

## 動物性と植物性タンパク質の異なる栄養生理作用の発現機構

杉山 公 男 (静岡大学農学部助教授)

植物性タンパク質の摂取は動物性タンパク質に比べて血漿コレステロール濃度を上昇させにくいことが明らかにされて以来、成人病予防に対する社会的関心の高さと相まって植物性タンパク質に大きな関心が寄せられてきた。食品タンパク質をその由来により植物性と動物（や微生物）性タンパク質に分類することが多い。これは実際の食生活においてはそれなりの意味（例えば鳥獣肉類のタンパク質は動物性脂肪とセットになっていることなど）もあるが、あくまで便宜的な分類に過ぎず食品・栄養化学的な根拠は必ずしも明確にされていない。タンパク質の栄養学は各種必須アミノ酸の発見とそれに引き続く各必須アミノ酸の必要量の算定によりほぼ完成したかの印象を与える。しかし、必須アミノ酸の概念に基づいたタンパク質の栄養価だけではタンパク質の様々な栄養生理効果を説明できないことがある。その一つが上述の動物性タンパク質と植物性タンパク質の違いであろう。私共はこれまで、タンパク質中の含硫アミノ酸の種類（メチオニン、シスチン）と量が血漿コレステロール濃度調節に重要な意義を有することを明らかにしてきた。

本研究では、血漿コレステロール濃度に及ぼす各種動・植物性タンパク質の異なる影響が含硫アミノ酸に基づいた考え方により説明できるか否かを更に詳しく検討するとともに、尿中へのカルシウム排泄に及ぼすタンパク質の影響についても検討した。

### 〔方法〕

いくつかの動物実験を行ったが、いずれも体重100～130gのWistar系雄ラットを用い、実験食を2または3週間自由摂取させた後絶食させずに屠殺した。Table 1に実験食の組成の一例を示す。各食餌ともタンパク質を25%カゼイン相当含んでいる。解剖時、血液、肝臓、および一部の実験では肝以外の各臓器も採取した。各臓器は液体窒素で急速凍結し分析まで-80℃にて保存した。また、一部の実験では解剖前3日間にわたって採尿した。血漿脂質は全て酵素法により測定した。肝臓（および各臓器）はホモジナイズし、11,000×gでミトコンドリア画分を沈降させた後、105,000×g、60分の遠心分離によりマイクロソーム画分を調製し、リン脂質の組成と含量およびリン脂質合成系の酵素活性（ホスファチジルエタノールアミンN-メチルトランスフェラーゼ<sup>1</sup>、CTP：ホスホコリン・シチジリルトランスフェラーゼ<sup>2</sup>）の測定に供した。リン脂質はTLCで分離し、無機リンを測定して定量した。肝臓内のS-アデノシルメチオニ

Table 1 Composition of Basal Diet

Ingredient	g/100g diet
Protein	25.0
Corn starch	43.8
Sucrose	20.0
Corn oil	5.0
Mineral mixture*	5.0
Vitamin mixture*	1.0
Choline•Cl	0.2

\* A. E. Harper (1959).

ン (SAM) およびホスホコリン濃度は HPLC 等を用いて測定した。尿中カルシウム濃度は原子吸光分析装置により測定し、また、大腿骨の強度は破断特性測定装置を用いて測定した。

### 〔結果と考察〕

Table 2 に各種タンパク質を25%含む食餌をラットに2週間投与した時のラットの成長、飼料摂取量および血漿脂質濃度を示す。各食餌のタンパク質は、動物性タンパク質としてカゼイン、ラクトアルブミンおよびイワシタンパク質を、植物性タンパク質として小麦グルテンおよび大豆タンパク質を用いた。また比較のため、大豆タンパク質にカゼイン食と同量になるようメチオニンを添加した群も設けた。成長や飼料摂取量に各群でそれほど大きな差は見られなかった。血漿総コレステロール濃度はラクトアルブミン、小麦グルテンおよび大豆タンパク質食群でカゼインおよびイワシタンパク質食に比べて有意に低い値を示した。また、大豆タンパク質食にメチオニンを0.34%添加した群ではカゼイン食の値までは届かないものの血漿コレステロール濃度の有意な上昇が見られた。血漿総コレステロールの変化はHDL-コレステロールの他に、(VLDL+LDL)-コレステロールの変化も伴っていた。血漿リン脂質濃度は血漿コレステロール濃度とよく似た変化を示したが、血漿ト

リグリセライド濃度は大豆タンパク質食群で低い値を示したのみであった。このように、5種類のタンパク質の血漿コレステロール濃度に及ぼす影響を調べた限りにおいても、動物性タンパク質は植物性タンパク質に比べて血漿コレステロール濃度を上昇させ易いが、例外もあることが分かる。すなわち、本実験の場合にはラクトアルブミンであり、これは Sautier 等<sup>3)</sup>により最初に観察されている。一方、植物性タンパク質でも血漿コレステロール濃度を上昇させ易いタンパク質も知られており(例えば米タンパク質<sup>4)</sup>)、動物性と植物性の分類はこと血漿コレステロール濃度への影響に関しては例外の多い分類と言える。

Table 3 に各食餌中のメチオニン含量、肝臓中のSAM濃度、および肝臓ミクロソームのリン脂質(特にPCとPE)組成を示す。血漿コレステロール濃度を低下させるタンパク質は動物性と植物性の分類に関わらずメチオニン含量の低いことが分かる。メチオニンの代謝経路は複数存在するが、肝臓においては硫黄転移経路が主であると考えられており<sup>5)</sup>、これはメチオニンとATPが反応してSAMが生成することにより始まる代謝経路である。肝臓中のSAM濃度は食餌(タンパク質)中のメチオニン含量をよく反映していた。一方、リン脂質の重要な生合成の場であるミクロソームのリン脂質組成についてみると、血漿コレ

Table 2 Growth, Food Consumption and Plasma Lipid Levels in Rats Fed Experimental Diets

Diet	Body Wt. gain (g/14d)	Food intake (g/14d)	Plasm lipid concentration (mg/dl)				
			Total CHOL	HDL-CHOL	(VLDL+LDL)-CHOL	TG	PL
Casein	74 ± 1 <sup>a</sup>	180 ± 5 <sup>b</sup>	96.3 ± 2.6 <sup>a</sup>	51.8 ± 1.5 <sup>a</sup>	44.6 ± 1.9 <sup>a</sup>	204 ± 22 <sup>b,c</sup>	207 ± 6 <sup>b</sup>
Lactalbumin	67 ± 1 <sup>b</sup>	168 ± 2 <sup>c</sup>	71.2 ± 1.4 <sup>c</sup>	33.7 ± 1.0 <sup>c</sup>	37.5 ± 1.7 <sup>b</sup>	306 ± 40 <sup>a</sup>	195 ± 7 <sup>b,c</sup>
Sardine protein	77 ± 2 <sup>a</sup>	179 ± 2 <sup>b</sup>	96.0 ± 3.2 <sup>a</sup>	49.3 ± 4.1 <sup>a,b</sup>	46.7 ± 3.1 <sup>a</sup>	255 ± 29 <sup>a,b</sup>	223 ± 4 <sup>a</sup>
Wheat gluten	74 ± 1 <sup>a</sup>	180 ± 2 <sup>b</sup>	63.3 ± 3.1 <sup>d</sup>	33.2 ± 2.0 <sup>c</sup>	30.1 ± 1.8 <sup>c</sup>	238 ± 29 <sup>a,b</sup>	182 ± 6 <sup>c</sup>
Soy protein	73 ± 2 <sup>a</sup>	198 ± 3 <sup>a</sup>	59.4 ± 1.3 <sup>d</sup>	32.7 ± 0.7 <sup>c</sup>	26.8 ± 0.8 <sup>c</sup>	131 ± 10 <sup>c</sup>	156 ± 2 <sup>d</sup>
Soy protein+0.34%Met	76 ± 1 <sup>a</sup>	184 ± 2 <sup>b</sup>	79.6 ± 3.8 <sup>b</sup>	43.2 ± 2.1 <sup>b</sup>	36.4 ± 1.8 <sup>b</sup>	179 ± 12 <sup>b,c</sup>	189 ± 5 <sup>c</sup>

Values are mean ± SEM for 7 rats; values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$ . CHOL, cholesterol; TG, triglyceride; PL, phospholipid.

**Table 3** Effects of Dietary Protein Source on Hepatic S-Adenosylmethionine Level and Microsomal Phospholipid Composition in Rats

Diet	Met content in diets (%)	Hepatic SAM level (nmol/g)	PL composition of liver microsome (%)		PC/PE ratio
			PC	PE	
Casein	0.64	110.3 ± 9.0 <sup>a</sup>	63.2 ± 0.9 <sup>a</sup>	18.7 ± 0.3 <sup>c</sup>	3.38 ± 0.09 <sup>a</sup>
Lactalbumin	0.41	55.5 ± 1.4 <sup>b</sup>	58.5 ± 0.4 <sup>c</sup>	26.9 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.18 ± 0.03 <sup>d</sup>
Sardine protein	0.70	110.2 ± 7.3 <sup>a</sup>	63.8 ± 0.5 <sup>a</sup>	21.1 ± 0.5 <sup>b</sup>	3.03 ± 0.08 <sup>b</sup>
Wheat gluten	0.38	45.8 ± 5.9 <sup>b</sup>	55.6 ± 0.7 <sup>d</sup>	27.7 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.01 ± 0.05 <sup>d</sup>
Soy protein	0.30	67.8 ± 9.0 <sup>b</sup>	56.0 ± 1.0 <sup>d</sup>	26.8 ± 0.6 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.07 <sup>d</sup>
Soy protein+0.34%Met	0.64	100.5 ± 14.1 <sup>a</sup>	61.2 ± 0.5 <sup>b</sup>	22.2 ± 0.5 <sup>b</sup>	2.77 ± 0.08 <sup>c</sup>

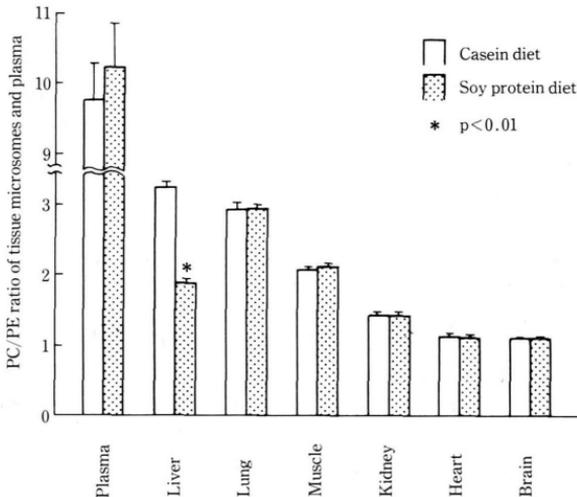
Values are mean ± SEM; values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

SAM, S-adenosylmethionine; PC, phosphatidylcholine; PE, phosphatidylethanolamine.

テロールを低下させるタンパク質食群ではホスファチジルコリン (PC) の割合が低下するのに対し、ホスファチジルエタノールアミン (PE) は逆に上昇した。従って、膜の性質を特徴づける指標としてよく用いられる PC/PE 比も低下した。その他のリン脂質については大きな変化は見られなかった。一方、肝臓以外の臓器のミクロソームおよび血漿の PC/PE 比について調べてみると、Fig. 1 に

示すように PC/PE 比は各臓器にかなり固有な値を取るものの、カゼイン食群と大豆タンパク質食群の間で有意な差が見られるのは肝臓のみであった。このことから、食餌タンパク質の種類に敏感に反応してリン脂質組成が変化するのは、調べた限りにおいては肝臓に限られていることが分かった。

Fig. 2 に食餌中のメチオニン含量、肝臓 SAM



**Fig. 1** Effect of Dietary Protein Source on PC/PE Ratio of Blood Plasma and Microsomes of Various Organs in Rats.

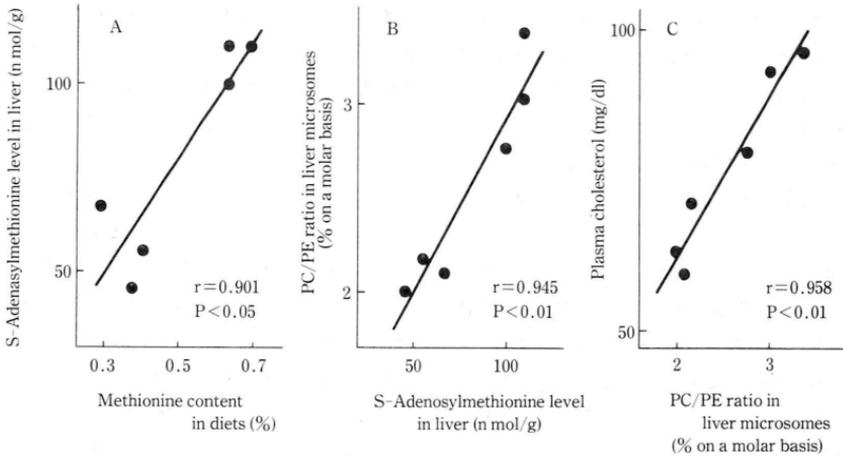


Fig. 2 Relationships between Dietary Methionine Content and Hepatic S-Adenosylmethionine Level (A), S-Adenosylmethionine Level and PC/PE Ratio in Liver Microsomes (B), and PC/PE Ratio and Plasma Cholesterol Level (C) in Rats Fed Various Protein Diets.

濃度、肝臓ミクロソームの PC/PE 比および血漿コレステロール濃度の各パラメーター間の相関関係を示す。この図から、「食餌タンパク質のメチオニン含量→肝臓SAM濃度→肝臓ミクロソームのPC/PE比→血漿コレステロール濃度」の連鎖が強く示唆される。肝臓SAM濃度が食餌中のメチオニン含量の影響を受けるのは、メチオニンの代謝から考えてよく理解できることである。PCはコリンからCDP-コリン経路により合成されるか、PEのメチル化(SAMのメチル基を用いて)により合成される<sup>6)</sup>。従って、PC/PE比が肝臓SAM濃度と相関を示すことは、PEのメチル化によりPC/PE比が変化したと考えると同様理解し易い。更に、血漿コレステロールは主に肝臓からリボプロテインの形で分泌されたものであり、リボプロテインの形成・分泌にミクロソームやゴルジが関与していること、PCが分泌されるリボプロテインのリン脂質の主成分であることから、肝臓ミクロソームのリン脂質組成が血漿コレステロール濃度と相関を示すことも不思議でない。

Fig. 3にPC合成とメチオニンとの関係を簡単に示す。肝臓リン脂質組成の変化にPEのメチル化によるPCの合成が関与していることは先に推論したが、これを支持する状況証拠がいくつか存在する。一つは、先のFig.1に示したように肝臓でのみリン脂質組成が変化するという事実である。CDP-コリン経路の酵素は肝臓以外の臓器でも比較的活性が強いのにに対し、PEメチル化酵素の活性は肝臓では他の臓器に比べて圧倒的に強いことが報告されており、肝臓に固有な現象は肝臓に固有な代謝で説明すべきと考えられる。二つ

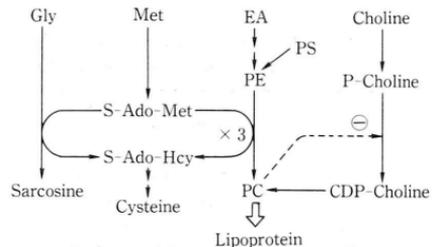


Fig. 3 Pathways for Phosphatidylcholine Biosynthesis.

目は、ここには示さないがグリシンの投与は肝臓の PC/PE 比を低下させ、また PE N-メチル化酵素活性を抑制する<sup>7)</sup>という事実である。グリシンは SAM のメチル基を受取りザルコシンを生成することにより SAM 濃度を低下させ、それによって PE のメチル化を抑制すると考えたと理解し易い。

**Table 4** にカゼイン食および大豆タンパク質食を投与した時の肝臓ミクロソームの2つの酵素活性とこれらの基質の肝臓内濃度を示す。PE N-メチル化酵素の値は大豆タンパク質食群の方がカゼイン食群に比べて高く、一方、CDP-コリン経路の鍵酵素である CTP: ホスホコリン・シチジリルトランスフェラーゼ活性は逆にカゼイン食群の方が高いという結果が得られた。この結果は一見、大豆タンパク質食群ではメチル化経路での PC 合成が亢進しているかのような印象を与えるが、肝臓内の基質濃度を測定した結果はこの見方と相容れない。先に示した通り、大豆タンパク質食群では肝臓 SAM 濃度が低く、PE メチル化酵素のもう一つの基質であるミクロソームの PE 含量は逆に高いこと、また、PE メチル化酵素活性はミクロソームの内因性 PE を用いて一定の SAM 濃度の下で測定していることなどから、PE メチル化酵素活性の値はまだメチル化する PE の量を反映している可能性が強い(すなわち、この値の逆数で読むべきことを意味する)と考えられる。

シチジリルトランスフェラーゼ活性についてもこの値をそのまま CDP-コリン経路での PC 合成を反映していると考えerわけにはいかない。何故なら、コリン欠乏食を投与するとシチジリルトランスフェラーゼ活性はむしろ上昇するからである<sup>8)</sup>。このように、たとえ鍵酵素の活性を測定しても、そのまま *in vivo*での活性と見なすわけにはいかないよい例の一つと見られる。実際に、メチオニン-メチル-C<sup>14</sup>の PC への取り込みを、カゼイン食と大豆タンパク質食群で比較する必要があり、これは今後の検討課題にしたい。

また、尿中カルシウム排泄に及ぼす食餌タンパク質の影響についても検討した。紙面の都合で簡単に述べる。

**Table 5** に4種類のタンパク質を25%含む食餌およびこれらに0.3%のカフェインを添加した食餌をラットに投与し3週間飼育した後の尿中カルシウム排泄量、大腿骨重量および大腿骨破断強度を示す。カフェインの摂取は尿中へのカルシウム排泄を促進し、骨粗しょう症を引き起こすことが指摘されている<sup>9)</sup>。カフェインを添加しない場合の尿中カルシウム排泄は植物性タンパク質摂取でやや高い傾向にあり、これはカフェインを添加して尿中カルシウム排泄を促進した条件下でもほぼ同様であった。この時の大腿骨重量には摂取タンパク質の種類の違いによる差は見られなかった。また、大腿骨の破断強度にも各タンパク質食間で

**Table 4** Effects of Dietary Protein Source on Enzyme Activities and Substrate Levels for Phosphatidylcholine Biosynthesis in Rats

Diet	Enzyme activities in liver microsomes		Substrate for PEMT		Substrate for CPCT
	PEMT (pmol/min/mg protein)	CPCT (pmol/min/mg protein)	SAM (nmol/g)	PE (nmol/mg protein)	Choline-P ( $\mu$ mol/g)
Casein	118 $\pm$ 4 <sup>b</sup>	618 $\pm$ 30 <sup>a</sup>	118 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	84 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	1.27 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
Soy Protein	179 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	438 $\pm$ 16 <sup>b</sup>	72 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	135 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>

Values are mean  $\pm$  SEM; values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

PEMT, PE N-methyltransferase; CPCT, CTP: cholinephosphate cytidylyltransferase.

**Table 5** Effects of Caffeine on Urinary Ca, Femur Weight and Femur Breaking Force in Rats Fed Diets Containing Various Dietary Proteins

Diet	Urinary Ca (mg/3d)	Femur Wt. (mg)	Breaking force of femur ( $\times 10^6$ dyn)
Casein	2.78 $\pm$ 0.23 <sup>d,e</sup>	442 $\pm$ 12 <sup>a</sup>	14.3 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>
Sardine protein	2.04 $\pm$ 0.28 <sup>e</sup>	456 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	14.8 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>
Wheat gluten	4.20 $\pm$ 0.92 <sup>d</sup>	447 $\pm$ 8 <sup>a</sup>	14.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
Soy protein	3.03 $\pm$ 0.47 <sup>d,e</sup>	437 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	14.1 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>
Casein+0.3% Caffeine	7.94 $\pm$ 0.77 <sup>b,c</sup>	375 $\pm$ 7 <sup>b</sup>	11.0 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>
Sardine protein+0.3% Caffeine	6.45 $\pm$ 0.50 <sup>c</sup>	381 $\pm$ 8 <sup>b</sup>	12.5 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>
Wheat gluten+0.3% Caffeine	12.13 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	400 $\pm$ 8 <sup>b</sup>	12.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>
Soy protein+0.3% Caffeine	9.30 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>	387 $\pm$ 5 <sup>b</sup>	12.7 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>

Values are mean $\pm$ SEM for 6 rats; values in a column not sharing the same superscript letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

大きな差は見られなかった。このように、尿中カルシウム排泄は植物性タンパク質の摂取でむしろ増加することが示され、血漿コレステロール濃度への影響とは異なっていた。このことの原因については現在検討中である。大腿骨の重量や強度には大きな差が見られなかったが、これは3週間というこの種の実験では比較的短い実験期間に依るものかも知れない。この点についても現在長期間の実験を検討中である。

以上のように、本研究では血漿コレステロール濃度および尿中カルシウム排泄に及ぼす食餌タンパク質の影響を検討した。血漿コレステロール濃度に及ぼす動物性および植物性タンパク質の影響の違いにはタンパク質に含まれるメチオニン含量が重要な意味を持つことをかなり明確に示したと思う。一方、尿中カルシウム排泄に対してはむしろ動物性タンパク質の方が抑制効果強いことを明確にすることが出来たが、そのメカニズムを明らかにするまでには至らなかった。動物性タンパク質の摂取は高血圧の発症を抑えることが報告されており、この場合も含硫アミノ酸の含量が関与するとの指摘もなされている<sup>10)</sup>。これらの点も踏まえて、タンパク質の栄養生理効果をそれに含まれる含硫アミノ酸の面から今後とも検討してい

たいと考えている。

終わりに、本研究を遂行するにあたり、多大なご援助を賜りました浦上食品・食文化振興財団に心から感謝致します。なお、本研究は佐伯茂助手と赤地利幸大学院生の協力によるものである。

#### 文 献

- 1) Y. Tanaka, O. Doi and Y. Akamatsu, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **87**, 1109 (1979).
- 2) P.S. Wright, J.N. Morand and C. Kent, *J. Biol. Chem.*, **260**, 7919 (1985).
- 3) C. Sautier, K. Dieng, C. Flament, C. Doucet, J. P. Suquet and D. Lemonnier, *Br. J. Nutr.*, **49**, 313 (1983).
- 4) 吉田 昭, 奥村佳史, 小田裕昭: 必須アミノ酸研究, **No.116**, 39 (1987).
- 5) M.H. Stipanuk, *Annu. Rev. Nutr.*, **6**, 179 (1986).
- 6) D.E. Vance, *Biochem. Cell Biol.*, **68**, 1151 (1990).
- 7) 杉山公男, 村松敬一郎: 必須アミノ酸研究, **No.97**, 36 (1983).
- 8) H. Jamil, Z. Yao and D.E. Vance, *J. Biol. Chem.*, **265**, 4332 (1990).
- 9) C.D. Arnaud and S.D. Sanchez, *Annu. Rev. Nutr.*, **10**, 397 (1990).
- 10) 家森幸男, 大島 章, 奈良安雄, 木原正博, 大高道也, 藤川 潤, 宋 泰成, 池 修, 五十部潤, 伊吹康良, 氏家久充, 采野真弓, 土井章一, 土井隆一郎, 内藤 泰, 西口芳伯, 西村治男, レーヌ・ブーンタサターン: 含硫アミノ酸, **3**, 123 (1980).

## Mechanisms by which Animal and Plant Proteins Elicit Differences in their Nutritional and Physiological Effects

Kimio Sugiyama (Faculty of Agriculture, Shizuoka University)

The effects of dietary proteins of animal and plant origins on the plasma cholesterol level and on the urinary excretion of calcium were investigated with rats in order to obtain insights into the mechanisms by which different dietary proteins elicit their differential effects.

It was confirmed that the plasma cholesterol level is influenced by the methionine content of dietary proteins irrespective of animal and plant origins. The plasma cholesterol level was significantly correlated to the level of hepatic S-adenosylmethionine (SAM) and the ratio of phosphatidylcholine (PC)/phosphatidylethanolamine (PE) of liver microsomes in rats fed different dietary proteins. Methionine supplementation of soy protein diet could modify above parameters toward those observed in rats fed casein or sardine protein. From the results obtained, it was strongly suggested that the methionine content of dietary proteins affects the phospholipid composition of liver microsomes through the alteration of hepatic SAM level, and thereby affect the plasma cholesterol level probably through the influence on the assembly and secretion of lipoproteins from the liver.

The urinary loss of calcium is considered to be induce osteoporosis. Caffeine is known to increase the urinary calcium excretion. The urinary excretion of calcium was also influenced by the kind of dietary proteins. In contrast to the effect on plasma cholesterol level, plant proteins such as wheat gluten and soy protein did not depress the urinary excretion of calcium, but rather enhanced the calcium excretion. The mechanism is, however, remained to be further elucidated.