

ラットの尿たん白質排泄および生理的指標の加齢変化に対する SPI 食の長期投与の影響

EFFECTS OF LONG-TERM FEEDING OF SOY PROTEIN ISOLATE ON PROTEINURIA AND AGE-RELATED CHANGES IN SOME PHYSIOLOGICAL VARIABLES IN ADULT RATS UNDER RESTRICTED FEEDING CONDITION

海老沢秀道・市川みね子・大関知子・藤田美明（東京都老人総合研究所）

Hidemichi EBISAWA, Mineko ICHIKAWA, Tomoko OZEKI and Yoshiaki FUJITA

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

ABSTRACT

Effect of long-term feeding of soy protein isolate (SPI) on urinary protein excretion and age-related changes in some physiological variables was examined in adult rats under restricted feeding condition. Four-month-old, male Wistar rats were divided into two groups of 12 rats each. Groups CR and SR received 10 g/day of 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, until 800 days of age. Results are as follows: 1) As compared with casein, SPI had less incidences in histologic lesions in the liver and kidney. 2) SPI was nutritionally comparable to casein in criteria of nitrogen balance, serum albumin, and protein excretion in the urine. 3) Results of free amino acids in serum showed that in long-term feeding of SPI, methionine supplementation to diet may result in some beneficial affections. 4) Hypocholesterolemic effect of SPI was also observed in a long-term feeding of SPI under restricted feeding conditions. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **11**, 55-59, 1990.

たん白質の栄養学的価値は、従来、おもに若齢期の個体を用いた短期間の実験で、摂取たん白質の体内保留率を指標として判定されてきた¹⁾。成長期の個体を用いた比較的短期間の観察では、SPIはカゼインと同等の窒素保留率を示し、また血清コレステロール濃度低下作用を示すことが報告されている²⁾。しかし、成熟ラットに自由摂食条件下で長期間投与した時、SPIはカゼインと同等の窒素（N）蓄積率を示したが、血清コレステロール低下作用を示さないことを観察した³⁾。

一方、自由摂食ラットで加齢に伴い発症する疾病は、飼料の制限給餌により抑制または防止されること、ま

た、食事たん白質の量や種類の違いがラットの加齢性疾病の発症に影響を及ぼすことが報告されている⁴⁾。これまでに我々は、SPIの栄養学的価値をラットのたん白尿症発症の有無やその重篤度を指標として観察し、飼料摂取レベルや実験食投与期間により異なる結果が得られることを認めた^{5,6)}。これらの報告は、たん白質の栄養的価値は、個体の年齢、実験食期間および評価指標により異なるかも知れないことを示唆している。

そこで本研究は、成熟ラットにSPIを食事制限条件下で長期間投与し、窒素出納値、尿中たん白質排泄量及びいくつかの生理的指標の加齢変化から、その栄養

学的価値を総合的に評価することを目的として実施した。

実 験 方 法

Wistar 系の雄ラット (80日齢) を20%カゼイン食で120日齢まで飼育し、その後、12匹を1群として2群に分けた。対照群には20%カゼイン食を、実験食群には20% SPI 食を各々1日10g の制限食条件で与えた (Table 1)。代謝実験での尿への飼料混入を避けるために、飼料はすべてゲル状で与え、水は自由に与えた。

実験食期開始時 (120日齢) とその後は100日毎に3日間の代謝実験を実施し、N出納値、たん白質消化吸収率及び尿中たん白質排泄量の加齢変化を800日齢まで、縦断的に観察した。実験食期終了後、ラットを麻酔下に屠殺し、血清中N及び脂質成分と血清遊離アミノ酸濃度等を測定した。

結果と考察

摂食量と体重変化

摂食量と体重の加齢変化を Fig. 1 に示した。何れのラットも、実験食期間を通し、与えられた飼料を全て摂取した。体重は、両群とも、食事制限の開始に伴い急速に減少した後、320-330 g を維持し、500日齢以降

から再び減少し始めた。

N出納値、たん白質消化吸収率及び尿中たん白質排泄量

結果を Table 2 に示した。N出納値は、両群とも、食事制限の開始に伴い急速に低下したが、その後も正

Table 1. Composition of experimental diet (g/100 g)

Ingredients	20% Casein	20% SPI
SPI ¹		20.0
Casein ²	20.0	
DL-Methionine	0.3	
Sucrose ³	20.9	21.0
α -Corn starch ²	41.8	42.0
Vitamin mixture ²	2.0	2.0
Mineral mixture		
Macro-elements ²	4.8	4.8
Micro-elements ³	0.2	0.2
Cellulose powder	5.0	5.0
Corn oil ⁴	5.0	5.0

¹ Soy protein isolate from Fuji Oil Co. Ltd., Osaka. (Protein content: 85.2%) ² From Oriental Yeast Co., Tokyo (Protein content: 82.2%) ³ Composition as reported by Ebihara et al. (*J. Nutr.*, **109**, 2106-2116, 1979) ⁴ From Ajinomoto Co., Tokyo.

Table 2. Effect of SPI on nitrogen balance, protein digestibility and urinary protein excretion in aging rats

Age	Group(n)	N-balance	Protein digestibility	Urinary protein excretion
days		mg N/day	%	mg/day
120	(24)	+120.5±47.3	93.4±1.2	27.4± 6.9
200	CR (12)	+ 26.7±16.1	92.1±1.3	12.8± 4.2
	SR (12)	+ 43.8±10.0*	90.2±0.9*	14.6± 4.6
300	CR (12)	+ 32.9± 6.7	92.5±0.8	11.7± 2.1
	SR (12)	+ 37.8± 8.1	91.6±1.2*	13.1± 4.4
400	CR (12)	+ 44.1±22.1	93.3±0.7	9.8± 2.4
	SR (12)	+ 48.2±17.3	92.0±1.3*	12.5± 2.9*
500	CR (12)	+ 39.7±21.6	92.7±0.7	19.1±14.8
	SR (12)	+ 56.4±25.5	91.8±1.2°	13.4± 5.0
600	CR (12)	+ 23.3±11.2	93.7±1.1	10.7±12.6
	SR (10)	+ 37.7± 6.8*	92.7±1.0*	6.0± 2.7
700	CR (11)	+ 40.6±19.6	93.7±1.0	12.5±17.4
	SR (9)	+ 55.1±10.2	92.0±1.3*	7.7± 7.3
800	CR (10)	+ 57.1±13.7	94.1±0.8	15.3±20.6
	SR (8)	+ 61.1±11.1	91.6±1.2*	13.8± 9.8

Values are mean±SD. Groups CR and SR received 10 g/day of 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, until 800 days of age.

*: Significantly different from the values of group CR in each age at $p<0.05$.

の値を維持しながら周期的な加齢変化を示した。そして何れの日齢でも、CR 群に比べ SR 群は高い正出納値を示し、200日齢と600日齢では有意であった。

たん白質消化吸収率では、両群とも、実験食期間を通して90%以上の高い値が維持されていた。しかし何れの日齢でも、SR 群の値は CR 群に比べ有意に低かった。

尿中たん白質排泄量は、両群共に食事制限の開始に伴い低下した後、800日齢まで20 mg/日以下の低値を維持した。しかし、500日齢以降、SR 群の値は CR 群

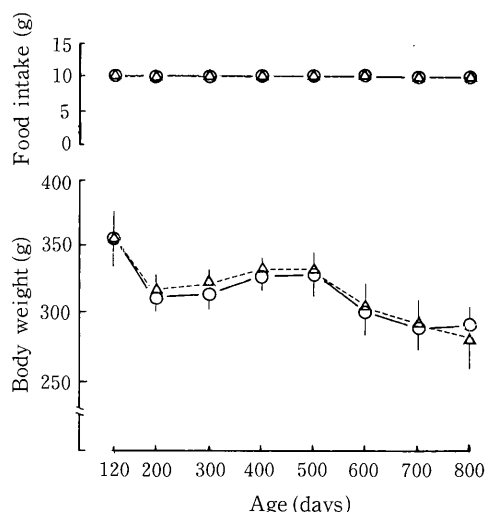


Fig. 1. Age-related changes in food intake and body weight. Values are mean $\pm$ SD. O: Received 10 g/day of 20% casein diet. Δ : Received 10 g/day of 20% SPI diet.

に比べやや低い傾向にあった。

血清N成分

血清総たん白質、アルブミンおよび尿素窒素 (BUN) 濃度を Table 3 に示した。血清総たん白質及び BUN は、CR 群と SR 群間で有意の差は認められなかった。しかし血清アルブミンは、SR 群で高い値を示す傾向にあった。

血清遊離アミノ酸

血清遊離アミノ酸濃度は、食事中たん白質の量やその種類を比較的良好に反映する^{7,8)}。成長期の個体にとって、Met は SPI の第1制限アミノ酸であり、SPI 摂取により血清 Met レベルの低下することが知られている。しかし、SPI を6ヶ月間摂取した270日齢の血清中の Met 及び Cys 濃度は、カゼイン対照群との間に有意の差は認められなかった⁵⁾。

本実験での800日齢ラットの血清遊離アミノ酸濃度を Table 4 に示した。Met 及び Cys 濃度は CR 群に比べ SR 群で有意に低かった (各々 CR 群の78%、及

Table 3. Effect of SPI on serum total protein, albumin and BUN in rats at 800 days of age

	CR(7)	SR(5)
Total protein, g/100 ml	5.44 $\pm$ 0.35	5.48 $\pm$ 0.54
Albumin, g/100 ml	2.31 $\pm$ 0.22	2.60 $\pm$ 0.23
BUN ¹ , mg/100 ml	16.3 $\pm$ 2.8	15.8 $\pm$ 1.60

Values are mean $\pm$ SD. Groups CR and SR received 10 g/day of 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, until 800 days of age. Figures in parentheses are number of rats. ¹ Blood urea nitrogen.

Table 4. Effect of SPI on serum free amino acids in rats at 800 days of age

	(μ moles/l)			
	CR(5)	SR(5)	CR-270(8)	SR-270(8)
Age(days)	800	800	270 ¹	270 ¹
Thr	332.0 $\pm$ 89.0	287.0 $\pm$ 42.5	314.3 $\pm$ 135.1	159.7 $\pm$ 38.4
Met	75.4 $\pm$ 6.8	59.2 $\pm$ 16.7*	34.4 $\pm$ 10.4	33.9 $\pm$ 11.4
Cys	68.4 $\pm$ 5.8	50.7 $\pm$ 8.0*	32.0 $\pm$ 9.4	30.3 $\pm$ 7.3
Lys	608.1 $\pm$ 73.5	543.9 $\pm$ 90.3	452.5 $\pm$ 116.5	402.5 $\pm$ 46.4
Arg	167.8 $\pm$ 25.0	158.5 $\pm$ 32.1	83.1 $\pm$ 15.7	86.5 $\pm$ 31.1

Values are mean $\pm$ SD. Figures in parentheses are number of rats. Groups CR and SR received 10 g/day of 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, until 800 days of age. Groups CR-270 and SR-270 received 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, under restricted feeding condition. ¹ Cited from values reported by Fujita, Y. et al., (*Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.*, 7, 30-34, 1986). * Significantly different from the values of group CR.

び74%)。約2ケ年間 SPI を摂取したラットにおけるこの結果は、CR 群に比べ SR 群では Met の不足が起きている可能性を示しており、長期間の SPI 摂取においては、Met 添加が必要かも知れないことを示唆している。

血清脂質

SPI の血清コレステロール濃度低下作用は若齢ラットを用いた比較的短期間の観察で確認されている⁹⁾。そして我々は、これと同様の結果が、成熟ラットに SPI を180日間投与した実験で観察されることを報告した⁵⁾。しかし一方、600日齢まで SPI を与えたラットでは、SPI の血清総コレステロール濃度低下作用は観察されず、加齢の影響を受けていることが示唆されている³⁾。

一方、食事制限条件下で、3ヶ月齢の成熟ラットに SPI を180日間投与した時、SPI の血清コレステロール濃度低下作用が観察された⁵⁾。

本実験の成熟ラットに食事制限条件下で800日齢まで SPI を投与した時の血清総コレステロール及び中性脂肪 (TG) 濃度を Table 5 に示した。老化ラットの血清総コレステロール及び TG 濃度は、きわめて大きな標準偏差値を示し、CR 群と SR 群間で有意の差は観察されなかった。しかし SR 群は CR 群の値の約81%低値を示した。

臓器の組織学的所見

500日齢以降に自然死した個体および800日の実験食期終了後に屠殺した個体について、主な臓器の組織学的観察の結果を Table 6 に示した。CR 群と SR 群の間で明かな相違を示したのは肝臓と腎臓であった。肝臓での細胆管増生 (cholangiole hyperplasia) および腎臓での糸球体症 (glomerulopathy) の発現頻度は、それぞれ、CR 群の45および73%に対して SR 群で11および33%の低い値を示した。

要 約

SPI を長期にわたって摂取した時の栄養学的価値を、いくつかの異なる指標を基に総合的に評価することを目的として、成熟ラットに20% SPI 食を、加齢性疾患の自然発症を抑制することが可能な食事制限条件下 (10 g/day) で約2ケ年間投与し、次の結果を得た。

- 1) N出納値、血清アルブミン値、肝臓および腎臓の組織学的所見、尿中たん白質排泄量等の指標では、SPI はカゼインと同等またはそれ以上の良好な栄養学的価値を示した。
- 2) 血清遊離アミノ酸濃度に関する結果は、SPI の長期摂取時には Met 添加の必要があるかも知れない

Table 5. Effect of SPI on serum total cholesterol and triglyceride in rats at 800 days of age

	CR(7)	SR(5)
T-cho ¹ , g/100 ml	104.4±31.9	82.0±21.9
TG ² , g/100 ml	82.4±50.6	98.4±26.7

Values are mean±SD. Groups CR and SR received 10 g/day of 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, until 800 days of age. Figures in parentheses are number of rats. ¹ Total cholesterol. ² Triglyceride.

Table 6. Histologic lesions

Types of lesions	CR(11)	SR(9)
Liver		
Cholangiole hyperplasia	5	1
Necrosis	1	1
Hyperplastic nodule area	2	0
Hepatoma	1	0
Histiocytic sarcoma	0	1
Kidney		
Glomerulopathy	8	3
Calcification	1	0
Heart		
Fibrosis	1	0
Lung		
Adenoma	0	1
Stomach		
Pyloric polyp	0	1
Pancreas		
Islet cell tumor	0	1
Testis		
Leydig cell tumor	7	7

Values are number of rats. Figures in parentheses are number of rats. Groups CR and SR received 10 g/day of 20% casein diet and 20% SPI diet, respectively, until 800 days of age.

いことを示唆した。

- 3) 食事制限条件下では、800日齢においても SPI による血清コレステロール低下作用が、有意ではないが観察された。
- 4) 消化吸収率では、SPI はカゼインに比べ低値を示した。

文 献

- 1) Pellet, P. L. and Young, V. R. (1980): たん白質の品質評価 (たん白質食品の栄養評価のために), Pellet, P. L. and Young, V. R. 編, 国際連合大

- 学.
- 2) 大豆たん白質栄養研究会 (1987) : 大豆たん白質の栄養 (大豆たん白質の栄養に関する講演会記録), 大豆たん白質栄養研究会, 大阪.
- 3) 海老沢秀道, 市川みね子, 大関知子, 藤田美明 (1989) : ラットのたん白尿症の発症及び生理的機能の加齢変化に対する自由食条件での SPI 食の長期投与の影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 31-35.
- 4) Rumsfeld, Jr, H. W. (1956) : Role of dietary protein in normal rat proteinuria. *Am. J. Physiol.*, **184**, 473-478.
- 5) 藤田美明, 大関知子 (1986) : 成熟ラットでの分離大豆たん白質の栄養学的価値再評価 : たん白尿症への影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **7**, 30-34.
- 6) 海老沢秀道, 大関知子, 藤田美明 (1987) : 成熟ラットのたん白尿症に対する分離大豆たん白質の影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **8**, 64-69.
- 7) Swendseid, M. E., Villabos, J. and Friedrich, B. (1963) : Ratios of essential-to-nonessential amino acids in plasma from rats fed different kinds and amounts of proteins and amino acids. *J. Nutr.*, **80**, 99-102.
- 8) 東京大学出版会 (1969) : Protein Nutrition and Free Amino Acid Patterns. ed. by Leatham, J. H., 東京大学出版会, 東京, pp. 3-39.
- 9) 菅野道廣, 永田保夫 (1980) : 分離大豆たん白質のラット血清コレステロール濃度低下作用 (1). 大豆たん白質栄養研究会会誌, **1**, 24-30.