

サイトカイン産生に対する大豆たん白質の作用解析

矢ヶ崎一三*・小松 渡・三浦 豊

東京農工大学農学部

Effect of Soy Protein Isolate on Cytokine Productivity in Macrophages from Rats

Kazumi YAGASAKI, Wataru KOMATSU and Yutaka MIURA

Faculty of Agriculture, Tokyo Noko University, Tokyo 183-8509

ABSTRACT

The effect of soy protein isolate (SPI) on cytokine productivity in macrophages was studied in both normal and hepatoma-bearing rats, using casein as the control. When normal rats were fed a 20% casein diet (20C) or 20% SPI diet (20S) for 14 days, productivity of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) and nitric oxide (NO) in resident peritoneal macrophages from the 20C-fed rats was similar to that from the 20S-fed ones. In contrast, productivity of TNF- α , IL-1 and NO was significantly lower in the 20S-fed animals than in the 20C-fed ones when each diet was fed to hepatoma-bearing rats for 14 days. Since cytokine productivity in macrophages is several times higher in the hepatoma-bearing state than in the normal state, SPI may be regarded as a depressant of enhanced cytokine production. There appears to be a marginal possibility that a difference in arginine/lysine ratio between two protein sources is involved in the regulation of cytokine productivity. *Soy Protein Research, Japan* **1**, 106-110, 1998.

Key words : cytokines, interleukin-1, macrophages, soy protein isolate, tumor necrosis factor

腫瘍壊死因子- α (TNF- α) およびインターロイキン-1 (IL-1) は、主に活性化マクロファージ (M Φ) によって産生されるサイトカインである。TNF- α は、当初、移植がんの出血性壊死を起こす因子として見いだされたが¹⁾、その後、免疫応答や炎症反応においても重要な役割を演じていること²⁾、その役割の一部は IL-1 も担っていることが明らかとなった³⁾。我々は、正常ラットへキャベツジュースを経口投与することにより、腹腔 M Φ の TNF- α と IL-1 産生能が上昇し免疫賦活作

用を有することを見いだしている⁴⁾。一方で、その産生が過剰になると生体にとって逆に不利に働くことも明らかにされており、この場合にはこれらサイトカインの過剰産生を何らかの方法で沈静化する必要がある。我々は、腹水肝がん AH109A を移植したラットでは、正常ラットに比べ腹腔 M Φ の TNF- α と IL-1 産生能が著しく上昇すること、肝がん移植時のこの上昇がカゼイン食に比べ小麦グルテン食の摂取により抑制されることを見いだした⁵⁾。このように、食品成分はサイトカインの産生を賦活化もし沈静化もする。

そこで本研究では、正常ラットおよび肝がん移植ラ

*〒 183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredient	20C	20C+Arg	20S	20S+Lys
	% (w/w)			
Casein	20.0	20.0	—	—
Soy protein isolate	—	—	20.0	20.0
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Sucrose	17.0	17.0	17.0	17.0
α -Cornstarch	51.3	50.44	51.3	49.58
Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mixture	3.5	3.5	3.5	3.5
Cellulose powder	2.0	2.0	2.0	2.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
L-Arginine	—	0.86	—	—
L-Lysine	—	—	—	1.72

ットを用い、カゼインを対照として大豆たん白質のサイトカインとくに TNF- α 産生に対する沈静または賦活作用の有無とその作用がアルギニンとリジン含量の違いに基づくのかどうかを明らかにすることを目的とする。

方 法

実験 1 では、正常ラット（実験 1A）または腹水肝がん AH109A 細胞（ 5×10^5 細胞／ラット）を背部皮下へ移植したラット（実験 1B）に、① 20% カゼイン食（20C）、② 20% 大豆たん白質（SPI）食（20S）を実験食（Table 1）として 2 週間摂取させた。屠殺後、腹腔 M Φ を採取してリポ多糖（LPS）と培養後、培地中へ分泌される TNF- α の活性を L929 細胞を標的細胞とするバイオアッセイ法⁴⁵⁾で、IL-1 の活性を ELISA 法にて測定した。また、培養上清中の一酸化窒素（NO）量も測定した⁶⁾。肝がん移植時にはがん性悪液質としての高脂血症も発生する^{7,8)}ので、高脂血症に対する 20S の効果を知るため、血清総コレステロール（T-Ch）およびトリグリセリド（TG）濃度も既報⁷⁾に従い測定した。

実験 2 では、実験 1 で M Φ の TNF- α 産生に対する 20S の抑制作用が発現した担がんラットを選び、実験食として① 20C、② 20S、および M Φ 機能を修飾することが知られているアルギニン（Arg）とその代謝に干渉するリジン（Lys）に着目し、③ Arg / Lys 比が 20S と等しくなるように Arg を補足した 20C（20C + Arg）あるいは④ Arg / Lys 比が 20C と等しくなるように Lys を補足した 20S（20S + Lys）を 2 週間摂取させ、実験 1 と同様の分析を行った。それぞれのアミノ酸の補足量

は Nagata らの報告⁹⁾に準じ、Arg / Lys 比が等しくなるように添加した（Table 1）。

結果と考察

正常ラットに 20C または 20S を 2 週間摂取させたときの結果（実験 1A）を Table 2 および Fig. 1 に示す。食下量、体重増加量および肝臓重量に対する SPI の有意な影響は認められなかった。血清 TG 濃度は SPI 摂取により有意に低下したが、T-Ch 濃度は有意な影響を受けなかった（Table 2）。腹腔 M Φ の TNF- α 、IL-1 および NO 産生量は 20C と 20S 群間で有意な差が認められなかった（Fig. 1）。

担がんラットに 20C または 20S を 2 週間摂取させたときの結果（実験 1B）を Table 3 および Fig. 2 に示す。食下量は両群間で有意な差がなかったのに対し、体重増加量および肝臓重量は SPI 摂取により有意に低下した。固型がん重量は 2 群間で有意な変化は認められなかった。血清 TG および T-Ch 濃度は 2 群間で有意な変化は認められなかった（Table 3）。腹腔 M Φ の TNF- α 、IL-1 および NO 産生量はいずれも 20C に比べ 20S 群で有意に低く（Fig. 2）、SPI が担がんによる M Φ 機能の亢進を沈静化することが認められた。

実験 1 から、M Φ 機能が亢進している担がん時に SPI がサイトカイン産生に有意の影響をおよぼすことが明らかとなった。そこで、肝がん移植ラットを用いて、SPI のサイトカイン産生抑制作用が Arg と Lys 含量の違いに基づくのかどうかを検討した。その結果を Table 4 および Fig. 3 に示す。食下量は 4 群間で有意な差は認められなかった。しかし、体重増加量および肝臓重量は、カゼイン摂取群（20C と 20C + Arg）にく

Table 2. Effects of types of dietary proteins on food intake, body weight gain, liver weight and serum lipid levels in normal rats

Measurement	20C	20S
Initial body weight (g)	163.0 ± 2.6	162.9 ± 3.2
Food intake (g/14 days)	269.7 ± 5.2	280.2 ± 2.0
Body weight gain (g/14 days)	105.1 ± 3.0	95.6 ± 1.3
Liver weight (g/rat)	13.3 ± 0.2	11.3 ± 0.1
Serum lipid levels (mmol/L)		
TG	1.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1*
T-Ch	2.0 ± 0.1	1.7 ± 0.2

Each value represents the mean ± SEM for 6 rats. *Significantly different from the 20C group at $P < 0.05$ by Student's *t*-test.

Table 3. Effects of types of dietary proteins on food intake, body weight gain, liver and hepatoma weights and serum lipid levels in hepatoma-bearing rats

Measurement	20C	20S
Initial body weight (g)	143.3 ± 1.8	143.5 ± 1.7
Food intake (g/14 days)	232.4 ± 11.7	208.2 ± 13.9
Body weight gain (g/14 days)	90.8 ± 6.3	54.6 ± 7.5*
Tissue weights (g/rat)		
Liver	10.2 ± 0.3	7.4 ± 0.5*
Hepatoma	13.4 ± 4.1	16.8 ± 2.4
Serum lipid levels (mmol/L)		
TG	1.9 ± 0.4	1.7 ± 0.2
T-Ch	3.4 ± 0.3	3.8 ± 0.1

Each value represents the mean ± SEM for 6 rats. *Significantly different from the 20C group at $P < 0.05$ by Student's *t*-test.

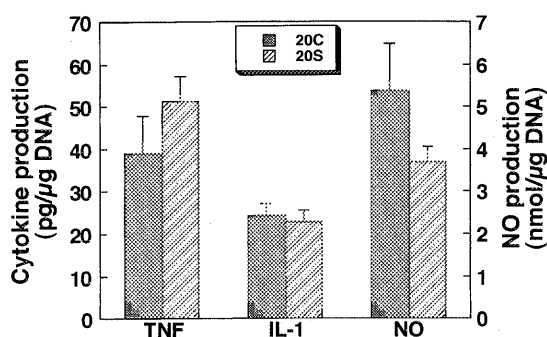


Fig. 1. Effects of types of dietary proteins on TNF, IL-1 and NO production by resident peritoneal macrophages from normal rats. Each value and vertical bar represent the mean ± SEM for 6 rats.

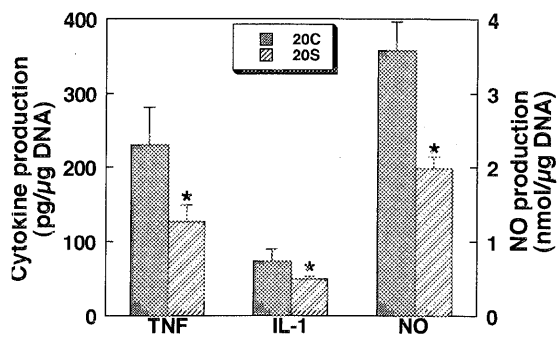


Fig. 2. Effects of types of dietary proteins on TNF, IL-1 and NO production by resident peritoneal macrophages from hepatoma-bearing rats. Each value and vertical bar represent the mean ± SEM for 6 rats.

*Significantly different from the 20C group at $P < 0.05$ by Student's *t*-test.

Table 4. Effects of types of dietary proteins and supplementation of amino acids on food intake, body weight gain, liver and hepatoma weights and serum lipid levels in hepatoma-bearing rats

Measurement	20C	20C+Arg	20S	20S+Lys
Initial body weight (g)	196 ± 5	195±3	196 ± 5	195±3
Food intake (g/14 days)	291 ± 13	292±10	292 ± 11	276±6
Body weight gain (g/14 days)	100 ± 5 ^a	104±5 ^a	85 ± 6 ^b	76±3 ^b
Tissue weights (g/rat)				
Liver	13.8 ± 0.7 ^a	13.6±0.5 ^a	11.2 ± 0.5 ^b	10.5±0.3 ^b
Hepatoma	1.4 ± 0.5	1.3±0.4	4.8 ± 1.6	3.9±0.6
Serum lipid levels (mmol/L)				
TG	1.1 ± 0.1 ^a	0.8±0.0 ^b	0.8 ± 0.1 ^b	0.8±0.1 ^b
T-Ch	2.4 ± 0.1	2.3±0.1	2.6 ± 0.2	2.6±0.2

Each value represents the mean ± SEM for 6 rats. Values not sharing a common letter are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple-range test.

らべSPI摂取群(20Sと20S+Lys)で有意に低下した。それぞれのたん白質へのアミノ酸補足は有意な影響を与えなかった。固型がん重量は4群間で有意な変化は認められなかった。血清T-Ch濃度は4群間で有意な変化は認められなかったが、TG濃度は20Cにくらべ他の3群で有意に低下していた(Table 4)。MΦのTNF- α およびNO産生量は、有意差はないものの20Cにくらべ20Sで低い傾向を示した。TNF- α 産生に対するアミノ酸補足の影響はほとんど認められなかった。

以上の成績から、SPIは担がん時の腹腔MΦによるサイトカイン(TNF- α , IL-1)産生およびNO産生の亢進を抑制(沈静化)することが明らかとなった(Fig. 2)。同様のことが小麦グルテン食を摂取した場合にも認められている⁵⁾。これらのことは、見方を変えればSPIや小麦グルテンが抗炎症的に作用する可能性を示唆しており、別の炎症モデルでの効果に興味もたれる。小麦グルテン食の場合、制限アミノ酸であるリジンやスレオニン、さらにトリプトファンを補足しても腹腔MΦのTNF- α 産生能は低いままであった(未発

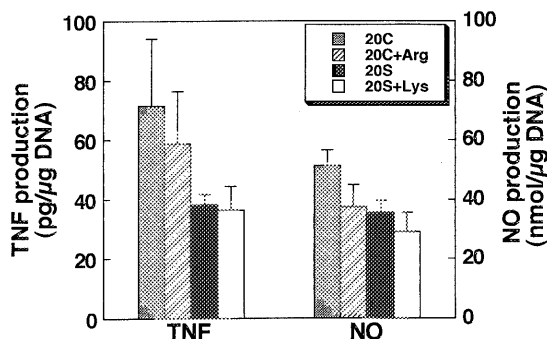


Fig. 3. Effects of types of dietary proteins and supplementation of amino acids on TNF and NO production by resident peritoneal macrophages from hepatoma-bearing rats. Each value and vertical bar represent the mean ± SEM for 6 rats.

表) ことから、アミノ酸スコア以外の要因がTNF- α 産生に影響しているものと考えられる。今回の実験成績から、SPI摂取の場合も、Arg/Lys比はTNF- α 産生におそらく影響していないものと考えられるが、再確認が必要である。

要 約

正常ラットおよび肝がん移植ラットを用い、カゼイン(C)を対照として分離大豆たん白質(S)のサイトカインとくに腫瘍壊死因子- α (TNF- α)産生に対する沈静または賦活作用の有無とその作用がアルギニン(Arg)とリジン(Lys)含量の違いに基づくのかどうかを明らかにすることを目的とした。たん白質の摂取レベルは20%(20C, 20S)とした。正常ラットに20Cまたは20Sを2週間摂取させたときは、腹腔マクロファージ(MΦ)のTNF- α 、インターロイキン-1(IL-1)および一酸化窒素(NO)産生量は20Cと20S群間で有意な差が認められなかった。一方、担がんラットに20Cまたは20Sを摂取させると、腹腔MΦのTNF- α 、IL-1およびNO産生量はいずれも20Cにくらべ20S群で有意に低く、SPIが担がんによるMΦ機能の亢進を沈静化することが認められた。そこで担がんラットを用いて、SPIのサイトカイン産生抑制作用がArgとLys含量の違いに基づくのかどうかを検討したところ、その違いが関与する可能性は少ないことが示唆された。

文 献

- 1) Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Fiore N and Williamson B (1975): An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, **72**, 3666-3670.
- 2) Fiers W (1991): Tumor necrosis factor. *FEBS Lett*, **285**, 199-212.
- 3) Dinarello CA (1988): Biology of interleukin 1. *FASEB J*, **2**, 108-115.
- 4) Komatsu W, Yagasaki K, Miura Y and Funabiki R (1997): Stimulation of tumor necrosis factor and interleukin-1 productivity by the oral administration of cabbage juice to rats. *Biosci Biotech Biochem*, **61**, 1937-1938.
- 5) Komatsu W, Yagasaki K, Miura Y and Funabiki R (1996): Modification of tumor necrosis factor and interleukin-1 productivity in macrophages from hepatoma-bearing rats by dietary proteins. *Nutr Res*, **16**, 1699-1707.
- 6) Stuehr DJ and Nathan CF (1989): Nitric oxide: a macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *J Exp Med*, **169**, 1543-1555.
- 7) Kawasaki M, Yagasaki K, Miura Y and Funabiki R (1996): Responses of serum lipids and adipose tissue lipases to lipopolysaccharide administration in normal and hepatoma-bearing rats. *Biosci Biotech Biochem*, **60**, 528-529.
- 8) Komatsu W, Miura Y and Yagasaki K (1998): Suppression of hypercholesterolemia in hepatoma-bearing rats by cabbage extract and its component, S-methyl-L-cysteine sulfoxide. *Lipids*, **33**, 499-503.
- 9) Nagata Y, Tanaka K and Sugano M (1981): Further studies on the hypocholesterolaemic effect of soya-bean protein in rats. *Br J Nutr*, **45**, 233-241.