3 ^{ab}	4.68±0.06 ^a
25% AAmix(S)–CG–Cho	0.643	0	0	51±3 ^{bc}	165±5 ^{cd}	6.78±0.37 ^d

¹Values are mean±SEM for 7 (Expt. 1) or 6 (Expt. 2) animals; values in a column of each experiment not sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 4. Effect of amino acid composition of diets on plasma lipid concentrations in rats fed a high cholesterol diet (Experiment 1)

Diet	Plasma lipid concentration (mg/100 ml)				
	Total CHOL	HDL-CHOL	HDL-CHOL(%)	Triglyceride	Phospholipid
I. 25% Casein	266±18 ^{a,1}	24.4±2.1 ^a	10.1±1.5 ^a	177±13 ^a	177±8 ^a
25% SPI	194±9 ^b	19.6±1.8 ^a	10.2±1.1 ^a	82±7 ^b	133±4 ^b
II. 25% AAmix(C)	211±10 ^a	31.5±0.5 ^{ac}	16.3±0.7 ^a	145±6 ^{ad}	165±4 ^a
25% AAmix(C')	138±9 ^b	39.6±1.4 ^b	30.3±2.4 ^b	105±6 ^b	144±4 ^b
25% AAmix(C')+CG	117±4 ^c	34.8±2.0 ^a	29.9±1.6 ^b	129±6 ^{ab}	133±3 ^b
25% AAmix(S)	136±7 ^{bc}	35.1±2.3 ^{ab}	28.5±3.0 ^b	130±9 ^{ab}	142±2 ^b
25% AAmix(S)–C	217±4 ^a	30.2±0.9 ^c	13.0±0.9 ^{ac}	163±17 ^{cd}	161±7 ^a
25% AAmix(S)–G	205±11 ^a	31.7±1.8 ^{ac}	15.7±1.3 ^a	176±21 ^c	159±8 ^a
25% AAmix(S)–CG	255±9 ^d	27.3±1.8 ^c	10.8±1.0 ^c	183±5 ^c	183±5 ^c
25% AAmix(S)–CG–Cho	96±4 ^e	47.7±2.2 ^d	50.2±3.2 ^d	65±6 ^e	107±2 ^d

¹Refer to footnote in Table 3.

Table 5. Effect of amino acid composition of diets on liver lipid content in rats fed a high cholesterol diet (Experiment 1)

Diet	Liver lipid content (mg/g wet)		
	Cholesterol	Phospholipid	Total lipid
I. 25% Casein	88.2±2.0 ^{a,1}	24.5±0.5 ^a	252±5 ^a
25% SPI	80.8±1.0 ^b	25.8±1.1 ^b	230±4 ^b
II. 25% AAmix(C)	75.2±1.2 ^a	25.7±0.8 ^a	252±5 ^a
25% AAmix(C')	65.8±2.8 ^b	19.3±1.2 ^{de}	279±14 ^b
25% AAmix(C')+CG	59.4±2.2 ^c	21.6±1.6 ^{cdf}	280±12 ^b
25% AAmix(S)	59.6±2.8 ^{bc}	20.5±0.3 ^{cd}	251±7 ^a
25% AAmix(S)–C	74.2±1.8 ^a	23.8±1.0 ^{abf}	238±8 ^a
25% AAmix(S)–G	73.2±1.8 ^a	24.5±0.6 ^{ab}	242±9 ^a
25% AAmix(S)–CG	79.2±1.8 ^a	22.8±0.3 ^{bc}	256±4 ^{ab}
25% AAmix(S)–CG–Cho	60.2±3.2 ^{bc}	16.8±0.6 ^e	346±8 ^c

¹Refer to footnote in Table 3.

Table 6. Body weight gain, food intake and liver weight of experimental animals (Experiment 2)

Diet	Amino acid content (% diet)			Body wt gain (g/14 days)	Food intake (g/14 days)	Liver wt (g/100 g B.W.)
	Met	Cys	Gly			
I. 25% Casein	0.645	0.078	0.410	73±2 ^{a,1}	192±2 ^a	5.25±0.11 ^a
25% SPI	0.299	0.277	0.938	73±1 ^a	199±3 ^a	4.49±0.05 ^b
II. 25% AAmix(C)	0.645	0.078	0.410	56±2 ^a	174±4 ^{ab}	4.42±0.11 ^a
25% AAmix(C')	0.299	0.357	0.938	53±4 ^a	169±3 ^b	4.80±0.09 ^b
25% AAmix(S)	0.299	0.277	0.938	56±2 ^a	181±3 ^{ac}	4.80±0.13 ^b
25% AAmix(S)-CG	0.643	0	0	52±2 ^a	182±3 ^{ac}	4.23±0.11 ^a
25% AAmix(S)-CG-Cho	0.643	0	0	54±3 ^a	186±5 ^c	4.39±0.12 ^a

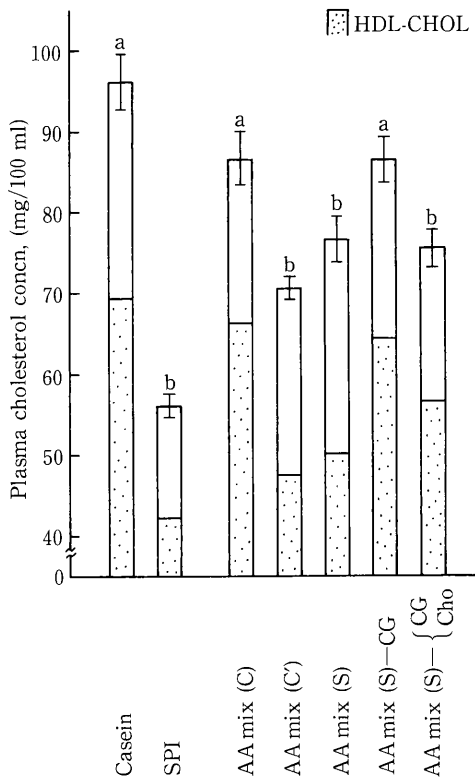
¹Refer to footnote in Table 3.

Fig. 1. Effect of amino acid composition of diets on plasma cholesterol level in rats fed a cholesterol-free diet (Experiment 2).

また、AAmix(S)-CG 群では AAmix(S) 群に比べて有意に高く、Cho 欠により AAmix(S)-CG 群での上昇が抑制された。CHOL-free 食では CHOL 添加食に比べて HDL-CHOL 濃度の比率がはるかに大きい、HDL-CHOL 濃度も総 CHOL 濃度とよく似た変化を示した。

考 察

食餌たん白質の種類のちがいによる血漿 CHOL 濃度に対する異なった影響に関して、その原因をたん白質のアミノ酸組成の差異に求める考え方²⁾と、たん白質の消化性や消化産物の物理化学的性質の差異を求める考え方^{9~11)}とがある。言い換えれば、たん白質あるいはその消化産物の主要な site が、生体内の代謝やその調節にあるのか、あるいは消化管であるのかということになる。菅野ら¹⁰⁾は、大豆たん白質の CHOL 低下作用は主に消化管内で生成する大分子ペプチド画分に由来すると報告している。食物繊維やリン脂質による血漿 CHOL 上昇抑制効果は消化管における CHOL や胆汁酸の吸収抑制に主に由来することはよく知られている。一方、たん白質のアミノ酸組成に関しては、Lys/Arg 比が血漿 CHOL 濃度調節に関与するとする Kritchevsky²⁾の説があるが、必ずしも支持されていない^{12,13)}。

カゼインと SPI などの植物性たん白質のアミノ酸組成を比較すると、Arg 含量のほかに含硫アミノ酸 (Met, Cys) や Gly 含量にも差がみられる。Katan ら¹⁴⁾はウサギとラットでカゼイン食に Gly を添加すると血清 CHOL 濃度が低下することを報告した。また、含硫アミノ酸に注目した報告もいくつかあるが必ずしも一致した結果は得られていない。

筆者らは先に、たん白質構成アミノ酸18種類について、CHOL 添加カゼイン食を与えたラットの血漿 CHOL 濃度に及ぼす影響を調べ、含硫アミノ酸の効果が最も顕著であり、Met は CHOL 上昇効果を示すのに対し、Cys は CHOL 上昇抑制効果を示すことを認めた^{4,15)}。さらに、Met の CHOL 上昇効果は Met の過剰障害の場合と同様に Gly の飼料への同時添加により抑制されるのみならず、十分量の Gly 存在下では Met はむしろ CHOL 低下作用を示すことを見出し

た⁵⁾。これらの事実、カゼインに特徴的なアミノ酸組成、つまり Met 含量が高く、Cys, Gly 含量の低いことが、カゼインの CHOL 上昇作用と関わりのあることを示している。

本実験で、カゼイン及び SPI 相当の AAmix の Met, Cys, および Gly 含量を変えるだけで血漿 CHOL 濃度を変えることができたことから、AAmix とたん白質は必ずしも同一に論じられないことが指摘されているものの、カゼインと SPI の血漿 CHOL 濃度に対する異なる効果は、含硫アミノ酸と Gly 含量のちがいにかかなりの程度依存していると考えられる。SPI が CHOL 上昇抑制効果を示すのは、カゼインに比べ、Met 含量が低く、逆に Cys や Gly 含量が高いからと理解される。

Carroll ら¹⁾は、ウサギでは、SPI に Met を添加し

ても血漿 CHOL 濃度は上昇しないとしているが、佐伯ら¹⁰⁾は、ラットを用いての実験で SPI に Met を添加すると CHOL 濃度は上昇することを認めている。

たん白質中の含硫アミノ酸と Gly 含量の違いが、どのような機構により血漿 CHOL 濃度に影響を与えるかについては不明であるが、Met と Cys 効果の違いは Met のメチル基に起因するものと考えられる。Olson ら¹⁷⁾は、Cho 欠食をラットに与えると、大豆たん白質食の方がカゼイン食より脂肪肝になりやすく、同時に血漿 CHOL 濃度も低下することを観察している。本実験では、Met を多く含む飼料から Cho を除くと、CHOL 上昇は抑制され、Cho 添加量の増加に応じて血漿 CHOL 濃度の上昇することが示された (Fig. 2)。これより Met の血漿 CHOL 濃度に対する効果は Cho を介して発現する可能性が示唆される。

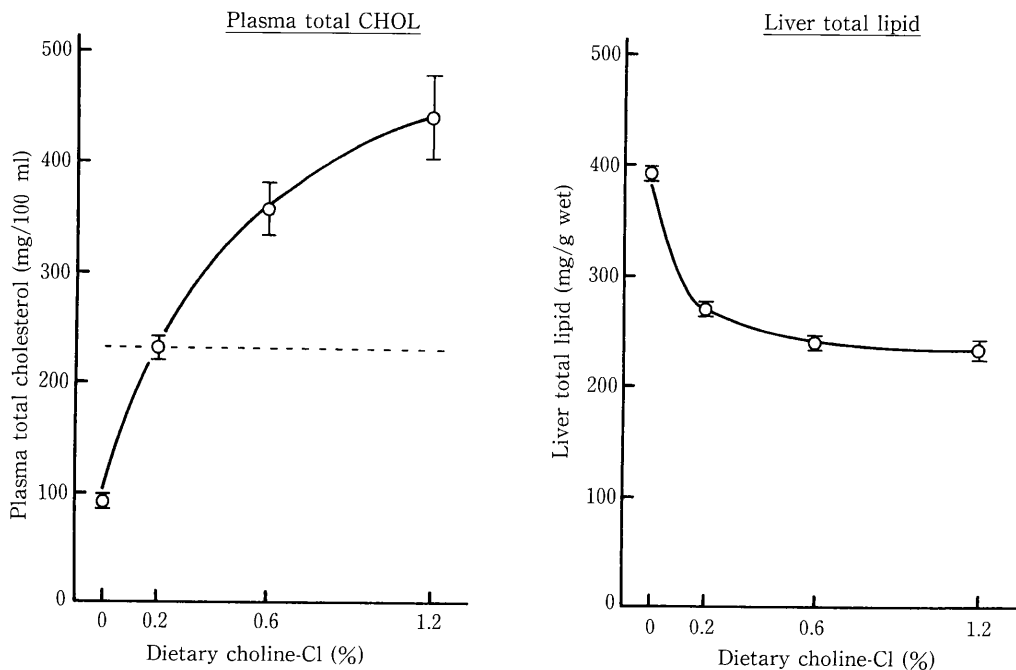


Fig. 2. Effect of dietary choline level on plasma cholesterol and liver total lipid in rats fed a high cholesterol diet.

文 献

- 1) Carroll, K. K. and Hamilton, R. M. G. (1975): Effect of dietary protein and carbohydrate on plasma cholesterol in relation to atherosclerosis. *J. Food Sci.*, **40**, 18-23.
- 2) Kritchevsky, D. (1979): Vegetable protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 135
- 3) Sugano, M. (1983): Hypocholesterolemic effect of plant protein in relation to animal protein: mechanism of action, in "Animal and Vegetable Proteins in Lipid Metabolism and Atherosclerosis", ed. by Gibney, M. J. and Kritchevsky, D., Alan R. Liss Inc., New York, pp. 51-84.
- 4) Sugiyama, K., Kushima, Y. and Muramatsu,

-140.

- K. (1984): Effect of methionine, cystine and taurine on plasma cholesterol level in rats fed a high cholesterol diet. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2897-2899.
- 5) Sugiyama, K. Kushima, Y. and Muramatsu, K. (1985): Effects of sulfur-containing amino acids and glycine on plasma cholesterol level in rats fed on a high cholesterol diet. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3455-3461.
- 6) Sugiyama, K., Ozawa, M. and Muramatsu, K. (1985): Dietary sulfur-containing amino acids and glycine as determinant factors in plasma cholesterol regulation in growing rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, 121-125.
- 7) Sugiyama, K., Ohkawa, S. and Muramatsu, K. (1986): Relationship between amino acid composition of diet and plasma cholesterol level in growing rats fed a high cholesterol diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 413-423.
- 8) Block, R. J. and Weiss, K. W. (1956): Amino Acid Handbook, Charles C. Thomas Publ., Springfield, Illinois, pp. 341-346.
- 9) Woodward, C. J. H. and Carroll, K. K. (1985): Digestibilities of casein and soya-bean protein in relation to their effects on serum cholesterol in rabbits. *Br. J. Nutr.*, **54**, 355-366.
- 10) Yashiro, A., Oda, S. and Sugano, M. (1985): Hypocholesterolemic effect of soybean protein in rats and mice after peptic digestion. *J. Nutr.*, **115**, 1325-1336.
- 11) Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F. (1986): Involvement of post-digestion 'hydrophobic' peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1217-1222.
- 12) Sugano, M., Ishiwaki, N., Nagata, Y. and Imaizumi, K. (1982): Effects of arginine and lysine addition to casein and soya-bean protein on serum lipids, apolipoproteins, insulin and glucagon in rats. *Br. J. Nutr.*, **48**, 211-221.
- 13) Gibney, M. J. (1983): The effect of dietary lysine to arginine ratio on cholesterol kinetics in rabbits. *Atherosclerosis*, **47**, 263-270.
- 14) Katan, M. B., Vroomen, L. H. M. and Hermus, R. J. J. (1982): Reduction of casein-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine and alanine. *Atherosclerosis*, **43**, 381-391.
- 15) 杉山公男, 稲川淳一, 水野雅之, 村松敬一郎 (1985): ラット血中コレステロール濃度に及ぼす各種アミノ酸の影響の比較検討. 第39回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, p. 23.
- 16) 佐伯 茂, 桐山修八 (1985): カゼイン, 大豆たん白質への各種アミノ酸添加による血中コレステロール濃度の変動. 第39回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, p. 22.
- 17) Olson, R. E., Jablonski, J. R. and Taylor, E. (1958): The effect of dietary protein, fat, and choline upon the serum lipids and lipoproteins of the rat. *Am. J. Clin. Nutr.*, **6**, 111-118.