

含硫アミノ酸代謝におよぼす銅欠乏の影響

東條仁美・細川 優・新関嗣郎・佐藤郁雄・山口賢次

(国立栄養研究所 母子栄養部*)

Sulfur Amino Acids Metabolism in the Copper-Deficient Rats

Hitomi TOJO, Yu HOSOKAWA, Shiro NIIZEKI, Ikuo SATO and
Kenji YAMAGUCHI

Division of Maternal and Child Nutrition, the National Institute of Nutrition

Since the enzyme, cysteamine oxygenase, has copper as essential metal for full enzyme activity, the effect of copper deficiency on the sulfur amino acid metabolism, especially taurine formation was examined. Animals were fed on the copper-depleted diet with different casein level (20% and 30%) for 6 weeks.

Serum and hepatic copper concentration were decreased in copper-deficient animals, but hepatic iron was increased. The hepatic cysteine dioxygenase activities of copper-deficient rats did not exhibit significant difference from that of control animals in either 20% or 30% casein level. Hepatic and urinary taurine concentrations of the deficient rats was not also altered compared to those of respective control animals. No significant change was observed in the hepatic cysteine and glutathione content in copper-deficient rats.

These results suggest that significant effect of copper deficiency on the taurine formation was not observed, further investigation of cysteamine oxygenase activity in copper-deficient status is necessary.

* 所在地：東京都新宿区戸山1-23-1 (〒162)

ラット肝における L-Cysteine から taurine までの代謝経路には鉄・銅・亜鉛などの金属元素の関与が示唆^{1,2)}されている。

Cysteine から Cysteine Sulfinat, hypotaurine を経て, taurine が生成されるシステインスルフィン酸経路において, 山口らは Cysteine から Cysteine Sulfinat 代謝に関与する Cysteine dioxygenase 酵素活性の発現に二価鉄が必須であることを報告¹⁾し, また, 著者らは先に鉄欠乏ラットの肝 cysteine dioxygenase 活性の低下および尿中 taurine 量の減少を報告³⁾した。一方, Taurine 生合成経路について Cavallini らはシステインからパントテン酸サイクルを経て Cysteamine から Hypotaurine, Taurine への生合成経路における Cysteamine から Hypotaurine の酸化反応に銅元素の関与を示唆²⁾している。

これらの代謝経路についてはこれまでの研究から主経路はシステインスルフィン酸経路と考えられているが, さらにこの点を確認するためにシステアミン経路の Cysteamine Oxygenase 活性に必須である銅を欠乏させた場合の含硫アミノ酸代謝の変動をラットについて検討した。

実 験 方 法

1. 実験動物および飼料

生後 4 週齢の Sprague Dawley 系雄ラット (日本クレア K.K より購入) を用いた。3 日間 20% カゼイン飼料で予備飼育したのち表 1 に示した各飼料を 6 週間投与した。カゼイン

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	(g/kg)	
	Control ¹⁾	Cu Deficiency ¹⁾
Casein	200 (300)	200 (300)
α-Corn starch	68	68
Sucrose	600 (500)	600 (500)
Soybean oil	50	50
Salt mixture	50 ²⁾	50 ³⁾
Cellulose powder	20	20
Vitamine mixture	10	10
Choline chloride	2	2

- 1) Copper contents in control and copper-deficient diets were 2.0 and 0.41 mg/100 g diets respectively
- 2) Harper, A. E. J. Nutr. 68, 405 (1959).
- 3) Cupric sulfate was omitted from Harper's salt mixture, and the equal amount of sucrose was substituted for the metal

レベルを20%と30%とし、各レベルに必要な量の銅を含む飼料を与えた対照群と銅欠乏飼料を与えた欠乏群の合計4群とした。銅欠乏飼料の塩混合は Harper⁴⁾ 塩混合より硫酸銅を除いた。実験期最後の3日間について採尿した。

2. 測定項目および方法

血清については血清銅、血清 Ceruloplasmin を測定した。肝臓中銅および鉄含量は一定量の組織を濃硝酸にて加熱分解したのち、原子吸光法にて測定した。Cysteine は Gaitonde の酸性ニンヒドリン反応法⁵⁾ 尿および肝除たん白上澄液は Dowex 50 W-X 8 カラムにて溶出後 fluorescamine を用いた蛍光法にて taurine を測定した。Cysteine dioxygenase 活性の測定は山口らの方法¹⁾ によった。

結果および考察

飼料摂取量、体重増加量を表2に示した。両欠乏群とも飼料摂取、体重増加量は各対照群に比べ低い値を示したが、有意差は認められなかった。血清銅、セルロプラスミンは明らかに欠乏群で低い値を示した(図1)。肝臓中銅含量は両レベルとも欠乏群で低値を示したが、逆に鉄含量は銅欠乏群で高い値を示した(図2)。Cysteine dioxygenase 活性(図3)では30%カゼイン群が20%群より著明に増加していたが、銅欠乏群と対照群間には両レベルとも有意差は認められなかった。肝 glutathione, cysteine 量を図4に示した。これらの値について銅欠乏による差は認められなかった。肝臓および尿 taurine を図5に示した。肝臓中および尿 taurine 含量はともに銅欠乏群では20%、30%カゼイン食いずれにおいてもやや低い傾向にあるが、有意差は認められなかった。

Table 2. Food intake and body weight gain in rats fed on copper-depleted diet for six weeks

Groups	Food intake (g/day)	Body weight on		Body weight gain (g/6 weeks)
		Day 1	Day 43	
20% Casein				
Control	18.8 ± 0.40	80.7 ± 1.0	371 ± 6.8	290.3 ± 7.24
Deficiency	18.3 ± 0.60	81.2 ± 1.1	354 ± 8.3	272.8 ± 7.77
30% Casein				
Control	19.2 ± 0.57	82.7 ± 1.7	373 ± 11.7	290.3 ± 11.7
Deficiency	18.4 ± 0.37	82.3 ± 0.3	366 ± 6.5	283.7 ± 6.24

Mean ± SE (n=6)

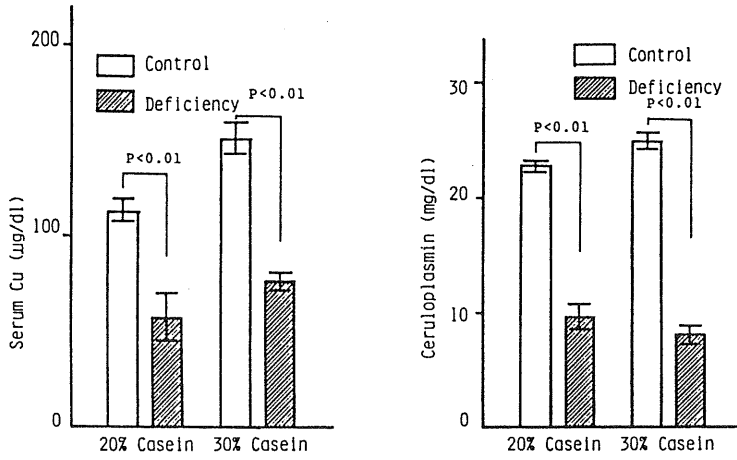


Fig. 1. Serum Cu and ceruloplasmin contents in rats fed on the copper-depleted diet for 6 weeks. Each value represents mean \pm SE for 6 rats.

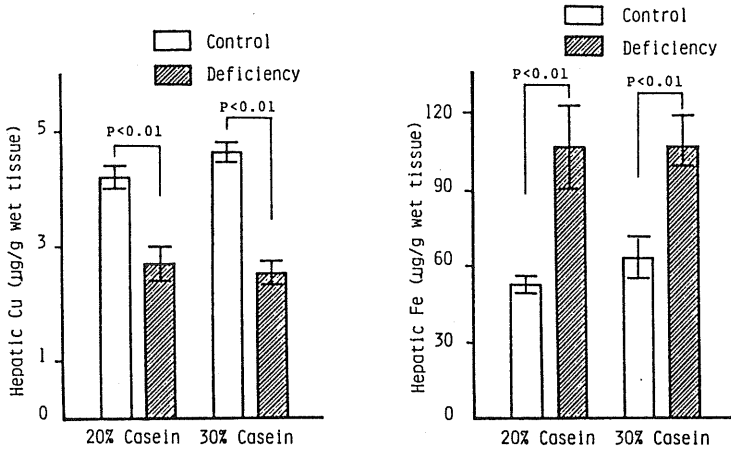


Fig. 2. Hepatic copper and iron contents in rats fed on the copper-depleted diet for 6 weeks. Each value represents mean \pm SE for 6 rats.

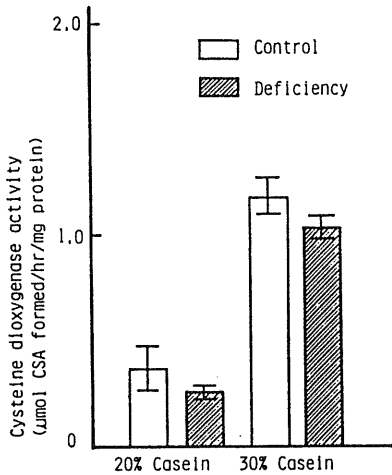


Fig. 3. Hepatic cysteine dioxygenase activity in rats fed on the copper-depleted diet. Each value represents mean \pm SE for 6 rats.

Cysteine から Taurine までの代謝経路において肝臓 Cysteine dioxygenase 活性には全く変化が認められなかったことからシスティンスルフィン酸経路への銅欠乏の影響はほとんどなかったと推定される。一方、パントテン酸サイクルを経て、Cysteamine, Hypotaurine より Taurine が合成されるシステアミン経路を経る代謝量が、もしタウリン合成に大きく関与するならば、尿タウリン又は肝タウリンが銅欠乏により減少するはずであるが、図5に示すようにやや低下の傾向を示すが、有意な変化は認められなかった。銅欠乏時の Cysteamine dioxygenase 活性について今後検討する必要があるが、Cysteamine からの Taurine 生合成経路の関与はそれほど大きいものでないと推定される。

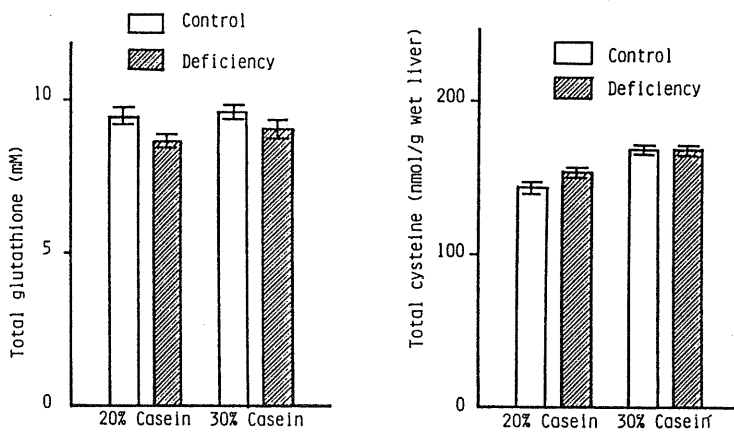


Fig. 4. Hepatic glutathione and cysteine contents in rats fed on the copper-depleted diet. Each value represents mean \pm SE for 6 rats.

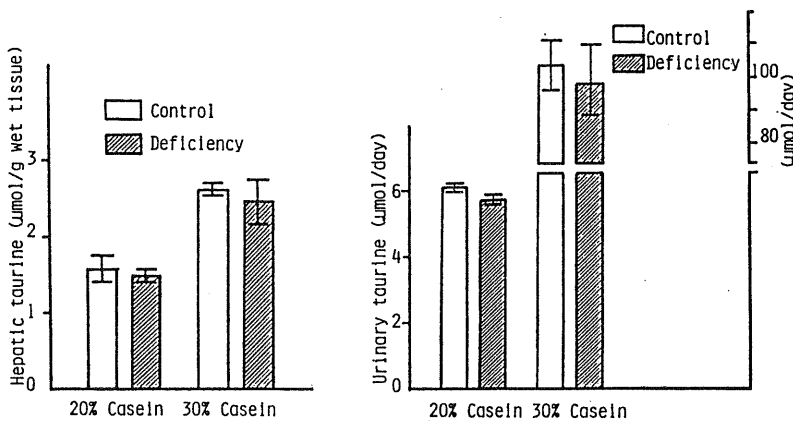


Fig. 5. Hepatic and urinary taurine contents in rats fed on the copper-depleted diet for 6 weeks, urine was collected for last 3 days of experimental period. Each value represents mean \pm SE for 6 rats.

文 献

1. YAMAGUCHI, K., Y. HOSOKAWA, N. KOHASHI, Y. KORI, S. SAKAKIBARA and I. UEDA (1978) *J. Biochem.* 83: 479
2. CAVALLINI, D., S. DUPRE, R. SCANDURRA, M. T. GRAZIANI and F. C. RAMUSINO (1968) *Eur. J. Biochem.* 4: 209
3. 細川 優, 東條仁美, 新関嗣郎, 佐藤郁雄, 山口賢次 (1984) 微量栄養素研究 1: 65
4. HARPER, A. E. (1959) *J. Nutr.*, 68: 405
5. GAITONDE, M. K. (1967) *Biochem. J.* 104: 627