

大豆たん白質へのシスチン添加による血清リポたん白質代謝の変動

METABOLIC CHANGES IN SERUM LIPOPROTEINS INDUCED BY THE ADDITION OF DIETARY EXCESS CYSTINE TO A SOYPROTEIN ISOLATE DIET

青山頼孝・石川智弘・鈴木徹司・岩崎友紀子・吉田 昭(名古屋大学農学部)

Yoritaka AOYAMA, Tomohiro ISHIKAWA, Tetsuji SUZUKI,
Yukiko IWASAKI and Akira YOSHIDA
School of Agriculture, Nagoya University, Nagoya 464-01

ABSTRACT

The effects of excess cystine added to the diets with casein, egg protein, soybean protein isolate and wheat gluten as protein sources on liver and serum lipids of rats were examined. Liver lipid contents among four groups were not changed when cystine was not added. The addition of excess cystine to the soybean protein isolate diet, but not to the casein, egg protein and wheat gluten, caused lipid accumulation in the liver. The increase in liver lipids was due to an increase in triacylglycerol. In order to know the accumulation of triacylglycerol in the liver, Triton WR 1339 were injected intravenously. The increased rate of triacylglycerol in serum from rats fed the soybean protein isolate diet supplemented with cystine was lowered as compared with that of the soybean protein isolate diet. Both protein and triacylglycerol of VLDL fraction in serum were decreased. Apolipoprotein E was not changed, but apolipoprotein C was decreased. Thus, overall results show that one of the factors for the accumulation of triacylglycerol in the liver induced by the addition of excess cystine to the soybean protein isolate diet might be due to the decreased transport from liver into serum. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **14**, 60-64, 1993.

低たん白質食に少量の制限アミノ酸を添加すると成長の改善がみられるが、悪影響として、条件によって脂肪肝を形成することがある。

添加するアミノ酸の量あるいは種類によって異なるが、アミノ酸の過剰は成長を抑制する。アミノ酸の過剰障害やインバランスによる種々の代謝異常が報告されている。

アミノ酸過剰摂取によって、脂質代謝異常、とくにコレステロール代謝に大きな影響をおよぼす例が最近報告されており、動脈硬化症などの疾患との関連で重

要である。ヒスチジン^{1,2)}、チロシン³⁾、シスチン過剰食^{4,5)}をラットに与えると高コレステロール血症を形成する。従来、高コレステロール血症の形成には、食餌にコレステロールを1%、コール酸を0.25%添加することによって行われてきたが、アミノ酸過剰による場合は、食餌にコレステロールを添加しなくても高コレステロール血症を生成する例である。

シスチン過剰による高コレステロール血症は、Serougne と Rukaj⁴⁾ により、1983年に初めて報告された。シスチン過剰食による高コレステロール血症の生成の

メカニズム及びその栄養学的制御について著者らは検討しその一部を報告した⁵⁾。その研究の過程で肝脂質の異常蓄積を見いだしたので⁶⁾、本研究はその肝脂質の蓄積の機構を解明することが目的である。

実 験 方 法

実験動物

初体重約130-140 g のウイスター系雄ラットを用いた。

実験食

実験 1

食餌たん白質として、カゼイン、全卵たん白質、分離大豆たん白質、小麦グルテンを用いた。食餌たん白質含量は20%とした(Table 1)。また、これらの食餌に3.5%の L-シスチンを添加した。これらの食餌を6日間自由摂取法で与えた。

実験 2

分離大豆たん白質食に0.5, 1.5, 2.5, 3.5%の L-シスチンを添加した。これらの食餌を6日間自由摂取法で与えた。

実験 3

分離大豆たん白質食、あるいは分離大豆たん白質食に3.5% L-シスチンを添加した食餌を3あるいは6日間与えた後、Triton WR 1339 を体重100 g 当り40 mg

静脈に投与した。投与後一定時間後の血清トリアシルグリセロールを測定した。

実験 4

分離大豆たん白質食あるいは3.5%シスチンを添加した分離大豆たん白質食を6日間自由摂取法で与えた後、超遠心機を用いて、血清中のVLDL(<1.006)を分離し、リポたん白質、コレステロール、リン脂質、トリアシルグリセロールを分析した。

VLDL のたん白質を電気泳動によって分離した後、デンストメーターによって定量した。

また、肝アポリポプロテイン E の mRNA を測定した。

結 果 と 考 察

食餌たん白質の違いによる肝脂質量に対する L-シスチンの影響は Table 2に示してある。食餌たん白質として、カゼイン、全卵たん白質、小麦グルテンを含む食餌にシスチンを過剰添加しても肝脂質の変動は全く認められなかった。また、肝脂質を構成するトリアシルグリセロール、コレステロール、リン脂質の割合も殆ど変化なかった。一方、分離大豆たん白質食にシスチンを添加すると肝脂質の蓄積が認められた。そのうち、トリアシルグリセロールの増加が特に著しかった。

Table 1. Composition of the diets without excess cystine (g/kg)

	Casein	Egg protein	Soya-bean protein	Wheat gluten
Casein ²	246	—	—	—
Egg protein ³	—	268	—	—
Soybean protein isolate ⁴	—	—	253	—
Wheat gluten ²	—	—	—	271
AIN vitamin mixture ^{5,6}	10	10	10	10
Choline chloride ²	2	2	2	2
AIN mineral mixture ⁵	35	35	35	35
Maize oil ⁷	50	50	50	50
Maize starch ⁸	657	635	650	632

¹ The cystine-excess diet had the same composition as the corresponding diet except that 35 g of maize starch was replaced by 35 g of L-cystine per kg of diet.

² Katayama Chemical Industries Co., Osaka, Japan.

³ Prepared from whole egg powder produced by Taiyokagaku Co., Yokkaichi, Mie, Japan.

⁴ Fujipro R, Fuji Oil Co., Osaka, Japan.

⁵ American Institute of Nutrition (1977) *J. Nutr.* **107**, 1340-1348.

⁶ American Institute of Nutrition (1980) *J. Nutr.* **110**, 1726.

⁷ Nihon Syokuhin Kako Co., Fuji, Shizuoka, Japan.

⁸ Chuo Syokuryo Co., Inazawa, Aichi, Japan.

この条件において、カゼイン、全卵たん白質、分離大豆たん白質にシスチンを添加すると、血清コレステロールは増加した。しかし、小麦グルテン食にシスチンを添加しても血清コレステロールレベルは変わらなかった。また、血清トリアシルグリセロールはカゼイン、分離大豆たん白質、小麦グルテン食にシスチンを添加すると低下したが、低下の割合は分離大豆たん白質食にシスチンを添加した時に大きかった。

分離大豆たん白質へのシスチンの添加レベルを増加させたときの肝脂質量は Fig. 1 に示してある。添加したシスチン含量が0.5、1.5%においては肝脂質量に変化は殆ど認められなかった。しかし、シスチンの添加を2.5あるいは3.5%にあげると肝脂質の顕著な蓄積を認めた。この条件においても肝脂質の蓄積の主となる成分はトリアシルグリセロールであった。

肝臓のトリアシルグリセロールの蓄積のメカニズムを明らかにするために、Triton WR 1339 をラットに投与し、肝臓から血中へのトリアシルグリセロールの移動の割合を測定した。この化合物はリボプロテインリパーゼを阻害するので血清中から組織にトリアシルグリセロールが取り込まれないことが知られている。シスチンを添加した分離大豆たん白質食を3日間与えたときすでに血清トリアシルグリセロールの分泌の割合は著しく低下した。6日間与えたときも同じ結果が

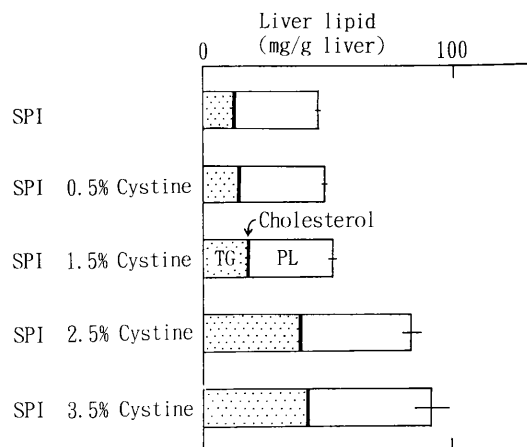


Fig. 1. Liver lipids of rats fed a soybean protein isolate diet (SPI) supplemented with 0–3.5% L-cystine. (TG: triacylglycerol, PL: phospholipids)

Table 2. Effects of excess cystine on total lipids, triacylglycerol, cholesterol and phospholipid of the liver

Liver lipids	Cystine added g/kg	Diet			
		Casein	Egg protein	Soya-bean protein	Wheat gluten
Total lipids, mg/g	0	43.4±0.7	47.3±0.9	47.1±1.7	46.9±2.0
	35	42.8±2.2 ^z	43.7±1.1 ^z	71.3±7.4 ^y	48.3±3.5 ^z
	p	NS	NS	NS	NS
Triacylglycerol, mg/g	0	21.7±1.1 ^b	17.3±0.8 ^c	17.0±0.8 ^c	25.5±1.7 ^a
	35	20.8±1.9 ^z	18.3±1.1 ^z	47.9±8.8 ^y	20.5±1.8 ^z
	p	NS	NS	<0.01	NS
Cholesterol, mg/g	0	2.09±0.3 ^{ab}	1.96±0.03 ^b	2.18±0.06 ^a	1.69±0.06 ^c
	35	2.08±0.05	2.18±0.04	2.20±0.10	2.18±0.05
	p	NS	<0.01	NS	<0.01
Phospholipid, mg/g	0	19.5±1.1 ^b	28.1±1.2 ^a	27.9±1.4 ^a	19.8±1.3 ^b
	35	19.9±1.3	22.9±1.0	19.8±1.3	25.8±4.5
	p	NS	<0.01	<0.01	NS

Data represent means±SEM for six rats.

a,b,c,y,z: Means within the same horizontal column that do not share a common superscript letter were significantly different: p<0.05. NS: not significant.

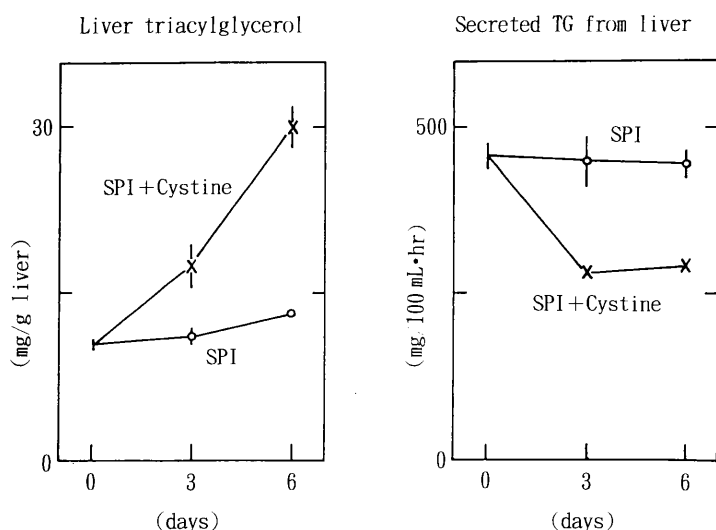


Fig. 2. Liver triacylglycerol and secreted triacylglycerol from liver of rats fed a soybean protein isolate diet (SPI) or a soybean protein isolate diet supplemented with L-cystine (SPI+cystine).

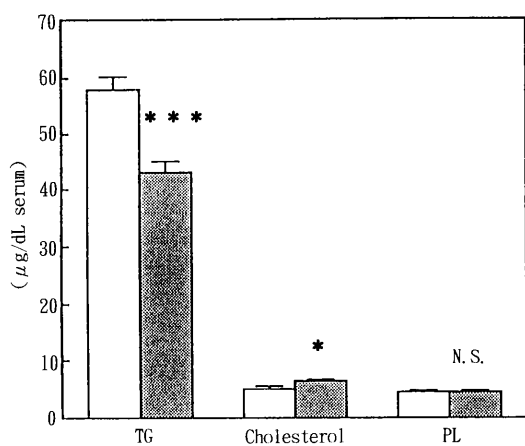


Fig. 3. Triacylglycerol (TG), cholesterol and phospholipids (PL) in serum VLDL of rats fed a soybean protein isolate diet (□) or a soybean protein isolate diet with L-cystine (▨).

得られた。その時に肝トリアシルグリセロールも経日的に増加した(Fig. 2)。それゆえ、シスチンの添加による肝脂質の蓄積は肝から血中への移動の障害と考えられる。

血清トリアシルグリセロールの大部分は血清において、VLDLに存在し、かつトリアシルグリセロールの移動に大きく寄与している。そのため、摂取後、血清のVLDLを分画した。その結果はFig. 3に示してある。VLDLのトリアシルグリセロール量はシスチンの添加によって低下した。一方、コレステロール、リン脂質は殆ど変化が無いが、あるいはわずかに変動した。

血清VLDLを構成するたん白質量はシスチンを添加した分離大豆たん白質食において有意に減少した(Fig. 4)。さらに、アポリポプロテインB、C、Eがある。分離大豆たん白質食へのシスチン添加によりアポリポプロテインCは減少し、アポリポプロテインEは変化しなかった。アポリポプロテインB₁₀₀はわずかに増加した。

一方、肝アポリポプロテインE mRNAを測定した結果は変化無かった。また、アポリポプロテインBのmRNAについても測定する予定である。

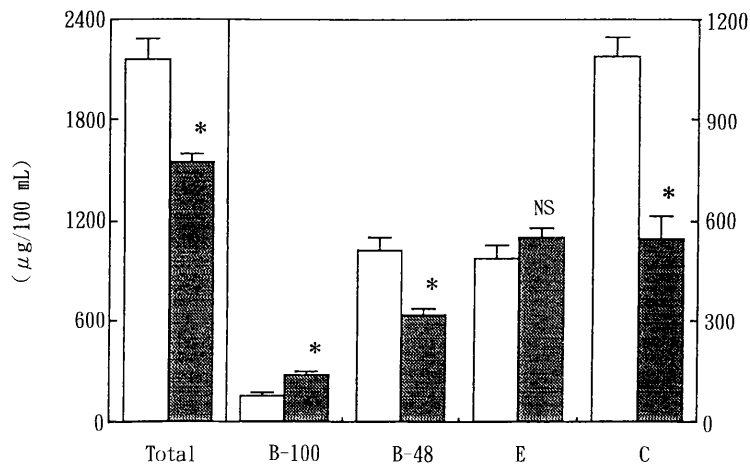


Fig. 4. Apolipoprotein content in serum VLDL of rats fed a soybean protein isolate diet (□) or a soybean protein isolate diet with L-cystine (■).

文 献

- 1) Ohmura E, Aoyama Y and Yoshida A (1986): Changes in lipids in liver and serum of rats fed a histidine-excess diet or cholesterol-supplemented diets. *Lipids*, **21**, 748-753.
- 2) Hitomi-Ohmura E, Amano N, Aoyama Y and Yoshida A (1992): The effect of a histidine-excess diet on cholesterol synthesis and degradation in rats. *Lipids*, **27**, 755-760.
- 3) Nagaoka S, Kato M, Aoyama Y and Yoshida A (1986): Comparative studies on the hypercholesterolaemia induced by excess dietary tyrosine or polychlorinated biphenyls in rats. *Brit J Nutr*, **56**, 509-517.
- 4) Serougne C and Rukaj A (1983): Plasma and lipoprotein cholesterol in rats fed L-amino acid-supplemented diets. *Ann Nutr Metab*, **27**, 386-395.
- 5) Aoyama Y, Matsumoto H, Tsuda T, Ohmura E and Yoshida A (1988): Effects on liver and serum lipids in rats of dietary additions of fibers and cholestyramine to a cystine-excess diet. *Agric Biol Chem*, **52**, 2811-2816.
- 6) Aoyama Y, Matsumoto H, Hitomi-Ohmura E and Yoshida A (1992): Fatty liver induced by the addition of excess cystine to a soya-bean protein diet in rats. *Comp Biochem Physiol*, **102A**, 185-189.