

大豆たん白質摂取時におけるアミノ酸の代謝と栄養的意義

—ロイシン, リジン, セリン, アラニン—

METABOLIC FATES OF CARBON SKELETONS OF AMINO ACIDS IN GROWING RATS FED THE SOY PROTEIN ISOLATE DIETS —LEUCINE, LYSINE, SERINE AND ALANINE—

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 of carbon skeleton of individual amino acid to dietary protein intake have investigated in growing rats fed the diets containing graded levels (5, 10, 15, 20, 30 or 40 protein calories %, PC%) of the soy protein isolate "Fuji-pro R" at 4,100 kcal of metabolizable energy per kg of diet. Body weight gain reached approximately a plateau at 20 PC% in the diet. At 12 hr after the intraperitoneal injection of L-[U-¹⁴C] leucine, L-[U-¹⁴C] lysine, L-[U-¹⁴C] serine and L-[U-¹⁴C] alanine, the distribution of the radioactivity in expired carbon dioxide, urine, body protein, lipid and soluble fractions was measured. The overall oxidative degradation of the essential amino acids, leucine and lysine, was depressed in the protein depletion, but it increased gradually at higher PC% in the diet. The incorporation of ¹⁴C into the body protein from labeled leucine and lysine was high in protein depletion but it declined in the higher PC% groups. The carbon skeleton of serine was nonspecifically incorporated into the body protein, and alanine was oxidized to a great extent over the all range of dietary protein levels. These results suggest that the carbon skeletons of essential amino acids (methionine, threonine, leucine and lysine) are preferentially utilized for protein synthesis, and that the metabolic responses of these amino acids to dietary protein intake change at around 20 PC%, where the growth rate reached its maximum. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 11, 43-48, 1990.

体内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、食餌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炭素骨格の代謝が、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、代表的な植物性たん白質である大豆たん白質(分離大豆たん白質, SPI)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、その栄養価との関連について考察することを計画した。前報⁴⁾で、SPI摂取時の制限アミノ酸である¹⁴C-メチオニンの代謝運命について測定したところ、呼吸¹⁴CO₂産生は低く抑えられており、精製全卵たん白質食で得られた結

果とは著しく異なっていた。このことは、SPI 食では体内でのメチオニンの利用性がより高くなっていることを示唆している。今回は、必須アミノ酸のロイシンおよびリジンの代謝運命と、可欠アミノ酸であるセリンおよびアラニンの代謝運命について測定し、精製全卵たん白質で得られた結果と比較検討した。

実験方法

実験動物としてウィスター系雄ラット（初体重約80 g）を用い、10日間の飼養試験を行なった。たん白質源として SPI（フジプロ R）を使用した。飼料の代謝エネルギー（4100 kcal/kg）のうち SPI の代謝エネルギーが占める割合を、各々 5、10、15、20、および 30（or 40）% とした飼料区（各区 4 匹）を設定した（Table 1）。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様にした。L-[U-¹⁴C] ロイシン（61.3 kBq/0.4 ml saline/100 g BW）、L-[U-¹⁴C] リジン（69.5 kBq）、L-[U-¹⁴C] セリン（63.6 kBq）あるいは L-[U-¹⁴C] アラニン（134.2 kBq）を腹腔内注射し、直ちにガラス製代謝装

置に移し、呼気炭酸ガスと尿を採取した。動物を12時間後に殺し、均質化した屠体を、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処理してたん白質画分と可溶性画分を得た。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

ラットの10日間の成長は、5 PC%区では体重をほぼ維持しており、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が、20～40 PC%区ではほぼ直線的な成長を示した（Fig. 1）。増体重は、20 PC%区まで急激に増加し、20～40 PC%区でも漸増していた（Table 2）。

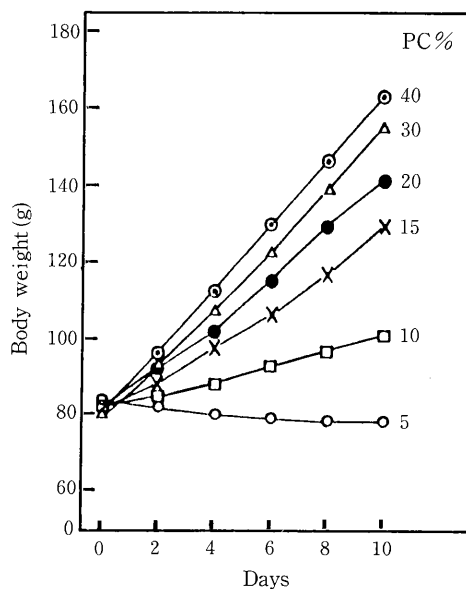


Fig. 1. Growth of rats on the soy protein isolate diets.

Table 1. Composition of diets (g/kg diet)

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

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

² Oriental Yeast Co. Ltd.

Table 2. Body weight gain and liver weight in growing rats at graded levels of soy protein isolate for 10 days

(PC%)	Initial BW	Final BW	Body wt gain	Liver wt
	g	g	g	g
5	84.4±2.3	77.4±1.1	-0.7±0.2	2.9±0.1
10	83.6±1.9	98.4±3.4	1.5±0.3	3.2±0.1
15	81.9±2.4	126.0±2.5	4.4±0.3	4.4±0.2
20	83.2±1.5	141.9±2.0	5.9±0.2	4.8±0.1
30	82.1±1.5	157.3±4.1	7.5±0.4	5.3±0.2
40	82.2±1.5	162.7±3.0	8.1±0.4	6.0±0.2
Diff.	N. S.	12.0	1.2	0.7
(p<0.05)				

L-[U-¹⁴C] ロイシンおよび L-[U-¹⁴C] リジンの代謝試験

¹⁴C-ロイシンあるいは¹⁴C-リジンを腹腔内に投与した後12時間における放射能の回収割合を Table 3 に示す。呼吸 ¹⁴CO₂ 産生は、低たん白質食区で低く抑えられており、20 PC%区まではほぼ直線的に増加したが、20 PC%区以上では増加率は少し鈍るようである。投与した放射能の大部分は体たん白質画分から回収され、低たん白食区では投与量の60～70%であり、高たん白食区では徐々に低下していた。屠体及び肝臓たん白質を加水分解したのちアミノ酸アナライザーにより構成アミノ酸を分画分取してその放射能を測定したところ、ロイシンあるいはリジン画分中に放射能が検出され、他のアミノ酸画分には存在していなかった。いずれにしても、体たん白質への取り込み割合は、呼吸¹⁴CO₂産生のパターンとはミラー・イメージで変化していた。これらの必須アミノ酸の炭素骨格が体脂質へ転換する割合は低いが、ケト原性アミノ酸であるロイシンはこれまで調べた必須アミノ酸の中で最も高い値（5～6 % of dose）であった。リジンの可溶性画分の値は、投与量の6～8 %程度と比較的高い値であり、さらにDowex 50×8 および Dowex 1×2 によるクロマト分析をしたところ、放射能は主に遊離リジンを含むペプチド類に存在した。

L-[U-¹⁴C] セリンおよび L-[U-¹⁴C] アラニンの代謝試験

可欠アミノ酸である¹⁴C-セリンあるいは¹⁴C-アラニンについての結果を Table 4 に示す。セリンの場合、呼吸¹⁴CO₂産生は投与量の約30%であり、体たん白質への取り込み割合は約40%であった。両画分ともに食餌たん白質レベルの影響をほとんど受けずにはば一定の値を維持していた。体たん白質を加水分解して構成アミノ酸に取り込まれた放射能を分析した。その結果、セリンの炭素骨格の約50%がグリシンに転換されて体たん白質に取り込まれていることが明らかになった。可溶性画分には投与量の約10%が、また脂質画分には約5～7%が回収された。以前行なった実験では、脂質画分に取り込まれたセリンの放射能は主にリン脂質に存在していたことから、本実験でも同様にフォスファチジルセリン等のリン脂質にその放射能が存在する可能性が強い。

アラニンの場合、呼吸¹⁴CO₂産生は著しく高い値を示し、とくに低たん白質食区の5PC%で最も高く、投与量の70%が呼吸炭酸ガス中に回収された。さらに、体脂質への取り込み割合は体たん白質へのそれを上回っており、とくに15 PC%区ではピークを示し投与量の約30%に達していた。体成分分析の結果でもこの食餌たん白質レベル付近での脂肪蓄積量は高く、体内で

Table 3. Distribution of radioactivity in the body protein, lipid and soluble fractions in growing rats after the injection of L-[U-¹⁴C] leucine and L-[U-¹⁴C] lysine

Dietary group (PC%)	¹⁴ CO ₂	Urine	Body protein	Body lipid	Body soluble fraction
% of the injected dose					
¹⁴ C-Leucine					
5	15.3±1.5	1.3±0.6	70.1±1.2	6.5±0.1	3.0±0.2
10	20.7±0.6	0.7±0.1	66.3±1.1	6.2±0.8	2.8±0.3
15	24.5±1.6	1.0±0.1	61.9±1.8	5.8±0.2	2.8±0.2
20	27.4±0.5	1.3±0.1	58.4±0.9	5.5±0.1	3.9±1.5
30	30.4±1.3	1.7±0.1	54.5±1.2	5.1±0.1	2.8±0.2
Diff.	5.3	N. S.	5.5	0.5	N. S.
(p<0.05)					
¹⁴ C-Lysine					
5	9.0±1.0	2.6±0.1	64.1±1.9	1.8±0.1	8.5±0.3
10	12.8±1.3	2.9±0.1	68.2±1.8	1.9±0.1	7.3±0.5
15	17.3±0.4	3.0±0.1	60.0±1.3	2.6±0.2	6.2±0.3
20	19.7±1.5	3.1±0.1	55.2±1.6	2.3±0.3	6.6±0.1
40	27.7±1.7	4.6±0.2	42.8±1.3	3.0±0.2	7.3±0.1
Diff.	5.4	0.6	7.0	0.9	1.3
(p<0.05)					

の脂肪合成が盛んに行なわれていることが推定される。体たん白質への取り込み割合は低く投与量の約10%であった。このことはアラニンの炭素骨格は、急速にアミノ基転移されてビルビン酸となりエネルギー代謝と密接に関連していることを示唆するものと考えられる。

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. 2)。メチオニンとスレオニンの結果も同時に示した。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1制限アミノ酸となる。メチオニンからの呼気 $^{14}\text{CO}_2$ 産生のパターンは、全卵たん白質食ではその摂取レベルに対して直線的に増加しているのに対して、SPI でのパターンは低たん白質レベルで強く抑制され

Table 4. Distribution of radioactivity in the body protein, lipid and soluble fractions in growing rats after the injection of L-[U- ^{14}C] serine and L-[U- ^{14}C] alanine

Dietary group (PC%)	$^{14}\text{CO}_2$	Urine	Body protein	Body lipid	Body soluble fraction
% of the injected dose					
^{14}C -Serine					
5	30.2 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.1	40.8 $\pm$ 0.4	5.7 $\pm$ 0.2	11.0 $\pm$ 0.5
10	29.0 $\pm$ 0.9	1.1 $\pm$ 0.1	46.5 $\pm$ 2.8	6.5 $\pm$ 0.1	10.5 $\pm$ 0.4
15	29.6 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.1	42.2 $\pm$ 0.6	7.2 $\pm$ 0.4	9.3 $\pm$ 0.3
20	30.4 $\pm$ 1.7	1.6 $\pm$ 0.1	41.4 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 0.4	9.0 $\pm$ 0.5
30	30.9 $\pm$ 0.9	2.0 $\pm$ 0.2	42.9 $\pm$ 0.9	5.5 $\pm$ 0.5	10.0 $\pm$ 0.7
Diff.	N. S.	0.5	N. S.	1.6	N. S.
(p<0.05)					
^{14}C -Alanine					
5	70.8 $\pm$ 2.7	0.5 $\pm$ 0.1	9.0 $\pm$ 1.9	10.7 $\pm$ 2.2	4.0 $\pm$ 0.6
10	67.0 $\pm$ 2.1	0.9 $\pm$ 0.1	9.5 $\pm$ 0.9	15.8 $\pm$ 1.7	4.6 $\pm$ 1.0
15	56.2 $\pm$ 3.3	1.3 $\pm$ 0.1	7.9 $\pm$ 1.0	29.7 $\pm$ 5.5	3.8 $\pm$ 0.5
20	55.9 $\pm$ 2.8	2.1 $\pm$ 0.1	10.1 $\pm$ 0.1	20.2 $\pm$ 1.7	4.5 $\pm$ 0.5
40	60.3 $\pm$ 2.1	3.5 $\pm$ 0.1	12.4 $\pm$ 0.6	12.5 $\pm$ 1.0	5.6 $\pm$ 0.5
Diff.	11.6	0.4	N. S.	12.6	N. S.
(p<0.05)					

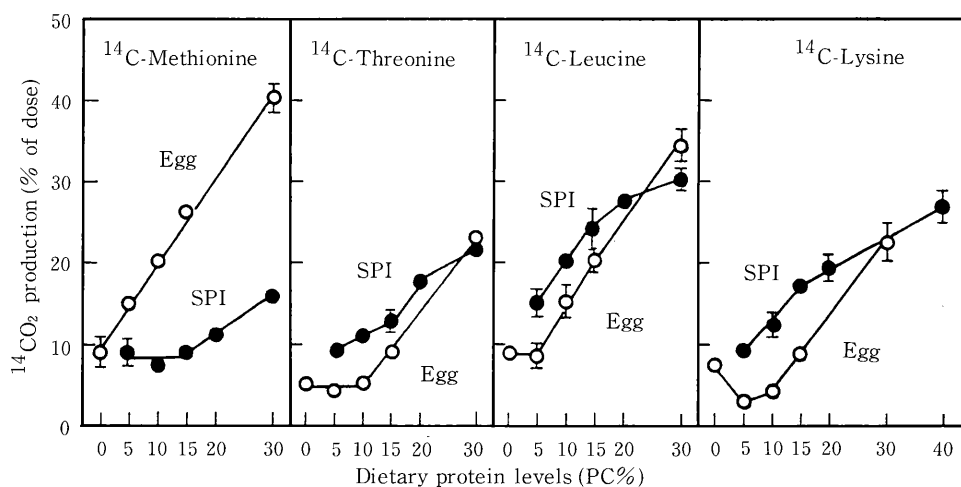


Fig. 2. Expired $^{14}\text{CO}_2$ production from ^{14}C -labeled amino acids in rats fed on the SPI and whole egg protein diets.

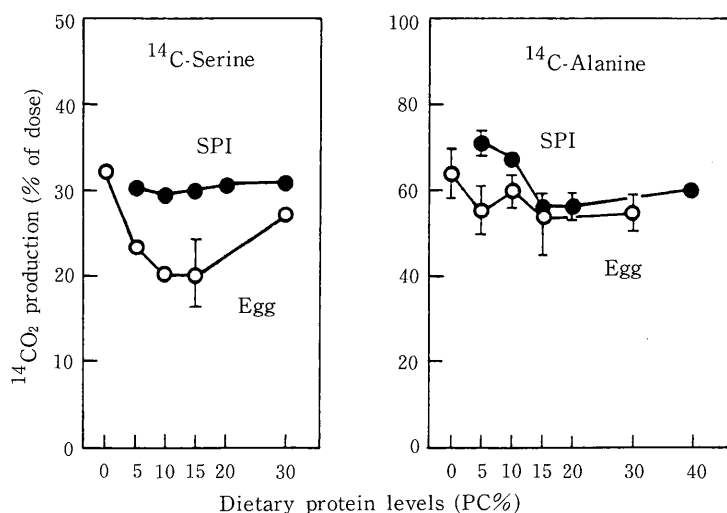


Fig. 2. (continued)

ており15~20 PC%区付近に屈曲点を持っていた。このように、SPIでのメチオニンの体内利用性はとくに低たん白質レベルで高く、供給量の増加によりメチオニンの制限が解除されると逆にその分解割合が高まることを示唆しているものと考えられる。また、第2制限アミノ酸であるスレオニンについてみると、SPIでの呼気¹⁴CO₂産生は低たん白質レベルでは全卵たん白質食でのそれを上回っていたが、やはりメチオニンと同じように15~20 PC%区付近に屈曲点を持っていた。ロイシンおよびリジンは、SPIでは相対的に過剰に供給される必須アミノ酸である。これらの必須アミノ酸からの呼気¹⁴CO₂産生は、低たん白質レベルでは全卵たん白質のそれよりも高くなっているが、高たん白質レベルになるとこの酸化分解割合は相対的に減少して全卵たん白質のそれとほぼ同じになっていた。SPIレベルの増加によりメチオニンの供給が充分になると、それに伴い他の必須アミノ酸の体たん白質合成への利用性が高まり、逆に酸化分解の割合が低下しているであろう。

要 約

以上の結果から成長期のラットをSPIで飼育した場合、ロイシンやリジンの必須アミノ酸の炭素骨格は体たん白合成に第一義的に利用されており、とくにたん白質欠乏区での利用性が高かった。呼気¹⁴CO₂産生は、食餌たん白質レベルの増加と共にほぼ直線的に増加し、30~40 PC%区ではその増加率は低下していた。¹⁴C-セリンの体たん白質への取り込みは、呼気¹⁴CO₂産生を上回っていたが、両者共に食餌たん白質

レベルの影響をほとんど受けていない。また、セリンの炭素骨格の約50%が、グリシンへ転換されていた。¹⁴C-アラニンの炭素骨格は、すばやくケト酸に代謝され、脂質合成あるいは呼気炭酸ガスにまで酸化分解されてエネルギー源の素材として活発に利用されていた。全卵たん白質と比較してSPI摂取時においては、制限アミノ酸であるメチオニンの酸化分解は抑制されているのに対して、相対的に過剰に供給されるであろう必須アミノ酸のロイシンおよびリジンの酸化は逆に高かった。

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.
- 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.
(1990): Metabolism of methionine and
cysteine in growing rats at various dietary
protein levels. *ibid*, **54**, 2236.

- 4) 田中秀幸, 小椋正次 (1989): 大豆たん白質摂取
時におけるアミノ酸炭素骨格の代謝. 大豆たん白
質栄養研究会会誌, **10**, 96-102.