

大豆たん白質による多価不飽和脂肪酸代謝の調節

REGULATION OF POLYUNSATURATED FATTY ACID METABOLISM BY DIETARY SOYBEAN PROTEIN

古場一哲・菅野道廣（九州大学農学部）

Kazunori Koba and Michihiro Sugano

Kyushu University School of Agriculture, Fukuoka 812

ABSTRACT

The effects of dietary proteins, soybean protein isolate (SPI) and casein (CAS), on linoleic acid desaturation in liver microsomes were studied in rats. Both $\Delta 6$ - and $\Delta 5$ -desaturase activities in smooth endoplasmic reticulum (ER) tended to be lower in the SPI group than in the CAS group. In rough ER the activity of $\Delta 6$ - but not $\Delta 5$ -desaturase was low in rats fed SPI. SPI significantly lowered the ratio of (20:3+20:4)/18:2 of total lipids in the rough, smooth and total ER fractions. In the total and smooth ER fractions, the steady-state fluorescence anisotropy of 1, 6-diphenyl-1, 3, 5-hexatriene incorporated into the membrane decreased in the SPI group accompanying the reduction of the ratio of cholesterol/phospholipid, indicating an increase in the membrane fluidity. Thus, the activity of $\Delta 6$ - and $\Delta 5$ -desaturase seems to be regulated at least partly by the membrane fluidity. However, since dietary protein influenced the $\Delta 6$ -activity in rough ER without influencing the membrane fluidity, the possibility of the enzyme synthesis regulation by dietary protein was also suggested. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **12**, 48-51, 1991.

大豆たん白質はカゼインに比べ、リノール酸のアラキドン酸への転換を抑制するが¹⁾、その機作についてはまだ十分には理解されていない。今回は、リノール酸代謝の主場である肝臓ミクロソームを粗面および滑面小胞体に分け、リノール酸不飽和化酵素の活性に及ぼすたん白質の影響を比較した。また、膜流動性と酵素活性との関連²⁾についても検討した。

実験方法

4週齢のSD系雄ラットに、たん白質源として大豆たん白質 (SPI; フジプロ-R) またはカゼイン (CAS) を20%含むAIN組成³⁾の純化飼料を3週間自由摂食させた。断頭屠殺後、肝臓の粗面および滑面小胞体を調製し⁴⁾、 $\Delta 6$ -および $\Delta 5$ -不飽和化酵素活性を測定した。また、小胞体膜の流動性を調べるために、1, 6-diphenyl-1, 3, 5-hexatriene (DPH) を蛍光ラベル化剤

として用い、蛍光の偏光解消を測定 (37°C, 励起波長352 nm, 蛍光波長435 nm) して “fluorescence anisotropy” (蛍光異方性) を測定した⁶⁾。その他、ミクロソームの総脂質の脂肪酸組成、コレステロール (CHOL) およびリン脂質 (PL) 濃度を測定した。結果は Student's t test により5%レベルで有意差検定を行った。

結果

両群のラットの摂食量と体重増加量には差はなかったが、肝臓重量はSPI群でCAS群よりも有意に低かった (CAS群 6.18 ± 0.14 , SPI群 5.08 ± 0.05 g/100 g 体重)。

肝臓小胞体の $\Delta 6$ -および $\Delta 5$ -不飽和化酵素の活性

Fig. 1 に示すように、リノール酸代謝の律速酵素である $\Delta 6$ -不飽和化酵素の活性は、両群とも粗面小胞体

よりも滑面小胞体で高かった。ミクロソームの $\Delta 6$ -不飽和化酵素活性は、これまでと同様に SPI 群で CAS 群に比べ有意に低かった。粗面小胞体でも SPI 群で有意に低く、この傾向は滑面小胞体においても認められた。ミクロソームの $\Delta 5$ -不飽和化酵素活性も SPI 群で低い傾向にあった。粗面小胞体では両群間で活性に差はなかったが、滑面小胞体では SPI 群で低い傾向を示した。

肝臓ミクロソームの脂肪酸組成

Table 1 に示すように、ミクロソームでは、18:2の割合は SPI 群で CAS 群よりも高く、20:4の割合は低かった。その結果、 $\Delta 6$ -不飽和化の程度を示す(20:3+20:4)/18:2比は、SPI 群で有意に低かった。粗面および滑面小胞体では20:4の割合に両群で差はなかったが、18:2の割合が SPI 群で高く、(20:3+20:4)/18:2比は SPI 群で有意に低かった。

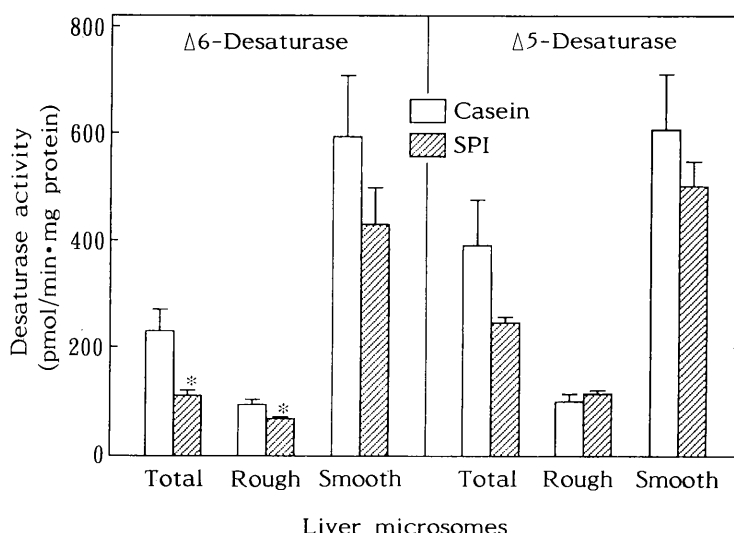


Fig.1. Effect of dietary protein on $\Delta 6$ - and $\Delta 5$ -desaturase activity of liver microsomes. Mean $\pm$ SE of 6 rats. * Significant difference from casein at $p < 0.05$.

Table 1. Effect of dietary protein on polyunsaturated fatty acid composition of liver microsomal (ER) total lipids

Fatty acids	Total ER		Rough ER		Smooth ER	
	Casein	SPI	Casein	SPI	Casein	SPI
	Weight %					
18:2n-6	6.3	7.7*	5.1	6.1*	6.3	7.8*
20:3n-6	1.1	1.0	0.8	0.7	1.0	1.3*
20:4n-6	19.0	17.5*	16.0	16.5	19.9	19.0
22:5n-6	2.2	1.9*	2.4	2.3	2.8	2.7
22:5n-3	2.2	1.7	10.0	9.1	1.6	1.5
22:6n-3	1.9	2.1	3.8	3.5	2.1	2.5*
Desaturation index	3.3	2.5*	3.4	2.9*	3.4	2.7*

Mean of 6 rats. ER: endoplasmic reticulum. SPI: soybean protein isolate. Desaturation index: (20:3+20:4)/18:2. *Significant difference from casein at $p < 0.05$.

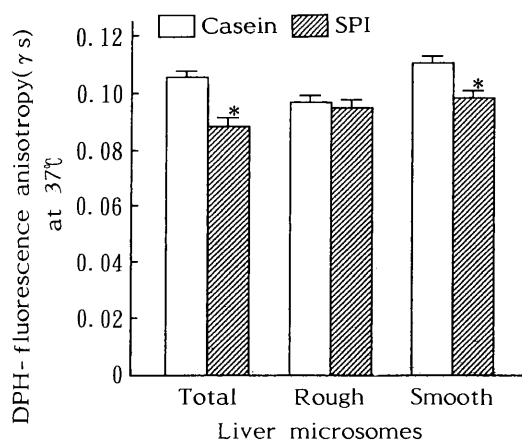


Fig. 2. Effect of dietary protein on the fluidity of liver microsomes.
Mean±SE of 6 rats. *Significant difference from casein at $p<0.05$.

Table 2. Effect of dietary protein on lipid composition of liver microsomes (ER)

ER	Cholesterol	Phospholipid	CHOL/PL
	<i>nmol/mg protein</i>		$\times 10^2$
Total ER			
Casein	145±21	1147±203	12.9±1.1
SPI	95.5±7.8	969±73	9.99±0.36*
Rough ER			
Casein	27.8±1.5	340±30	8.31±0.39
SPI	30.2±2.4	359±19	8.43±0.44
Smooth ER			
Casein	180±6	1187±23	15.2±0.6
SPI	162±4*	1196±17	13.5±0.4*

Mean±SE of 5 or 6 rats. ER: endoplasmic reticulum, SPI: soybean protein isolate, CHOL: cholesterol, PL: phospholipid. *Significant difference from casein at $p<0.05$.

ミクロソーム膜の流動性

Fig. 2 に示すように、肝臓ミクロソームの fluorescence anisotropy を測定した結果、SPI 群で有意に低く、流動性が高いことが示された。滑面小胞体でも SPI 群で有意に低かったが、粗面小胞体では差はなかった。

ミクロソームの脂質濃度

ミクロソームの CHOL 濃度は、CAS 群に比べ SPI 群で低い傾向にあった (Table 2)。滑面小胞体でも同様であったが、粗面小胞体の CHOL 濃度は滑面小胞体の 1/5~1/6 と低く、食餌たん白質による影響は認め

られなかった。PL 濃度にはたん白質の影響は認められなかった。なお、粗面小胞体の PL 濃度は滑面小胞体の約 30% にすぎなかった。これらの結果、CHOL/PL 比はミクロソームおよび滑面小胞体では SPI 群で有意に低く、粗面小胞体では両群間に差はなかった。

考 察

肝臓小胞体の Δ6-不飽和化酵素活性は、粗面および滑面小胞体で CAS 群よりも SPI 群で低く、また、総脂質の脂肪酸組成でもリノール酸の不飽和化は SPI

群で有意に抑えられた。ミクロソームの不飽和化酵素は、粗面小胞体で合成され、滑面小胞体に移動し活性を示すことが推察されているので⁷⁾、これらの結果は、食餌たん白質がこの酵素の合成に影響することを示唆している。これに対し、 $\Delta 5$ -不飽和化酵素の活性は滑面小胞体でのみ食餌たん白質の違いの影響が認められた。つまり、食餌たん白質は両不飽和化酵素に対し異なった影響を及ぼすことが示された。

ミクロソームの膜流動性はSPI群で低く、これは主として滑面小胞体での変化を反映するものと考えられた。流動性のデータはCHOL/PL比の結果とよく一致しており、食餌たん白質の違いによる小胞体のCHOL濃度の違いが膜の流動性に影響するようである。

膜流動性と $\Delta 6$ および $\Delta 5$ -不飽和化酵素活性との関係が示唆されているが、膜流動性の高いSPI群での両酵素の活性は低く、ミクロソームにCHOLを取り込ませて酵素活性を測定したBrennerらのin vitroでの結果²⁾と一致した。彼らは、ラットにCHOLを与え、膜中のCHOLを増加させると、その流動性の低下に伴い $\Delta 6$ -および $\Delta 5$ -不飽和化酵素の活性は低下すると報告しているが⁶⁾、この場合、ミクロソームリン脂質中のホスファチジルコリン(PC)の増加との関係を示唆している。われわれは、ラット肝臓ミクロソームのPCの割合はCASとSPIとで大きな違いはないことを認めている。 $\Delta 6$ -不飽和化酵素の活性には、膜流動性に差が認められない粗面小胞体でも食餌たん白質の影響が認められるので、膜流動性に加え酵素合成そのものに食餌たん白質は影響していると考えられる。

文 献

1) Sugano, M., Ishida, T. and Koba, K. (1988):

- Protein-fat interaction on serum cholesterol level, fatty acid desaturation and eicosanoid production in rats. *J. Nutr.*, **118**, 548-554.
- 2) Garda, H. A. and Brenner, R. R. (1985): In vitro modification of cholesterol content of rat liver microsomes. Effects upon membrane 'fluidity' and activities of glucose-6-phosphatase and fatty acid desaturation systems. *Biochim. Biophys. Acta*, **819**, 45-54.
- 3) American Institute of Nutrition (1977): Report of the AIN *Ad Hoc* Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340-1348.
- 4) Dallner, G. (1963): Studies on the structural and enzymic organization of the membranous elements of liver microsomes. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **59**, 7-94.
- 5) Svensson, L. (1983): The effect of dietary partially hydrogenated marine oils on desaturation of fatty acids in rat liver microsomes. *Lipids*, **18**, 171-178.
- 6) Leikin, A. I. and Brenner, R. R. (1987): Cholesterol-induced microsomal changes modulate desaturase activities. *Biochim. Biophys. Acta*, **922**, 294-303.
- 7) Oshino, N. and Sato, R. (1972): The dietary control of the microsomal stearyl CoA desaturation enzyme system in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, **149**, 369-377.