

大豆たん白質摂取時におけるアミノ酸炭素骨格の代謝

METABOLIC FATES OF CARBON SKELETONS OF AMINO ACIDS IN GROWING RATS FED ON THE SOY PROTEIN ISOLATE DIETS

田中秀幸・小椋正次（宇都宮大学農学部）

Hideyuki TANAKA and Masaji OGURA

Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, Utsunomiya 321

ABSTRACT

The metabolic responses to dietary protein intake have been investigated in growing rats fed on the diets containing graded levels (0, 5, 10, 15, 20, 30, and 40 PC%) of the soy protein isolate "Fujipro R" at 4,100 kcal of metabolizable energy per kg of diet. Body weight gain and food efficiency reached a plateau at 20 PC% (protein calorie percent) in the diet. Protein efficiency ratio (PER) attained a maximum at 10 PC%, being estimated to be 2.4 for soy protein isolate while 3.9 for purified whole egg protein. The body protein retention increased from 0 to 20 PC%, and thereafter it remained almost constant. As for body composition, the carcass lipid content gave a blunt peak from 5 to 20 PC% and the liver lipid content at 5 PC% was significantly increased to a level of the so-called fatty liver. At 12 hr after the intraperitoneal injection of L-[U- ^{14}C] methionine and L-[U- ^{14}C] threonine, the percentage recoveries of the radioactivity in body protein, lipid and soluble fractions were approximately 70, 3 and 10% of the injected dose, respectively. The overall oxidative degradation of labeled methionine and threonine to expired $^{14}\text{CO}_2$ was depressed at the lower PC%, but it increased gradually at higher PC% in the diet. The results suggest that the carbon skeleton of methionine or threonine is preferentially utilized for protein synthesis, and that the metabolic response of these amino acids to protein intake changes at around 20 PC%, where the growth rate reached its maximum. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 10, 96-102, 1989.

食餌たん白質は消化吸収された後、体たん白質の分解に由来するアミノ酸と共に体内アミノ酸プールを形成する。このプール中のアミノ酸は、第一義的には体たん白質の合成に利用されるが、たん白質の供給過剰時あるいはエネルギー欠乏時には分解されてその炭素骨格はエネルギー源の素材として利用される。このような個々のアミノ酸の体内代謝が、摂取たん白質の量と質によりどのような影響を受けるかについてはいまだ十分に解明されてはいない。我々は比較基準たん白質として精製全卵たん白質を用いてアミノ酸炭素骨格の基本的代謝パターンについて報告¹⁻³⁾してきた。本研究では、分離大豆たん白質摂取時における個々のア

ミノ酸の体内利用性について測定し、代表的な植物性たん白質である大豆たん白質の栄養価と体内代謝との関連について考察することを計画した。

はじめに、分離大豆たん白質の栄養価に関する基礎的データを得るため、ラットの成長試験を行ない、体重増加、体成分組成、たん白質効率 (PER) 等を測定した。次いで、アミノ酸の代謝試験を行ない、 ^{14}C -標識メチオニンとスレオニン投与時の呼気炭酸ガス、尿、体たん白質、体脂質および体可溶性画分への ^{14}C の分布を測定し、アミノ酸炭素骨格の代謝とその栄養的意義について考察を加えた。

実験方法

実験1 成長試験

実験動物としてウィスター系雄ラット（初体重約90 g）を用い、各区6匹とし21日間の飼育試験を行なった。たん白質源として分離大豆たん白質フジプロ R（以下 SPI, soy protein isolate）を使用した。飼料中の代謝エネルギー（4100 kcal/kg）のうち SPI の代謝エネルギーが占める割合を、各々0, 5, 10, 15, 20, 30及び40 PC%とした7区の飼料区を設定した（Table 1）。水で練って団子状にした飼料と水を、自由摂取させた。飼育期間中の体重と飼料摂取量を、1日おきに測定した。飼料摂取量は、凍結乾燥した乾物量に基づいて計算された。

動物は、屠体と肝臓に分け、屠体を液体窒素で冷却しながら電動挽肉機に3回かけて均質化した。均質化した屠体と肝臓の各々について、クロロホルム-メタノールで脂質を抽出し、ケルダール法により窒素を定量して体たん白質量を算出し、また凍結乾燥前後の重量の差から水分量を算出した。各測定値から、たん白質効率（PER）、飼料効率、体たん白質保留量および体脂質保留量を算出した。

実験2 アミノ酸代謝試験

実験動物の飼育条件は、試験飼料区を5, 10, 15, 20, および30 PC%の5区（各区4匹）とし、飼育期間を10日間とした以外は実験1の成長試験の場合とほぼ同様である。10日目の12:00から21:00まで9時間絶食させ、21:00から24:00まで3時間同じ実験食を投与することによりアイソトープ投与時の摂食状態を一樣にした。L-[U-¹⁴C] Met (48.5 kBq/0.4 ml

saline/100 g BW)あるいはL-[U-¹⁴C] Thr (57.7 kBq/0.4 ml saline/100 g BW)を腹腔内注射し、直ちにガラス製代謝装置に移し、12時間にわたって呼吸炭酸ガスと尿を採取した。

動物を12時間後に殺し、肝臓とその他の屠体を分けた。上述のように均質化した屠体と肝臓のそれぞれを、Folch 法によるクロロホルム-メタノール（2:1 V/V）抽出で脂質画分を、さらにこの残渣を冷トリクロロ酢酸で抽出してたん白質画分を得た。また、脂質とたん白質画分以外の残部を合一して可溶性画分とした。各画分を定容後、その一定量について液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

結果と考察

分離大豆たん白質による成長試験

ラットの成長曲線は、5 PC%区では実験期間中体重を維持させ、10と15 PC%区では実験開始初期に若干の増加の遅滞が認められた。20～40 PC%区では体重は直線的に増加した。体重、肝臓重量、飼料摂取量および増体重を摂取量で除した飼料効率は、10～15 PC%区附近でプラトーに達していた（Table 2）。ラットの増体重に及ぼす分離大豆たん白質レベルの影響を、精製全卵たん白質で得られた結果とともに Fig. 1に示す。分離大豆たん白質の場合、20 PC%区附近ではほぼ最大成長を示した。全卵たん白質の場合¹⁾、10 PC%区附近で最大成長に達しており、その値は、これら2種のたん白質ではほぼ等しかった（7 g/日）。

屠体と肝臓の水分、たん白質、脂質の成分組成は、分離大豆たん白質摂取レベルにより顕著に影響を受けていた。屠体の成分組成では、脂質の変動が著しく、

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	(dry g/kg diet)						
	Groups (PC%)						
	0	5	10	15	20	30	40
Soy protein ¹	0	56	113	169	225	338	450
Corn starch	800	744	687	631	575	462	350
Lard	100	100	100	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50
Salts ²	40	40	40	40	40	40	40
Vitamins ²	10	10	10	10	10	10	10
Metabolizable energy (kcal/kg)	4100	4100	4100	4100	4100	4100	4100

¹Soy protein isolate : Fujipro R g=4100 × PC%/100/4/0.9104.

²Oriental Yeast Co. Ltd.

5～20 PC%区で増加しており、とくに10 PC%区でピークが観察された (Table 3)。これに対して水分、たん白質の組成比は脂質のそれと相補的に変化しており、10 PC%区で最低値が得られた。肝臓の成分組成では、体たん白質の組成比は、たん白質摂取レベルの増加にともない高くなる (Table 4)。5 PC%区で肝臓に脂質が異常に蓄積しており、脂肪肝の症状を呈していた。これは低たん白質食でしばしば観察される現象であり、精製全卵たん白質の場合にも観察されている¹⁾。

21日間の体たん白質の蓄積量は、20 PC%区まで急激に増加し、それ以後20から40 PC%区にかけて徐々

に増加していた (Fig. 2)。また、体脂質蓄積量は10～20 PC%区で高い値を示し、これらの飼料区では体たん白質蓄積量をはるかに上回っており、増体重に占める体脂肪蓄積の割合が重要であることが認められた。他方、全卵たん白質の場合、体たん白質蓄積量は10 PC%区でプラトーになっており、分離大豆たん白質のそれと若干異なっている。

たん白質効率 (PER) は、5 PC%区でその値は0.1で極端に低いが、10 PC%区で最大値2.4を示し、その後摂取レベルの増加に伴い減少していた (Fig. 3)。精製全卵たん白質の PER は10 PC%区で最大値3.9を示し、20 PC%以後の値は分離大豆たん白質のそれとほ

Table 2. Body weight, liver weight, food intake and food efficiency in growing rats at graded levels of SPI for 21 days

(PC%)	Initial body wt	Final body wt	Liver wt	Food intake	Food efficiency
	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g/21 days</i>	
0	91±2	69±2	2.8±0.1	89± 5	-0.25±0.02
5	90±1	92±3	4.4±0.3	121± 8	0.00±0.03
10	92±2	165±9	5.8±0.3	277±19	0.27±0.02
15	92±2	205±6	7.2±0.3	289±10	0.39±0.01
20	91±2	236±5	8.1±0.3	313±16	0.47±0.02
30	90±2	233±5	9.6±0.3	297± 8	0.48±0.02
40	91±2	244±9	10.4±0.5	290± 7	0.53±0.02
Diff.	N. S.	27.3	1.5	50	0.09

($p < 0.05$)

The values are mean±SE for six rats. Tukey's test was taken as a criterion of statistical significance with a probability level of 0.05.

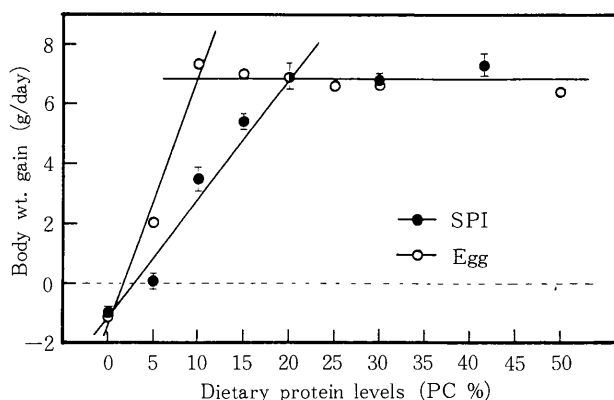


Fig. 1. Body weight gain in growing rats fed on soy protein isolate (—●—) and purified whole egg protein (—○—) diets for 21 days. Mean±SE of 6 rats for SPI. See ref. 1 for the data of whole egg protein.

Table 3. Carcass composition of growing rats fed graded levels of SPI for 21 days

Groups	Water	Protein	Lipid
PC%	%	%	%
0	66.4±0.4	18.2±0.2	10.3±0.6
5	61.4±0.5	17.5±0.2	16.3±0.6
10	56.8±0.9	15.5±0.4	23.2±1.0
15	58.9±1.1	17.0±0.4	19.6±1.0
20	58.5±0.8	17.0±0.3	19.8±0.8
30	62.2±1.2	18.9±0.4	13.8±0.4
40	63.4±0.6	19.2±0.3	14.7±1.9
Diff.	3.6	1.5	4.4
(p<0.05)			

The values are mean±SE for six rats. Tukey's test was taken as a criterion of statistical significance with a probability level of 0.05.

Table 4. Liver composition in growing rats at graded levels of SPI for 21 days

Groups	Water	Protein	Lipid
PC%	%	%	%
0	68.0±1.2	12.9±0.6	8.4±0.5
5	65.9±1.1	11.5±1.5	11.5±1.6
10	69.4±0.3	16.3±0.4	5.9±0.6
15	69.5±0.2	18.0±0.3	5.2±0.3
20	68.9±0.2	18.7±0.2	5.8±0.2
30	68.7±0.1	19.4±0.5	5.1±0.2
40	68.8±0.1	20.8±0.2	4.9±0.1
Diff.	3.6	1.5	3.5
(p<0.05)			

The values are mean±SE for six rats. Tukey's test was taken as a criterion of statistical significance with a probability level of 0.05.

Table 5. Distribution of radioactivity in expired $^{14}\text{CO}_2$ and urine from L-[U- ^{14}C] methionine and L-[U- ^{14}C] threonine in growing rats fed graded levels of SPI for 10 days

Groups	^{14}C -Methionine		^{14}C -Threonine	
	$^{14}\text{CO}_2$	Urine	$^{14}\text{CO}_2$	Urine
PC%	% of the injected dose			
5	9.2±1.1	1.7±0.01	9.2±0.3	2.2±0.1
10	7.6±0.2	1.0±0.2	11.0±0.2	2.5±0.2
15	8.9±0.5	1.6±0.8	12.7±1.0	2.8±0.1
20	11.0±0.6	0.7±0.1	17.7±0.2	2.8±0.04
30	16.3±0.6	0.6±0.1	21.9±0.5	2.6±0.3
Diff.	3.1	N. S.	2.0	N. S.
(p<0.05)				

The values are mean±SE for four rats. Tukey's test was taken as a criterion of statistical significance with a probability level of 0.05.

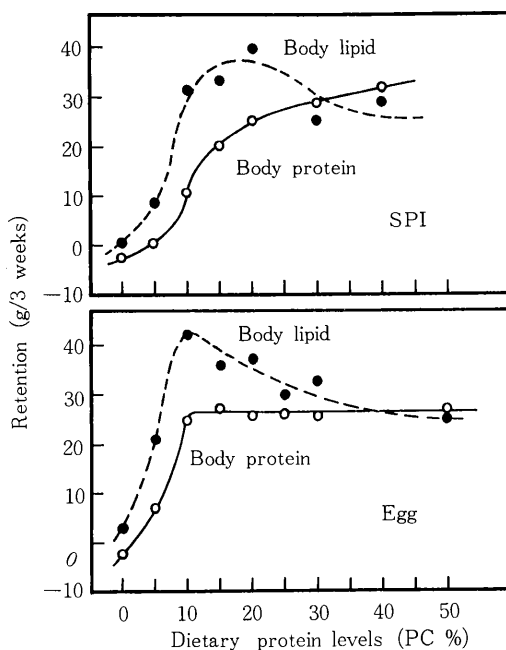


Fig. 2. Body protein retention (—○—) and body lipid retention (—●—) in growing rats fed on soy protein isolate (A) and purified whole egg protein (B) diets for 21 days. Mean±SE of 6 rats for SPI. See ref. 1 for the data of whole egg protein.

ば一致して減少していた。

アミノ酸 (L-[U- 14 C] Met と L-[U- 14 C] Thr) の代謝試験

標識アミノ酸投与後12時間の 14 C-Met および 14 C-Thr からの呼気 14 CO $_2$ 産生は、低たん白質食区で低く抑えられており、20 PC%区以上では増加していた (Table 5)。 14 C-Met の値は、5 PC%区を除く飼料区

で 14 C-Thr の値より低くなっていた。一方体たん白質への取り込み割合は、低たん白質食区で高く (投与量の70~80%), 高たん白質食区では低下しており、呼気 14 CO $_2$ 産生のパターンとはミラー・イメージで変化していた (Table 6)。これらのアミノ酸の炭素骨格が体脂質へ転換する割合は、比較的低いが、Met の値は Thr のそれを若干上回っていた。可溶性画分の値

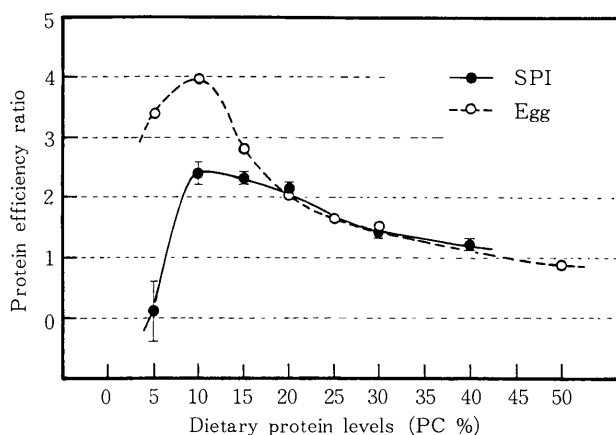


Fig. 3. Protein efficiency ratio in growing rats fed on soy protein isolate (—●—) and purified whole egg protein (—○—) diets. Mean $\pm$ SE of 6 rats for SPI. See ref. 1 for the data of whole egg protein.

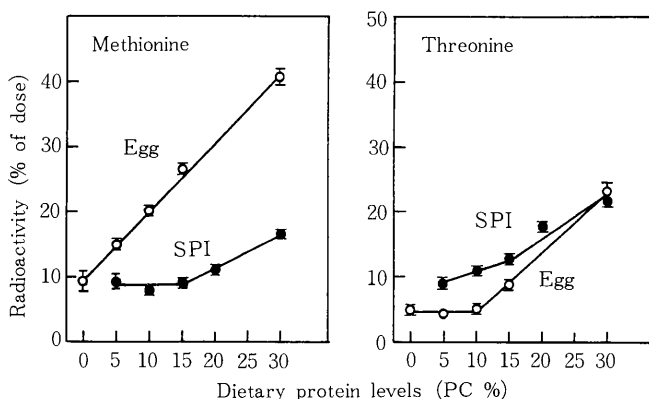


Fig. 4. Expired 14 CO $_2$ production from L-[U- 14 C]-methionine and L-[U- 14 C] threonine in growing rats fed on soy protein isolate and purified whole egg protein diets for 10 days. Mean $\pm$ SE of 4 rats. See refs. 2 and 4 for the data of whole egg protein.

は、投与量の約10%程度であった。

含硫アミノ酸の要求性が高いラットにおいては、メチオニンが大豆たん白質の第一制限アミノ酸となる。また、第二制限アミノ酸は、スレオニンである。これらのアミノ酸の呼気 $^{14}\text{CO}_2$ 産生パターンについて比較基準たん白質である精製全卵たん白質食⁴⁾で得られた結果と比較した (Fig. 4)。 ^{14}C -Met からの呼気 $^{14}\text{CO}_2$ 産生は、分離大豆たん白質食では明らかに全卵たん白質食よりも低い値であった。これに対し ^{14}C -Thrのパターンは、むしろ全卵たん白質食のそれを上回っていた。全卵たん白質食での ^{14}C -Met からの呼気 $^{14}\text{CO}_2$ 産生は、たん白質摂取レベルに対して直線的に増加しており、Aguilar ら⁵⁾も食餌中の Met レベルに対して ^{14}C -Met からの呼気 $^{14}\text{CO}_2$ 産生が直線的であることを報告している。いずれにしても、制限アミノ酸である Met および Thr は、体たん白質合成に優先的に利用されており、とくに分離大豆たん白質食での Met の酸化分解は低く抑えられていることが示された。制限アミノ酸が充足されていない時、相対的に過剰に供給される他の必須アミノ酸の体内挙動については、さらに次の検討課題である。

要 約

以上の結果から成長期のラットを分離大豆たん白質で飼育した場合、増体重あるいは体内たん白質・エネルギー代謝の様相が20 PC%附近で大きく転換していることが示唆された。 ^{14}C -Met からの呼気 $^{14}\text{CO}_2$ 産生は、低たん白質食では低く抑制されており、20 PC%付近で屈曲点を持ったパターンを示した。体たん白へ ^{14}C -Met の取り込みは高く、とくにたん白質欠乏時に効率よく利用されていた。 ^{14}C -Thr の酸化分解の割合は、 ^{14}C -Met よりも高い値を示した。しかし、体たん白質合成への ^{14}C -Thr の利用は、 ^{14}C -Met のそれとほぼ同じ程度であった。

文 献

- 1) Tanaka, H., Yamaguchi, M. and Kametaka, M. (1974): Body composition and utilization of protein and energy in growing rats at different dietary protein to energy ratios by use of purified whole egg protein. *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1113-1120.

Table 6. Distribution of radioactivity in the protein, lipid and soluble fractions of carcass and liver after the injection of L-[U- ^{14}C] methionine and L-[U- ^{14}C] threonine in growing rats fed graded levels of SPI for 10 days

Dietary group	Protein		Lipid		Soluble fraction	
	Carcass	Liver	Carcass	Liver	Carcass	Liver
PC%			% of the injected dose			
¹⁴ C-Methionine						
5	70.4±2.4	9.9±0.4	2.2±0.2	1.5±0.1	7.7±0.6	1.2±0.23
10	77.8±0.9	9.5±0.7	1.6±0.02	1.1±0.02	7.7±0.8	0.8±0.01
15	74.8±0.7	8.1±0.4	1.6±0.1	1.1±0.1	8.3±0.3	0.8±0.10
20	67.5±1.2	7.7±0.5	2.0±0.1	1.3±0.1	8.0±0.4	0.9±0.08
30	64.0±1.2	7.2±0.2	3.7±0.5	1.5±0.1	8.2±0.7	1.0±0.03
Diff.	6.0	N. S.	1.6	0.4	N. S.	N. S
(p<0.05)						
¹⁴ C-Threonine						
5	70.2±2.7	10.8±2.1	1.2±0.1	0.10±0.01	10.4±0.2	1.6±0.1
10	71.1±1.0	8.5±0.5	1.5±0.1	0.12±0.01	12.6±0.3	1.5±0.1
15	61.8±3.1	6.7±0.2	2.5±0.6	0.09±0.01	11.5±0.9	1.2±0.1
20	66.1±0.6	6.3±0.1	1.8±0.1	0.11±0.01	7.9±0.4	1.0±0.1
30	62.7±1.0	6.3±0.2	1.7±0.1	0.11±0.01	7.2±0.3	1.0±0.1
Diff.	6.9	4.2	0.5	N. S.	1.9	0.5
(p<0.05)						

The values are mean $\pm$ SE for four rats. Tukey's test was taken as a criterion of statistical significance with a probability level of 0.05.

- 2) Tanaka, H., Nakatomi, Y. and Ogura, M. (1987) : Metabolism of phenylalanine, tyrosine and aspartic acid in growing rats at various dietary protein levels. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 499-505.
(1987) : Metabolism of glycine and threonine in growing rats at various dietary protein levels. *ibid.*, **51**, 3087-3093.
- 3) Tanaka, H., Fukushima, T. Nakatomi, Y. and Ogura, M. (1988) : Metabolism of valine and isoleucine in growing rats at various dietary protein levels. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 811-817.
- 4) Tanaka, H., and Ogura, M. (1989) : Metabolism of methionine and cysteine in growing rats at various dietary protein levels. (in preparation)
- 5) Aguilar, T. S., Harper, A. E. and Benevenga, N. J. (1972) : Efficiency of utilization of indispensable amino acids for growth by the rat. *J. Nutr.*, **102**, 1199-1208.