

ラット血漿コレステロール濃度に及ぼすメチオニンの効果と飼料たん白質(カゼインおよび分離大豆たん白質)レベルとの関係

RELATIONSHIP BETWEEN EFFECT OF METHIONINE ON PLASMA CHOLESTEROL LEVEL AND DIETARY PROTEIN (CASEIN AND SOY PROTEIN ISOLATE) LEVEL IN RATS

杉山公男・大石章夫・村松敬一郎(静岡大学農学郎)

Kimio SUGIYAMA, Akio OHISHI and Keiichiro MURAMATSU

Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka 422

ABSTRACT

The relationship between the effect of dietary supplementation with methionine on plasma cholesterol level and dietary protein level was investigated with rats fed high cholesterol diets containing varied levels of casein (10, 15, 20, 25, 40%) or soy protein isolate (SPI) (10, 25, 40%). The addition of 0.8% methionine to 10% casein diet decreased plasma cholesterol level, whereas it increased plasma cholesterol level when added to diets containing casein at a 20% or more. In contrast, methionine supplementation did not increase plasma cholesterol in rats fed SPI diets irrespective of protein level. Fecal excretion of neutral steroids and bile acids was higher in rats fed SPI diets than in rats fed casein diets, and methionine supplementation tended to increase fecal excretion of bile acids. Although there was a tendency to exist significant correlations among fecal excretion of bile acids, liver cholesterol 7 α -hydroxylase activity and liver glutathione level, these parameters did not necessarily correlate with plasma cholesterol level. The differential effects of methionine supplementation of casein and SPI diets on plasma cholesterol level were discussed in relation to the difference in glycine content of both proteins. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 9, 86-92, 1988.

含硫アミノ酸はコレステロール(CHOL)代謝に影響を及ぼすが、同じ含硫アミノ酸でもMetとCysやTauではその効果が異なる¹⁾。また、Metの効果は食餌たん白質の種類や量によって異なる。CHOLを含む25%たん白質に0.8%Metを添加すると、カゼインやラクトアルブミン食ではラット血漿CHOL濃度は上昇するのに対し、分離大豆たん白質(SPI)食ではむしろ低下する傾向が見られる²⁾。このMet添加に対するSPI食とカゼイン食での応答のちがいは、SPIとカゼインのたん白質特性のちがいを強く反映していると思われる。

本研究では、血漿CHOL濃度に及ぼすMetの効果と食餌たん白質レベルとの関係をカゼインとSPIについて比較検討するとともに、血漿CHOL濃度と糞中へのステロイド排泄、肝臓cholesterol 7 α -hydroxylase活性、肝臓グルタチオン(GSH)濃度などとの関係を検討した。

実験方法

体重約100gのウィスター系雄ラットを用い、実験食を3週間自由に摂取させた。基本食は1%CHOLと0.25%コール酸ナトリウムを含む高CHOL食で、

たん白質源としてカゼイン（半井化学）は10, 15, 20, 25, 40%とし, SPI（不二製油, フジプロ R）は10, 25, 40%とした（Table 1）。これらに Met を0.8%添加した群をもうけた。飼育終了後, 約11時間絶食させ, 血液, 肝臓を採取した。解剖前3日間の糞を集めステロイドの分析に供した。血漿の各脂質は酵素法で, 肝臓脂質は化学的発色法で測定した。糞中の胆汁酸は酵素法で, 中性ステロイドはガスクロ分析により測定した。肝臓 GSH 濃度は酵素法で測定した。Cholesterol 7 α -hydroxylase（CHase）活性は HPLC を用いる Ogishima らの方法³⁾により測定した。

結果と考察

動物の成長を Fig. 1 に示す。10%たん白質レベルでは0.8% Met 添加により成長が促進されたが, それ以上のたん白質レベルではカゼイン食ではある程度の成長抑制が見られるのに対し, SPI 食では成長抑制が全く見られなかった。

Fig. 2 に血漿 CHOL 濃度を示す。10%カゼイン食では Met 添加により血漿 CHOL 濃度は低下したが, カゼイン含量の増加に伴って CHOL 濃度は上昇し25%でプラトーに達した。一方, SPI 食ではいずれのたん白質レベルにおいてもカゼイン食に比べて血漿 CHOL 濃度は低く, また Met 添加により10%と25%レベルでは有意な低下が見られた。

Fig. 3 に血漿トリグリセライド (TG) とホスホリビド (PL) 濃度を示す。TG 濃度は SPI 食の方がカゼ

イン食に比べて低く, また, 両たん白質食ともたん白質レベルの上昇に伴って TG 濃度は上昇する傾向を示した。Met 添加は TG 濃度を上昇させる傾向が見られた。PL 濃度はカゼイン食ではたん白質レベルの増加に伴って上昇する傾向があり, Met 添加により血漿 CHOL 濃度とよく似た上昇パターンを示した。SPI 食では PL 濃度の変化はほとんど見られなかった。

Fig. 4 に肝臓の CHOL と TG 含量を示す。CHOL, TG ともたん白質レベルの上昇に伴って減少する傾向が見られた。Met 添加は肝臓 CHOL を減少させる傾向があったが, TG 含量は10%たん白質レベルではむしろ有意に増加した。

Fig. 5 に糞中への中性ステロイド (NS) および胆汁酸 (BA) の排泄率を示す。値は摂取した CHOL およ

Table 1. Composition of basal diet

Ingredient	%
Casein or SPI	10~40
α -Starch	48.55~18.55
Sucrose	15
Lard	15
Corn oil	2
Salt mixture	5
Vitamin mixture	1
Choline chloride	0.2
Cellulose	2
Cholesterol	1
Sodium cholate	0.25

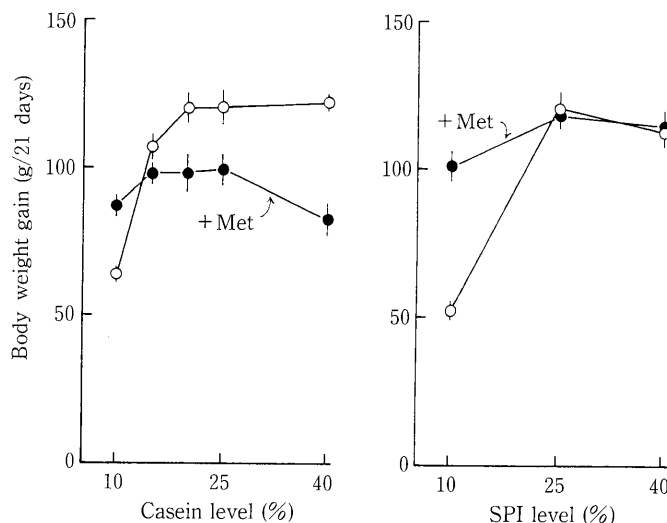


Fig. 1. Body weight gain of rats fed diets containing varied levels of casein or SPI with or without 0.8% Met supplementation. Values are mean $\pm$ SE for 6 or 7 rats.

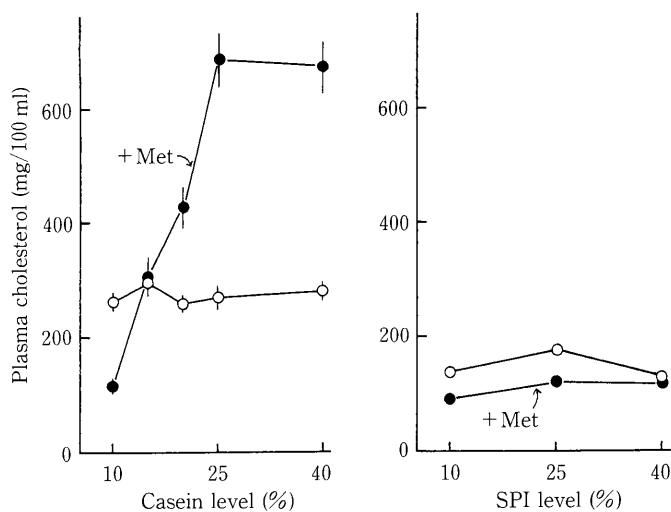


Fig. 2. Effect of Met supplementation on plasma total cholesterol.

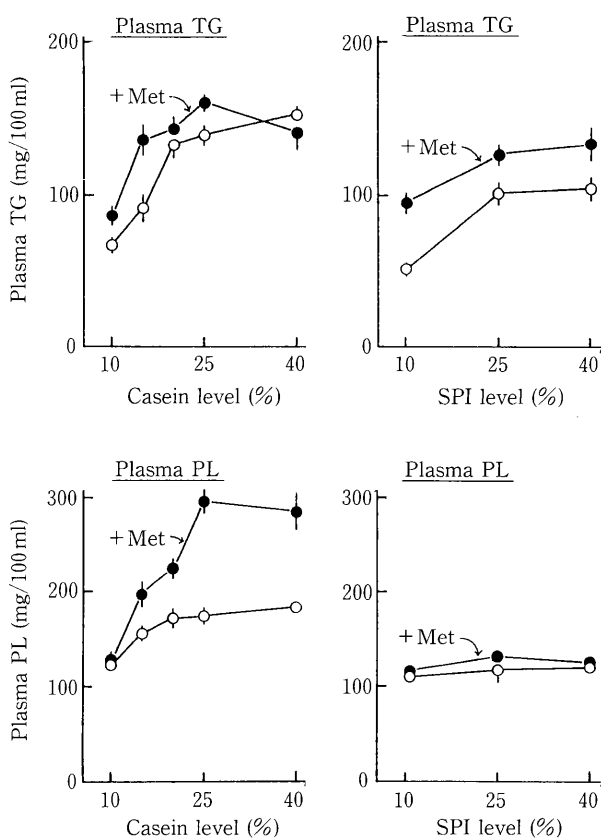


Fig. 3. Effect of Met supplementation on plasma levels of triglyceride (TG) and phospholipid (PL).

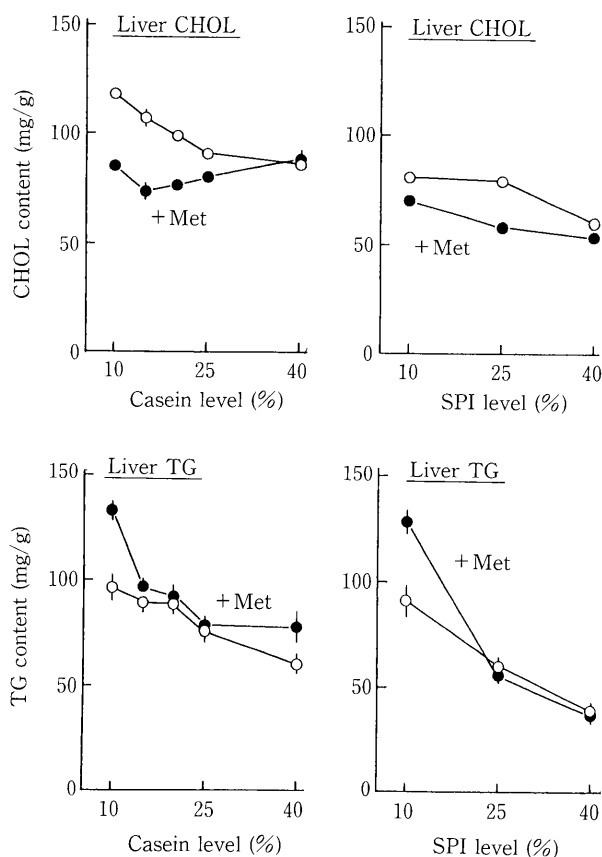


Fig. 4. Effect of Met supplementation on cholesterol (CHOL) and triglyceride (TG) content of the liver.

びコール酸ナトリウムに対する比率で表示した。NS についてみると、たん白質レベルの上昇に伴って排泄率が低下する傾向が見られたが、この傾向はカゼイン食でより顕著であった。Met 添加は NS の排泄率にはほとんど影響を与えなかった。一方、BA の排泄率は NS の排泄率とは逆にたん白質レベルの上昇に伴って上昇する傾向が見られ、また Met 添加は高カゼイン食を除いて BA の排泄率を上昇させる傾向にあった。

Fig. 6 に肝臓 GSH 濃度と肝臓ミクロゾームの CHase 活性を示す。GSH は CHase 活性を上昇させることが知られている⁴⁾。GSH 濃度はたん白質レベルの上昇に伴って、また Met 添加により上昇する傾向が見られた。一方、CHase 活性は GSH 濃度と比較的よく似た変化を示したものの細部において若干異っていた。

Table 2 に血漿、肝臓および糞中の各脂質や酵素活性などの相関をまとめて示した。カゼイン食では多くのパラメーター間に有意な相関が見られたが、血漿 CHOL 濃度との間に相関が見られたのは血漿 PL と

肝臓 GSH のみであった。一方、SPI 食では血漿 CHOL 濃度と他のパラメーターの間には有意な相関は見られなかった。

Met と CHOL 代謝との間には少くとも 3 つの接点が考えられる。一つは、Met が肝臓で代謝されて Tau を生成し、また GSH 濃度を高め、CHOL から胆汁酸への代謝や胆汁中への分泌を促進する点である。また、Met がリポプロテインの主要リン脂質であるホスファチジルコリン(PC)の合成を促進することにより、肝臓での VLDL の合成・分泌を刺激することが考えられる。これら Met の 2 つの作用は血漿 CHOL 濃度に対して相反する効果を示すことになる。さらに、Met はたん白質栄養への影響を介して CHOL 代謝にも影響を及ぼすことが考えられるが、これは特に含硫アミノ酸の不足する低たん白質食の場合に問題となるかも知れない。

本実験において、低たん白質食ではカゼイン、SPI 食とも Met 添加により血漿 CHOL 濃度は低下するのに対し、たん白質レベルの比較的高い場合にはカゼイ

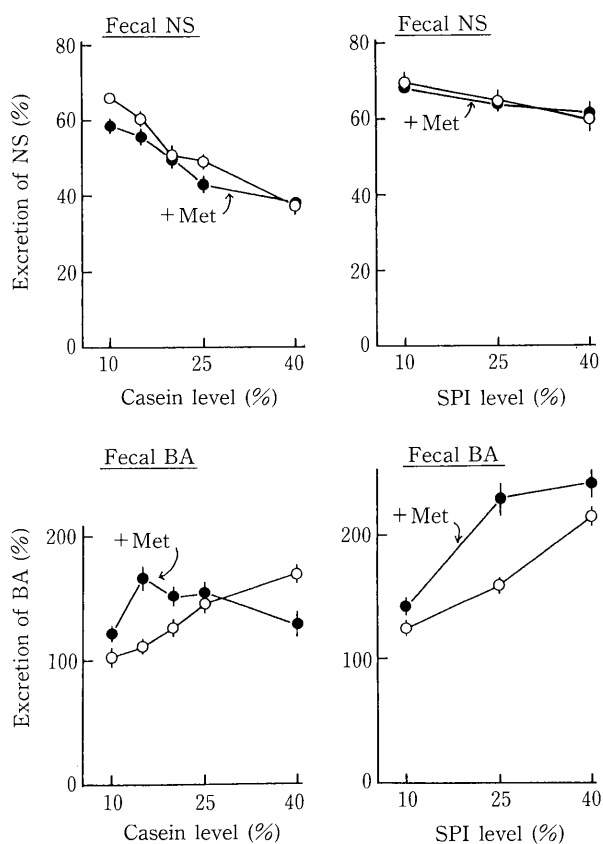


Fig. 5. Effect of Met supplementation on fecal excretion of neutral steroids (NS) and bile acids (BA).

Table 2. Correlation coefficients among lipid levels of plasma, liver and feces

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. P-CHOL									
2. P-TG	•								
3. P-PL	0.95	0.76							
4. L-CHOL	•	-0.71	•						
5. L-TG	•	-0.68	•	•					
6. L-CHase	•	0.72	•	-0.74	•				
7. L-GSH	0.67	0.90	0.80	•	-0.73	0.79			
8. F-NS	•	-0.87	-0.73	•	•	•	-0.94		
9. F-BA	•	0.79	•	-0.79	•	0.88	0.76	-0.65	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. P-CHOL									
2. P-TG	•								
3. P-PL	•	•							
4. L-CHOL	•	•	•						
5. L-TG	•	•	•	•					
6. L-CHase	•	•	•	•	•				
7. L-GSH	•	•	•	-0.86	-0.88	•			
8. F-NS	•	•	•	•	0.85	•	-0.85		
9. F-BA	•	0.86	•	-0.83	-0.83	•	0.98	-0.84	

Values represent significant correlation at $p < 0.05$.

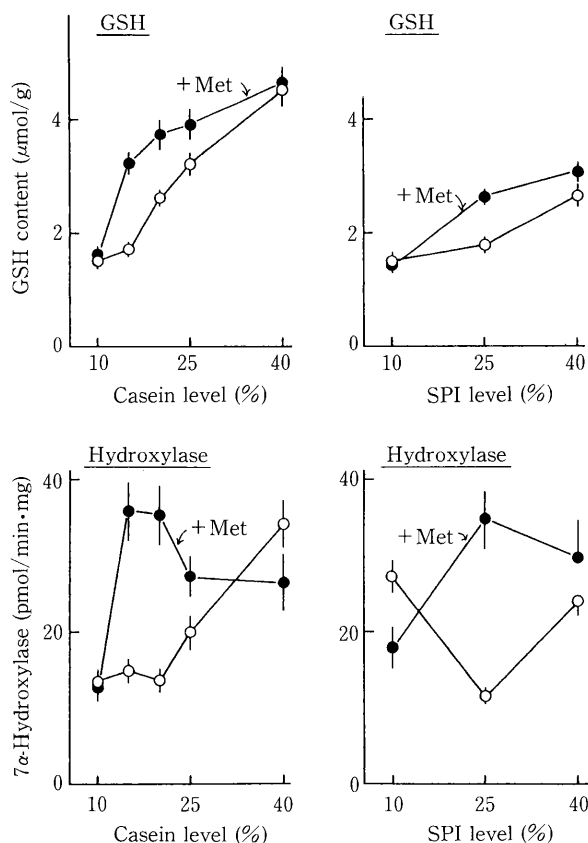


Fig. 6. Effect of Met supplementation on liver glutathione (GSH) level and cholesterol 7 α -hydroxylase activity.

ン食と SPI 食では Met 添加に対する血漿 CHOL 濃度の応答には明らかなちがいが見られた。Met に対する tolerance のちがいの原因についてはいくつか考えられる。一つは、SPI 中の Met 含量がもともとカゼインに比べて低いことである。また、カゼインと SPI 中の Gly 含量のちがいも重要であろう。十分量の Gly が共存すれば Met の代謝が促進されることはよく知られた事実である⁹⁾。さらに、SPI 食では中性ステロイドや胆汁酸の排泄率が高いこともあげられよう。

SPI 食では Fig. 1 に示すように Met による成長抑制が見られないが、これは SPI 食へ Met を添加しても Met 過剰になりにくいことを示している。これは前述の前 2 者の理由に依ると考えられるが、逆にカゼイン食では Met 過剰になり易い、あるいはカゼインは潜在的に Met 過剰の性質を有していると言えよう。Met 過剰は適当なメチル基受容体 (例えば Gly) の量との相対的なものであり、この意味でカゼインと SPI 中の Gly 含量は極めて重要と思われる。著者らは先に、カゼイン食への Met 添加による血漿 CHOL の上昇は Gly 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⁹⁾、また、これは SPI への Met 添加による血漿 CHOL 低下と類似性を有することを認めた²⁾。Met 過剰はメチル基過剰として扱えることができ、これはリン脂質合成に影響を及ぼす。Yao and Vance は最近、コリン欠食投与ラットからの初代培養肝細胞の培地に Met を添加するとホスファチジルエタノールアミンのメチル化による PC 合成の促進とともに VLDL の分泌も増加することを示した⁷⁾。一方、例えばニコチン酸やニコチン酸アミドのようにメチル化されたのち体外に排泄される化合物は血漿 CHOL 濃度を低下させることが知られているが⁸⁾、その作用の一部は Met からの PC 合成の抑制にあることが Gly の場合⁹⁾と同様に想像される。また、柳田らは、SPI 食投与ラットではカゼイン食投与ラットに比べて CDP-コリン経路での PC 合成活性が低いことを見出し、SPI の血漿 CHOL 低下作用との関連性を指摘している¹⁰⁾。Met と CHOL 代謝との関係を PC 合成の調節という観点から詳細に検討する必要があると思われる。

文 献

- 1) Sugiyama, K., Kushima, Y. and Muramatsu, 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.
- 2) 村松敬一郎, 杉山公男, 大石章夫 (1987): 植物性および動物性たん白質へのメチオニン添加と血漿コレステロール濃度, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **8**, 98-103.
- 3) Ogishima, T. and Okuda, K. (1986): An improved methods for assay of cholesterol 7 α -hydroxylase. *Anal. Biochem.*, **158**, 228-232.
- 4) Danielsson, H., Kalles, I. and Wikvall, K. (1984): Regulation of hydroxylations in biosynthesis of bile acids. *J. Biol. Chem.*, **259**, 4258-4262.
- 5) Harper, A. E., Benevenga, N. J. and Wohlschuetz, R. M. (1970): Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiol. Rev.*, **50**, 428-558.
- 6) 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.
- 7) Yao, Z. and Vance, D. E. (1988): The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.*, **263**, 2998-3004.
- 8) Henderson, L. M. (1983): Niacin. *Ann. Rev. Nutr.*, **3**, 289-307.
- 9) 杉山公男, 大石章夫, 村松敬一郎 (1987): ラット血漿コレステロール濃度に及ぼすグリシンとタウリンの影響, 必須アミノ酸研究, No. 116, 43-47.
- 10) 柳田晃良, 高木裕之, 山本匡介, 榎本則行 (1988): 栄養条件とリン脂質代謝 (III) 食餌タンパク質の影響, 第42回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, p. 81.