

第 170 回 必須アミノ酸研究協議会

講演要旨集

平成 14 年 3 月 22 日 (金) 10:00 -

東京農業大学 図書館 4 階 視聴覚ホール

1 . 摂食制御に関わる新規遺伝子群の同定とその発現制御機構の解析

喜田 聡、兵藤知正、舩重正一（東京農業大学）

視床下部では、摂食行動を正あるいは負に調節する多数の神経ペプチドの発現制御を介して摂食が制御されている。本研究では、摂食行動の分子メカニズムを明らかにすることを目的として、視床下部において摂食状態に応答して発現制御を受ける新規遺伝子群のスクリーニングを行った。ディファレンシャルディスプレイ法により、絶食時に発現が誘導される数種の遺伝子を同定しており、その結果に関してまとめて発表する。

2 . アルギニンによる B16 メラノーマの肺転移抑制について

森口 覚、山下里恵、栗原佳子（山口県立大学生生活科学部栄養学科）

がん転移に対する栄養学的制御を研究する目的で、C57BL/6 マウス由来の B16 メラノーマによるマウス肺転移モデルを用いて、3%および6%アルギニン添加食の影響について検討した。さらに、アルギニン添加食による肺転移抑制機序を生体内で L-アルギニンを基質として生成される一酸化窒素(NO)とメラノーマ細胞の肺転移において重要な役割を果たしている接着分子である CD44 発現との関連から *in vitro* 培養系等を用いて考察した。

3. フタル酸エステルの代謝攪乱作用

柴田克己、福渡 努、佐々木隆造（滋賀県立大学人間文化学部生活文化学科）

【目的】食料品の包装材料など多くの塩化ビニル系合成樹脂の可塑剤として使用されているフタル酸エステルはトリプトファン - ナイアシン代謝を攪乱させる。本研究では、様々なフタル酸モノエステルをラットに摂食させ、トリプトファン - ナイアシン代謝に与える影響について検討した。

【方法】ナイアシン欠-20%カゼイン食に Monobutyl phthalate (MBP)、Monohexyl phthalate (MHP)、Mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP)、Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP)をそれぞれ 2.6 mmol/kg diet となるように添加した食餌を 6 週齢の雄 Wistar 系ラットに与え、28 日間飼育した。24 時間尿を採集し、尿に排泄されたトリプトファン - ナイアシン転換経路の代謝産物量および副産物量を測定した。

【結果】MEHP 添加食群においてトリプトファン - ナイアシン転換率の増加が認められ、キノリン酸以降の代謝産物の排泄量が増加した。また、MEHP 添加食群の転換率および各代謝産物の排泄量は DEHP 添加食群と一致した。

4. オロト酸摂取による脂肪肝と肝抗酸化酵素 mRNA レベル

森藤雅史、 青山頼孝(北海道大学大学院農学研究科)

これまでの研究において、1%オロト酸摂取は肝臓抗酸化酵素活性を変動させることを報告した。そこで、オロト酸摂取による肝抗酸化酵素 mRNA レベル、肝過酸化物質に対する影響を検討するため、食餌タンパク質源としてカゼイン、大豆タンパクを用いウイスター系オスラットを 14 日飼育した。その結果、オロト酸の摂取は、肝臓 Cu, Zn-SOD 活性、カタラーゼ活性を有意に低下させた。また、Cu, Zn-SOD、カタラーゼ mRNA レベルの低下が確認され、酵素活性と有意な相関を示すことを明らかにした。さらに、肝過酸化物質はオロト酸を添加により有意に増加し、大豆タンパク質の摂取はその増加を抑制することをはじめて明らかにした。

5 . 抗補体作用を示す物質の検討 - アミノ酸を中心として -

藤澤由美子、坂本元子（和洋女子大学）

補体系の代表的な反応の細胞溶解作用は自己細胞を障害することもあり問題になるが、もう一つの免疫粘着反応は貪食作用を促進する重要な役割がある。この両反応の調節をする作用がアミノ酸等にあるかどうかを検討した。検討に用いたアミノ酸は cysteine、methionine 等で、溶血活性及び免疫粘着反応測定系において、血清補体に各アミノ酸溶液を段階的に希釈して反応させ、その効果を観察した。その結果、細胞障害作用を阻止する反面、免疫粘着反応は阻止せず、補体系反応を調節する作用があることが確認された。

6 . ブナハリダケ粉末摂取と脳機能との関連について

奥山 聡、 横越英彦（静岡県立大学大学院生活健康科学研究科）

アルツハイマー型痴呆症患者の脳では、前脳基底核コリン作動性神経細胞に顕著な障害があり、これの栄養因子は神経成長因子(NGF)である。そこで、NGF、脳内神経伝達物質、及び脳機能との関連を調べた。ブナハリダケ粉末をラットに投与したときの脳内モノアミンの分析から、特にカテコールアミンの代謝変動が観察され、NGF 分析、及び記憶・学習行動を解析した。

7. 筋肉タンパク質分解系におけるオートファジーとプロテアソームの比較 門脇基二、三浦州平（新潟大学農学部）

筋肉でのバルクタンパク質分解を担うオートファジーとプロテアソームの寄与を比較検討した。筋肉ホモジネートと摘出筋インキュベーション（Soleus, EDL）の系において、それぞれの特異的阻害剤、クロロキン、ラクタシスチン（b-lactone）で比較したところ、絶食、除神経条件下でもクロロキンでのみ阻害され、ラクタシスチンの効果は見られなかった。従って、プロテアソーム系は少なくともバルク分解に関しては寄与は小さいと考えられた。

8. メチオニン・シスチン過剰による初期摂食抑制と迷走神経の関与 田中秀幸、田村倫子、水沼 忍、菅原邦生（宇都宮大学農学部）

消化器系の迷走神経を横隔膜下で切断(VAGX)したラットにメチオニン過剰食あるいはシスチン過剰食を給餌した場合、SHAM ラットに比して摂食抑制が軽減されたことから、両含硫アミノ酸の過剰認識の一部に迷走神経も関与している可能性が示唆された。メチオニン過剰により血中メチオニン濃度は極端に増加するが、シスチン過剰による血中シスチン濃度は2倍強の増加にとどまり、過剰初期のメチオニン処理能力は相対的に低いことが示唆された。

9 . マウスの鼻アレルギー発症にともなう IgA の組織化学的变化 - 摂取タンパク質量の影響 -

岸野泰雄、松下純子、上江洲香代子、小川直子、濱田雅文* (徳島文理大学家政学部、*徳島大学医学部)

第 167 回本協議会の報告と同様、4 週齢の ddY 系マウスを 20 匹、1% 卵白食で飼育、5% TDI 酢酸エチル液を鼻腔に滴下、感作した。今回、鼻部組織像を比較するとともに、組織化学的に IgA が毛包内、上皮細胞間質、粘膜下毛細血管内に局在し、粘液多糖類の分布と対比した。鼻洗浄液と血清 IgA 値は感作に関係なく、1% 卵白食群に有意に増加し、鼻部の IgA 組織像と低タンパク質食に伴う肝代謝障害 (タンパク質代謝と胆汁分泌低下) との関係から考察した。

10 . ラットにおける脂質代謝に及ぼす食餌タンパク質とコレステロールの相互作用 古場一哲、菅野道廣* ((県立長崎シーボルト大学、* 熊本県立大学)

大豆タンパク質の肝臓トリグリセリド (TG) 濃度低下作用に及ぼすコレステロールの影響をラットで検討した。コレステロール (CHOL) 摂取に関わらず大豆タンパク質は肝臓 TG 濃度を低下させた。肝臓ミトコンドリアのカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT) 活性およびペルオキシゾームの α -酸化活性も大豆タンパク質群でカゼイン群より高かった。褐色脂肪組織は大豆タンパク質食で重く、CHOL 摂取でさらに増した。CPT 活性も同様な応答を示した。脂肪酸 α -酸化の促進が大豆タンパク質の降 TG 作用に関与し、その作用は CHOL 食でも影響されないようであった。

1 1 . 尾部懸垂による筋肉内酸化ストレスと筋蛋白質のユビキチン化に対するシステインの阻害効果

二川 健、池本 円、平坂勝也、加納美保子、山本多恵子、田中礼子、
鎌田まり子、六反一仁、岸 恭一（徳島大学医学部栄養生理学）

本研究では、尾部懸垂により生じる筋肉内の酸化ストレスと蛋白質のユビキチン化に対する抗酸化アミノ酸システインの阻害効果を検討した。尾部懸垂ラットの腓腹筋内の TBARS 量と GSSG 量はコントロール群に比べ高値を示し、逆に GSH 量は懸垂 5 日目から減少した。これら酸化ストレスの増加と平行して筋蛋白質のユビキチン化が増大した。システイン投与は懸垂による酸化ストレスを軽減し懸垂で生じたユビキチン化蛋白質や MHC 分解産物の蓄積も抑制した。

1 2 . 癌細胞の増殖と浸潤に対する非必須アミノ酸の作用

矢ヶ崎一三、張国菅、三浦 豊（東京農工大学農学部応用生物科学科）

癌細胞の浸潤は癌転移過程の重要かつ特徴的な段階である。この浸潤段階を肝癌細胞と中皮細胞との共培養系で構築して食品成分の作用を検討したところ、緑茶抽出物が肝癌細胞の浸潤を抑制することが認められた。そこで、緑茶に多く含まれているテアニンの作用を検討したところ、このアミノ酸は増殖に影響を与えない濃度で肝癌細胞の浸潤を抑制した。この抑制効果は、NMDA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストで遮断され、non-NMDA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストでは遮断されなかった。

1 3 . ラット $\Delta 6$ 不飽和化酵素抗体の作製と評価

庄司陽子、實方綾子、佐藤匡央、 今泉勝己（九州大学大学院農学研究院栄養化学研究室）

$\Delta 6$ 不飽和化酵素は、哺乳動物が摂取した必須脂肪酸（リノール酸、 α -リノレン酸）を長鎖多価不飽和脂肪酸へ変換する過程で作用する律速酵素であり、その見掛けの酵素活性は食事脂肪やタンパク質・アミノ酸の影響を受ける。最近、本酵素の cDNA 配列が公表されたので、その mRNA を定量できるようになったが、その抗体の作製は未だ行われていないため、本酵素量の制御に関する情報はもっぱらその活性に基づいている。そこで本研究では、本酵素に対する抗体を兎で作製し、食品成分に対する評価を行った。

1 4 . 分岐鎖アミノ酸代謝の調節機構：分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素（BCKDH）活性の短期的調節と長期的調節の比較

下村吉治、尾林麻理子、徐明（名古屋工業大学共通講座、名古屋大学大学院健康増進医学）

分岐鎖アミノ酸代謝は、その代謝系の第 2 ステップに存在する BCKDH 複合体により調節される。BCKDH 複合体は特異的 kinase による酵素のリン酸化により失活される調節を受ける。本研究では、ラット肝臓における kinase による BCKDH 活性調節を、短期的と長期的な調節機構で対比して検討した。長期的機構では kinase の遺伝子発現の調節が含まれるのに対して、短期的機構では主に BCKDH 複合体に結合する kinase 量を調節することが明らかとなった。

15 . タンパク質栄養によるインスリンシグナル上流因子の変化

加藤久典、豊島由香、野口 忠* (東京大学農学生命科学研究科、*中部大学応用生物学部)

インスリン受容体 (IR) とその基質である IRS に注目してタンパク質栄養の影響を検討した。ラットを無タンパク質食で一週間飼育すると、肝臓における IR と IRS-1 の増加および筋肉における IRS-1 の減少が観察された。筋肉の IRS-1 ではセリン残基のリン酸化の減少と、インスリン刺激に対するチロシンリン酸化応答の増強も見られた。IRS-2 は無タンパク質食により肝臓、筋肉とも著増し、これは mRNA の増加を伴っていた

16 . 低タンパク質およびグルテン給与ラットにおける摂食後の骨格筋タンパク質分解の抑制

長澤孝志、田中陽子、伊藤芳明、西澤直行 (岩手大学農学部)

18 時間絶食した 5 週齢のラットに、20%カゼイン食、小麦グルテン食あるいはコーングルテン食を 1 時間だけ摂食させると、筋原線維タンパク質の分解抑制が認められたが、大豆タンパク質食やゼラチン食では認められなかった。ラットを 2%カゼイン食あるいは 20%小麦グルテン食で飼育した場合も、摂食による分解抑制が認められた。以上より、タンパク質の摂食は、栄養状態のラットでも骨格筋タンパク質分解抑制を示し、分解抑制には摂取タンパク質のアミノ酸スコアは反映しないことが示唆された。

17 . LPS 肝炎の発症に及ぼす摂取タンパク質の影響について

杉山公男、島田康彦、岩井香澄、森田達也(静岡大学農学部)

タンパク質の種類や量を変化させた食餌をラットに 10 日間与えた後、LPS+GalN を腹腔内注射して肝炎を発症させた。25%タンパク食(4種類)をラットに与えた場合、SPI は他のタンパク質に比べて肝炎の発症を有意に抑制した。カゼインと SPI について食餌タンパク質レベルの影響を検討したところ、低タンパク質食(10%)は共通して肝炎の発症を抑制したが、SPI は 25%レベルでも効果が明瞭であった。SPI の肝炎抑制効果は混在する「不純物」によるものではなかった。SPI は LPS 刺激による TNF- α 分泌を抑制せずに肝細胞のアポトーシスを抑制したので、SPI は LPS 肝炎発症の下流の部位で作用を発揮するものと考えられた。

18 . Sry 及び Sox タンパク質のアミノ酸配列の分子進化

長井光三(東京医科大学生化学教室)

哺乳類の性決定遺伝子 Sry の進化過程や起源等の分子進化の検討結果を報告する Sry は保存性アミノ酸配列を含む HMG-box を持つ蛋白をコードしているので、これに基づいて関連遺伝子 Sox 等との進化距離や分子進化系統樹等の解析を行った。即ち、Sry は核内非ヒストン蛋白質 HMG を遠い祖先とする HMG-box スーパーファミリーに属している。分子進化系統樹によると Sry は UBF、TCF 等に次いで分れた Sox を直接的な祖先遺伝子として約 2 億年前頃に分岐したと推定される。この間の進化速度(%進化距離/億年)は Sox 蛋白質や核内転写因子等の約十倍と極端な高速進化で Sry を含む Y 染色体の未来的な消滅説と矛盾しない。

19 . 新しいコレステロール代謝改善ペプチド

(吉田顧問紹介)

長岡 利 (岐阜大学農学部生物資源利用学科)

食品による高コレステロール(CHOL)血症の予防・改善も非常に重要な方策と考えられている。このような背景から、牛乳乳清ペプチド、大豆ペプチドの CHOL 代謝改善機能について研究した。Caco-2 培養細胞において、牛乳 α -ラクトグロブリン由来 AEK などの CHOL 吸収抑制ペプチドを同定した。さらに動物実験により、血清 CHOL 低減化ペプチド (AEK) を世界に先駆けて初めて発見した。

大豆ペプチド、特にリン脂質結合大豆ペプチド(CSPHP)の CHOL 代謝改善機能について研究した。高 CHOL 血症ラットで CSPHP は、血清・肝臓 CHOL をカゼインと比較して顕著に低下させた。高 CHOL 血症の成人男性が 1 日わずか 3 g の CSPHP を 3 ヶ月間摂取することで、血清 CHOL の有意な低下が観察された。CSPHP は既存の大豆関連調整物の中では、最強の活性を示した。

20 . 卵巣摘出雌ラットにおける脳タンパク質合成速度に及ぼす女性ホルモンと食餌タンパク質の影響

○早瀬和利、横越英彦* (愛知教育大家政, *静岡県立大食品栄養)

卵巣摘出雌ラットにおける脳タンパク質合成速度に及ぼす女性ホルモンと食餌タンパク質の影響について検討した。大脳、小脳、海馬、脳幹タンパク質合成速度は、卵巣摘出雌ラットにおいて低下し、エストロゲン投与で増加した。一方、卵巣摘出雌ラットにおいて、脳タンパク質合成速度は、食餌タンパク質の量・栄養価に依存していた。本実験条件で、脳の各部位における RNA 濃度は変化せず、タンパク質合成速度と RNA activity の間に正の相関が認められた。