

## 発育期ラットにおける含硫アミノ酸代謝からみた 必須アミノ酸の要求量について(Ⅲ)

<sup>1)</sup>東 條 仁 美・<sup>1)</sup>笹 島 郁 美・<sup>1)</sup>細 川 優

<sup>1)</sup>佐 藤 郁 雄・<sup>1)</sup>新 関 嗣 郎・<sup>2)</sup>山 口 賢 次

<sup>1)</sup>(国立健康・栄養研究所母子健康・栄養部\*, <sup>2)</sup>東京家政大学\*\*)

### Study on Essential Amino Acids Requirement Based on the Sulfur Amino Acid Metabolism in Young Rats (III)

Hitomi TOJO<sup>1)</sup>, Ikumi SASAJIMA<sup>1)</sup>, Yu HOSOKAWA<sup>1)</sup>, Ikuo SATO<sup>1)</sup>, Shiro NIIZEKI<sup>1)</sup> and Kenji YAMAGUCHI<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>*Division of Maternal and Child Nutrition, National Institute of Health and Nutrition*

<sup>2)</sup>*Tokyo Kasei University*

Requirement of essential amino acid for growing rats was examined on the basis of hepatic cysteine dioxygenase (CDO) activity and urinary taurine. Young male rats were fed on partially purified diets of 0.45% sulfur amino acids (Met : Cys = 7 : 5) and different level of isoleucine, valine, leucine, phenylalanine and tyrosine for 18 days. Levels of isoleucine, leucine, phenylalanine + tyrosine in each experimental diet were adjusted to five levels, respectively. Minimum requirements of isoleucine, leucine, valine and phenylalanine + tyrosine were resulted in 0.411, 0.508, 0.675 and 0.661% in CDO activity and 0.392, 0.477, 0.622 and 0.627% in urinary taurine.

ラット肝臓における含硫アミノ酸代謝は摂取飼料蛋白質の含硫アミノ酸濃度により調節される<sup>1,2)</sup>ことや、制限アミノ酸量の変化によっても影響を受けることが認められ<sup>3,4)</sup>ている。よって飼料中含硫アミノ酸(SAA)が過剰でなくてもアミノ酸の体内利用が抑制されると、Cysteine dioxygenase(CDO)酵素活性を誘導し、Taurine生成の増加をもたらす。著者らはアミノ酸混合飼料を用いて発育期ラットにおける必須アミノ酸の必要量を含硫アミノ酸代謝すなわち肝臓CDO酵素活性、尿中Taurine排泄量を主な指標とし測定する方法を検討し、報告<sup>5,6)</sup>してきた。今回 Isoleucine(Iso), Leucine(Leu), Valine(Val), Phenylalanine(Phe) + Tyrosine(Tyr)の要求量について検討した。

---

\*所在地：東京都新宿区戸山1-23-1(〒162)

\*\*所在地：東京都板橋区加賀1-18-1(〒173)

## 実験方法

### 1) 実験動物および測定

実験動物として生後4週齢のSprague-Dawley系雄ラット(日本クレア株)を用いた。5日間20%カゼイン飼料で予備飼育したのち、Table 1に示した組成を基本とする実験飼料を自由摂取させた。アミノ酸混合物はNRC組成<sup>7)</sup>に基づいたアミノ酸配合を基本として用いた。含硫アミノ酸量は前回の結果から最小必要量(0.50%)の90%である0.45%とし、各試験アミノ酸はそれぞれ5段階のレベルとして実験を行った。即ち、Iso含量は0.20, 0.30, 0.35, 0.40, 0.50%であり、Val含量は0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60%であり、Leu含量は0.30, 0.45, 0.55, 0.65, 0.75%とし、Phe+Tyr(5:3)は0.30, 0.40, 0.50, 0.65, 0.80%とした。これら実験飼料を18日間投与し、実験期最後の3日間は採尿し、taurine測定に供した。

**Table 1.** Composition of experimental diets(g/kg)

Ingredients	Basal diet
AAmixture	108.9 <sup>1)</sup>
$\alpha$ -Corn starch	474.1
Sucrose	300
Soybean oil	50
Salt mixture <sup>2)</sup>	35
Cellulose powder	20
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	10
Choline HCl	2

- 1) National Research Council (NRC)(1978) Nutrient requirements of domestic animals No. 10:23
- 2) AIN-76 mineral and vitamin mixture (1977) J. Nutr. 107:1340

### 2) 測定項目および方法

総 glutathione(GSH)はDTNB法に glutathione reductase法を共役させるOwens & Belcherの方法<sup>8)</sup>に準じて測定した。TaurineはDowex 50W-X8(200~400mesh)カラム(1~5cm)を用い、組織および尿サンプルのtaurineを分離し、fluorescamineによる蛍光法にて測定した。CDO活性は解剖後ただちに肝臓を0.9%食塩水にて灌流し、脱血させた肝臓を0.25M sucrose溶液によりhomogenizeし、105,000×g, 60分遠心して上清を分離し、10%酵素液を調製した。CDO活性の測定は嫌氣的にL-cysteineで活性化させる山口らの方法<sup>9)</sup>によった。

## 結果と考察

各実験アミノ酸レベルにおける飼料摂取量、体重増加量、肝中の総Glutathione量をTable 2に示した。各実験群ともに飼料中含量が低くなると飼料摂取量、体重増加量は低い値を示した。逆に肝glutathione量は各実験群ともテストアミノ酸が制限されるほど高い値を示した。各試験アミノ酸群におけ

**Table 2.** Food intake, body weight gain and hepatic total glutathione contents of rats fed on 0.45% sulfur amino acids and different level of isoleucine, valine, leucine and phenylalanine + tyrosine diets

AA level (%)	Food intake (g/18 days)	Body weight gain (g/18 days)	liver total GSH ( $\mu$ M)
Iso			
0.20	169.1 $\pm$ 10.0*	7.2 $\pm$ 2.1*	324.3 $\pm$ 10.6*
0.30	296.4 $\pm$ 7.4	75.0 $\pm$ 2.7*	305.7 $\pm$ 19.5*
0.35	319.8 $\pm$ 8.5	93.8 $\pm$ 4.1	256.3 $\pm$ 7.4
0.40	314.7 $\pm$ 8.7	94.2 $\pm$ 4.4	251.5 $\pm$ 21.0
0.50	327.1 $\pm$ 12.1	98.8 $\pm$ 5.5	267.3 $\pm$ 7.3
(Control)			
Val			
0.20	166.0 $\pm$ 5.3*	8.0 $\pm$ 1.4*	378.9 $\pm$ 17.2*
0.30	258.0 $\pm$ 4.7*	59.0 $\pm$ 2.3*	465.0 $\pm$ 17.1*
0.40	335.4 $\pm$ 10.3	107.3 $\pm$ 4.7	337.0 $\pm$ 28.1*
0.50	335.1 $\pm$ 7.5	105.3 $\pm$ 3.6	271.0 $\pm$ 13.3
0.60	339.7 $\pm$ 10.7	111.8 $\pm$ 5.5	261.6 $\pm$ 21.0
(Control)			
Leu			
0.30	159.4 $\pm$ 6.3*	17.7 $\pm$ 1.3*	352.0 $\pm$ 11.7*
0.45	237.2 $\pm$ 10.2*	56.3 $\pm$ 5.7*	318.6 $\pm$ 25.3
0.55	311.9 $\pm$ 10.0	102.8 $\pm$ 5.8	345.2 $\pm$ 8.5*
0.65	320.7 $\pm$ 8.4	103.0 $\pm$ 2.7	322.5 $\pm$ 4.7
0.75	329.5 $\pm$ 12.0	107.7 $\pm$ 6.3	281.5 $\pm$ 17.8
(Control)			
Phe+Tyr			
0.30	210.9 $\pm$ 5.8*	31.2 $\pm$ 3.0*	354.8 $\pm$ 2.8*
0.40	236.7 $\pm$ 17.3*	53.8 $\pm$ 6.3*	237.5 $\pm$ 16.5
0.50	308.4 $\pm$ 9.4	91.7 $\pm$ 3.9	205.8 $\pm$ 14.0
0.65	293.8 $\pm$ 17.4	90.8 $\pm$ 8.6	302.3 $\pm$ 13.2
0.80	313.9 $\pm$ 9.8	99.2 $\pm$ 4.8	297.3 $\pm$ 33.1
(Control)			

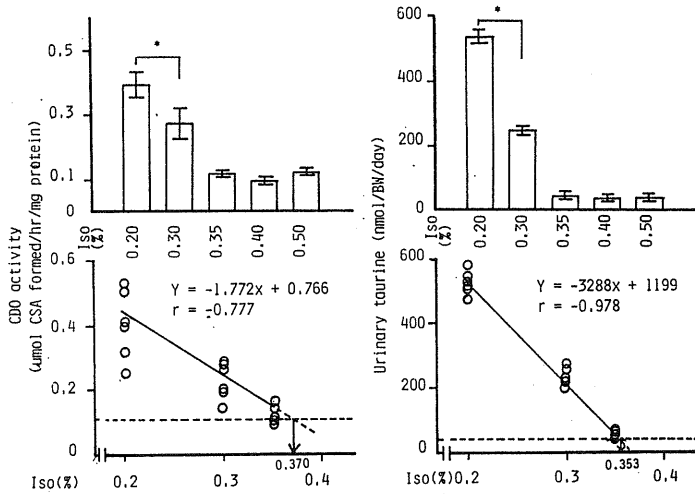
Each value represents Mean $\pm$ S.E. (n=6)

\* Significantly different from control group,  $p < 0.01$

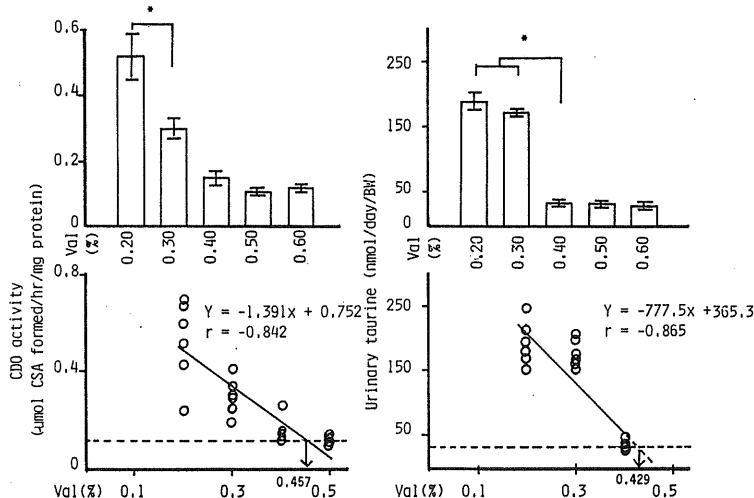
る CDO 活性, 尿中タウリン排泄量を Fig. 1 ~ 4 に示した。まず, Iso 実験群における CDO 活性および尿中 taurine 排泄量は飼料中 Iso の増加に伴い減少し, 0.35% 以上では低値ではほぼ一定値を示した。この減少はこれまでの報告<sup>5, 6)</sup>と同様に Iso の制限度が高いと含硫アミノ酸の蛋白合成などへの利用抑制が起り, 結果的に含硫アミノ酸の分解経路への濃度が高くなり, CDO 活性の上昇, taurine 合成量の上昇による尿 taurine 排泄量の増加をもたらした。飼料中 Iso が 0.35% 以上の群では CDO 活性, 尿

Taurine量ともに低値を示した。これらの平均値を基礎値として点線で示した (Fig. 1)。

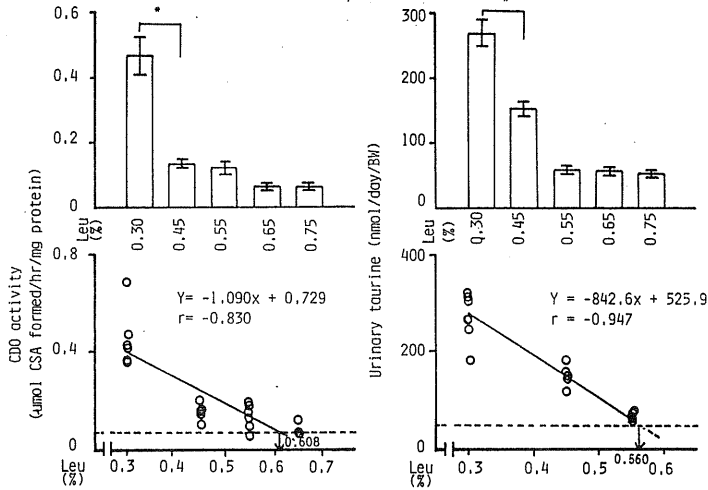
この基礎値と最小二乗法で求めた相関直線を外挿した交点の値を最小必要量とした。CDO 活性からは0.370%, 尿 taurine からは0.353%の値が得られた。しかし、これらの値は0.45%の含硫アミノ酸を用いた値であり、含硫アミノ酸の最小必要量は以前の結果より0.50%であるから、この値で補正すると、CDO 活性からは $0.370 \times 0.50 / 0.45 = 0.411\%$ であり、尿 taurine からは $0.353 \times 0.50 / 0.45 = 0.392\%$ となった。同様の方法により、Val, Leu, Phe+Tyr について計算すると、各実験アミノ酸の最小必要量はValではCDO 活性より0.508%となり、尿中 taurine では0.477%となった。Leu においてはCDO 活性では0.675%, 尿 taurine からは0.622%であった。Phe+Tyr ではCDO 活性からは0.661%, 尿 taurine 量では0.627%となった。



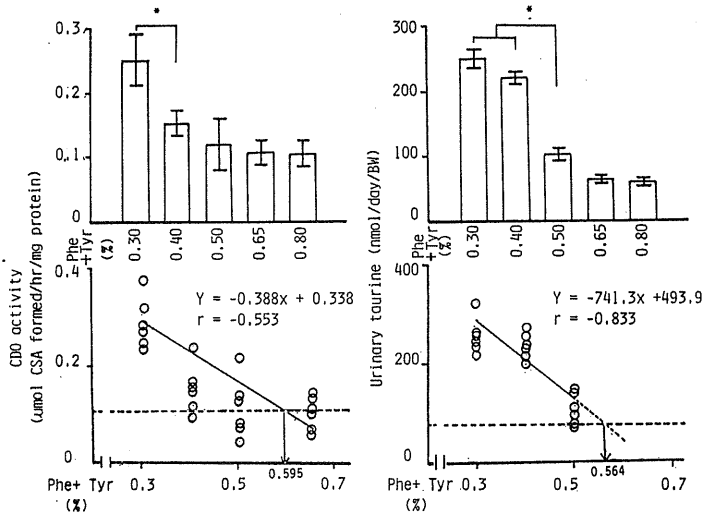
**Fig. 1.** Correlation between cysteine dioxygenase (CDO) activity and urinary taurine contents and isoleucine level of rats fed on 0.45% sulfur amino acids and different level of isoleucine diets (Mean  $\pm$  S.E., n=6) \* $p < 0.01$ .



**Fig. 2.** Correlation between cysteine dioxygenase (CDO) activity and urinary taurine contents and valine level of rats fed on 0.45% sulfur amino acids and different level of valine diets (Mean  $\pm$  S.E., n=6) \* $p < 0.01$ .



**Fig. 3.** Correlation between cysteine dioxygenase (CDO) activity and urinary taurine contents and leucine level of rats fed on 0.45% sulfur amino acids and different level of leucine diets (Mean±S.E.) \**p*<0.01.



**Fig. 4.** Correlation between cysteine dioxygenase (CDO) activity and urinary taurine contents and phenylalanine+tyrosine level of rats fed on 0.45% sulfur amino acids and different level of phenylalanine+tyrosine diets (Mean±S.E., n=6) \**p*<0.01.

文 献

1. KOHASHI, N., K. YAMAGUCHI, Y. HOSOKAWA, Y. KORI, O. FUJII and I. UEDA (1978) J. Biochem. 84 : 159
2. DANIELS, K. M. and M. H. STIPANUK (1982) J. Nutr. 112 : 2130
3. YAMAGUCHI, K., Y. HOSOKAWA, S. NIIZEKI, H. TOJO and I. SATO (1985) Taurine ; Biological action and

clinical perspective, Alan R. Liss, Inc, New York : pp. 23-32

4. HOSOKAWA, Y., S. NIIZEKI, H. TOJO, I. SATO and K. YAMAGUCHI (1988) J. Nutr. 118 : 456
5. 東條仁美, 笹島郁美, 新関嗣郎, 細川優, 山口賢次 (1987) 含硫アミノ酸 10 : 165
6. 東條仁美, 笹島郁美, 新関嗣郎, 細川優, 佐藤郁夫, 山口賢次 (1988) 微量栄養素研究 5 : 107
7. Committee on animal nutrition board on agriculture and renewable resources. National Research Council (1978) Nutrient requirement of laboratory animals No. 10 : pp. 13-23
8. OWENS, C. W. I. and R. V. BELCHER (1965) Biochem. J. 94 : 705
9. YAMAGUCHI, K., Y. HOSOKAWA, N. KOHASHI, Y. KORI, S. SAKAKIBARA and I. UEDA (1978) J. Biochem. 83 : 479