

## 発育期ラットにおける含硫アミノ酸代謝からみた 必須アミノ酸の必要量について (IV)

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

佐 藤 郁 男<sup>1)</sup>・荫 士 安<sup>1)</sup>・山 口 賢 次<sup>2)</sup>

(<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 (IV)

Hitomi TOJO<sup>1)</sup>, Ikumi SASAJIMA<sup>1)</sup>, Yu HOSOKAWA<sup>1)</sup>,

Ikuo SATO<sup>1)</sup>, Shi-an YIN<sup>1)</sup> and Kenji YAMAGUCHI<sup>2)</sup>

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

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

Minimum requirements of all essential amino acid for growing rats had been examined on the basis of hepatic cysteine dioxygenase (CDO) and urinary taurine. These minimum requirements were compared to the National Research Council (NRC) amino acid pattern. Young male rats were fed on partially purified diets of three different amino acids composition for 18 days. Two amino acid patterns were obtained from our pre-experiments, another one is NRC pattern. Body weight gain and food intake showed almost similar values in all groups. Hepatic glutathione, cysteine and taurine contents also showed almost same values in all groups. Hepatic CDO activity and urinary taurine of rats fed on NRC amino acid mixed diet were higher than those of other groups. From these results, it was proved that CDO activity and urinary taurine were useful indicator for estimation of essential amino acid requirement.

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<sup>3,4)</sup>。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,

---

\*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)

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, 尿中タウリン排泄量を指標として各必須アミノ酸の最小必要量について検討し, 報告<sup>5-7)</sup>してきた。これら求めた値と NRC 組成との比較検討を行った。

## 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。アミノ酸混合は NRC 組成<sup>8)</sup>と, 著者らがこれまでに求めた必須アミノ酸の最小必要量の 2 レベル (最小, 最大) の 3 群とした。用いたアミノ酸組成については Table 2 に示した。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。肝臓については生理食塩水にて灌流し, 脱血後測定に供した。

### 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>9)</sup> に準じて測定した。Taurine は Dowex 50W-X8 (200~400mesh) カラム (1~5 cm) を用い, 組織及び尿サンプルの taurine を分離し, fluorescamine による蛍光法にて測定した。Cysteine の測定は組織上清液について Gaitonde の酸性 ninhydrin 反応法<sup>10)</sup> によって測定した。CDO 活性は脱血させた肝臓を 0.25M sucrose 溶液によりホモゲナイズし, 105,000×g, 60分遠心して上清を分離し, 10% 酵素液を調整した。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>11)</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と体重増加量を Fig. 1 に示した。飼料摂取量, 体重増加

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

Ingredients	Basal diet
AA mixture	108.9 <sup>1)</sup>
α - 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

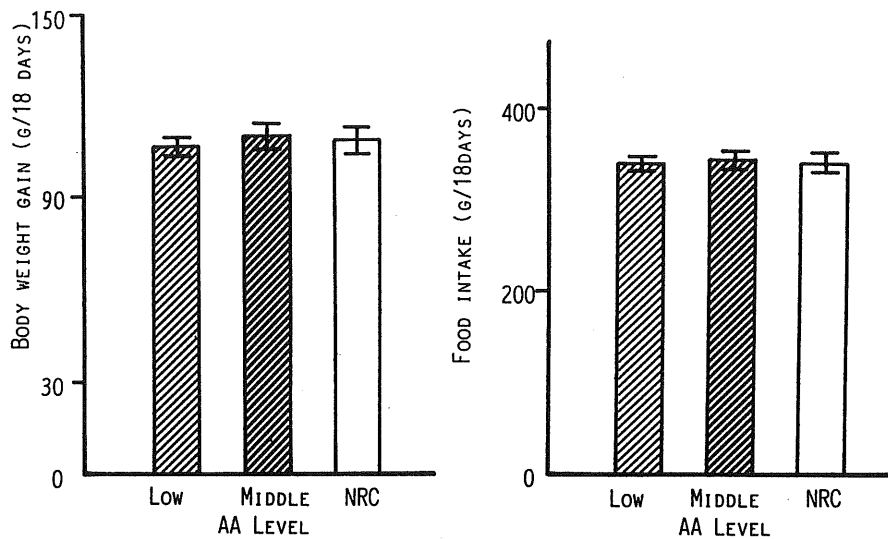
1) National Research Council (NRC) (1978) Nutrient requirements of domestic animals No.10 : 23

2) AIN-76 mineral and vitamin mixture (1977) J. Nutr. 107 : 1340

**Table 2.** Composition of amino acid mixture

amino acids	Low	Middle	* NRC
	% of diet		
L-Lysine	0.60	0.70	0.70
L-Histidine	0.18	0.25	0.30
L-Threonine	0.38	0.50	0.50
L-Tryptophan	0.10	0.15	0.15
L-Isoleucine	0.35	0.45	0.50
L-Valine	0.45	0.50	0.60
L-Leucine	0.60	0.65	0.75
L-Phenylalanine	0.38	0.44	0.50
L-Tyrosine	0.22	0.26	0.30
Sulfur amino acids	0.50	0.50	0.60
L-Methionine	0.29	0.29	0.35
L-Cystine	0.21	0.21	0.25
L-Arginine	0.60	0.60	0.60
DL-Serine	0.20	0.20	0.20
DL-Alanine	0.20	0.20	0.20
Glycine	0.19	0.19	0.19
L-Proline	0.40	0.40	0.40
L-Aspartic acid	0.40	0.40	0.40
L-Glutamic acid	5.14	4.50	4.00
Total	10.89	10.89	10.89

\* National Resrch Council : Nutrient requirement of domestic animals, No.10 (1978)



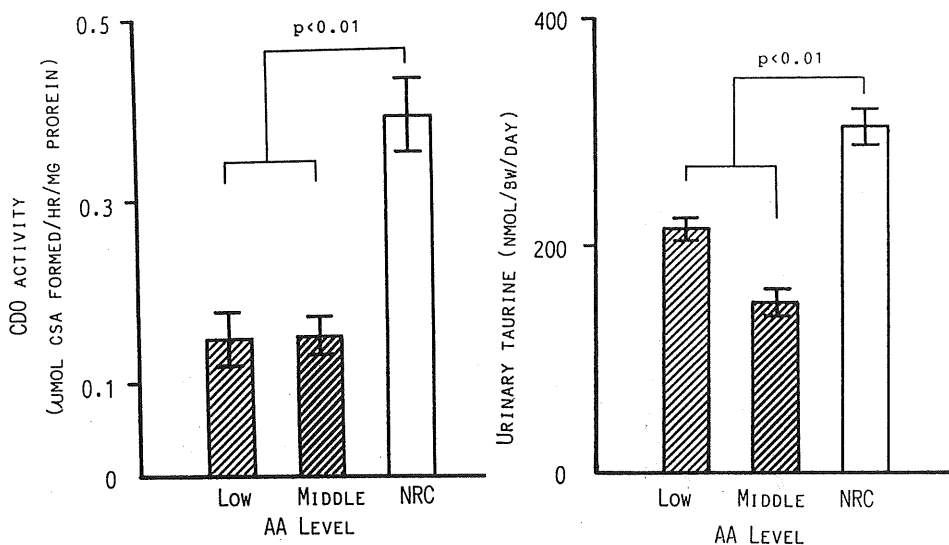
**Fig. 1.** Body weight gain and food intake of rats fed on different level of amino acids diets (Mean  $\pm$  S.E., n=7)

量はともに3群間にほとんど差は認められなかった。肝臓中の総グルタチオン、システイン、タウリン量を Table 3 に示した。グルタチオン量は3群間に差は認められなかった。グルタチオンはシステインの貯蔵的役割を果たしているが各群間に差が認められなかったことより、グルタチオンプールは満たされていたと考えられる。システイン、タウリン含量においても3群間に有意差は認められなかった。CDO 活性および尿中タウリン排泄を Fig.2 に示した。両値とも NRC 群が最も高い値を示した。これは NRC 群の含硫アミノ酸含量が必要量よりもやや多いため、システイン分解経路に強く影響を及ぼしたと考えられる。一方、他の二群では含硫アミノ酸含量が必要量のレベルにあるため両値とも NRC 群より低い値を示したと考えられる。よって、これら結果から著者らが指標としてきた CDO 活性および尿中タウリン排泄は必要量算定に応用できると考えられる。

**Table 3.** Hepatic total glutathione, cysteine and taurine contents of rats fed on different level of amino acids diets

Groups	Total glutathione	Cysteine	Taurine
	( $\mu\text{mol/BW}$ )	( $\text{nmol/BW}$ )	( $\text{nmol/BW}$ )
Low	347.4 $\pm$ 13.3	1.98 $\pm$ 0.05	160.3 $\pm$ 13.40
Middle	310.3 $\pm$ 10.5	2.10 $\pm$ 0.09	179.7 $\pm$ 21.10
NRC	339.9 $\pm$ 11.3	2.08 $\pm$ 0.03	181.2 $\pm$ 27.86

Each Value represent mean  $\pm$  S.E. (n=7).



**Fig. 2.** Hepatic cysteine dioxygenase activity and urinary taurine contents of rats fed on different level of amino acids diets (Mean  $\pm$  S.E., n=7).

## 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 : 23-32
4. HOSOKAWA, Y., S. NIIZEKI, H. TOJO, I. SATO and K. YAMAGUCHI (1988) *J. Nutr.* 118 : 456
5. H. TOJO, I. SASAJIMA, Y. HOSOKAWA, S. NIIZEKI, I. SATO and K. YAMAGUCHI (1988) *Trace Nutrients Research* 4 : 171-179
6. 東條仁美, 笹島郁美, 新関嗣郎, 細川 優, 佐藤郁雄, 山口賢次 (1988) *微量栄養素研究* 5 : 107
7. 東條仁美, 笹島郁美, 細川 優, 佐藤郁雄, 新関嗣郎, 山口賢次 (1989) *微量栄養素研究* 6 : 123-128
8. Committee on animal nutrition board on agriculture and renewable resources. National Research Council (1978) *Nutrient requirement of laboratory animals* No.10 : pp.13-23
9. OWENS, C. W. I. and R. V. BELCHER (1965) *Biochem. J.* 94 : 705
10. GAITONDE, M. K. (1967) *Biochem. J.* 104 : 627
11. YAMAGUCHI, K., Y. HOSOKAWA, N. KOHASHI, Y. KORI, S. SAKAKIBARA and UEDA (1978) *J. Biochem.* 83 : 479

