研究ノート

米食飼育ラットの血漿コレステロール濃度 におよぼすリジン、スレオニンの影響

山田 幸二, 吉田 時子, 平野 隆 司
郡山女子大学家政学部栄養化学教室

Effects of Lysine and Threonine on Plasma Cholesterol Levels in Rats Fed on a Rice Diet

Koji YAMADA, Tokiko YOSHIDA
and Ryuji HIRANO

Department of Food and Nutrition, Faculty of the
Science of Living, Koriyama Women's
College, Koriyama 963

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc.
Nutr. Food Sci.*) 40, 137~140 (1987)

The effects of the addition of lysine and threonine to the rice diet containing cholesterol and cholic acid on cholesterol levels in plasma and liver were studied on rats. The body weight of rats fed on the rice or the lysine-added rice diet was decreased. The loss of the body weight due to the rice or the lysine-added rice diet was remarkably reduced by addition of threonine. The plasma cholesterol in rats fed on the rice or the lysine-added rice diet with the addition of threonine was significantly higher than that in rats fed on the diet without the addition of threonine. The cholesterol level in liver changed in a manner similar to the change of cholesterol in plasma. The addition of threonine to the rice or the lysine-added rice diet produced a significant decrease in the ratio of HDL-cholesterol to total-cholesterol in plasma.

(Received July 11, 1986)

血漿コレステロール (Chol) レベルは、動物性タンパク質摂取で上昇するのに反し植物性タンパク質摂取で低下し、摂取タンパク質の違いで異なる応答を示すことが明らかにされ関心が高まっている^{1)~4)}。

摂取タンパク質と血漿 Chol 濃度との関係については、大豆タンパク質とカゼインをタンパク質源とした研究例が多い^{5)~10)}。大豆タンパク質はカゼインに比べ血漿 Chol 濃度は低く、これらの結果は相応するアミノ酸混合物をタンパク質源とした飼料でも再現され⁵⁾⁸⁾、摂取タンパク質のアミノ酸組成が血漿 Chol 濃度の調節に関

与することを示唆している。

また、一般に動物性タンパク質は植物性タンパク質に比べ必須アミノ酸が多く、タンパク質の栄養価が高い点から、血漿 Chol 濃度と摂取タンパク質の栄養価との関連性が考えられる。

本研究は、タンパク質の栄養価を反映するような低タンパク質レベルでの摂取タンパク質のアミノ酸組成と血漿 Chol 濃度との関係を明らかにするため、Chol とコール酸を含み米をタンパク質源とする飼料 (米 88%) に、米タンパク質の制限アミノ酸であるリジンとスレオニンを添加し、血漿と肝臓の Chol 濃度への影響について検討した。

実験方法

1. 飼育飼料

実験 I, II は Table 1 に示した Chol 無添加米飼料と Chol 添加米飼料をそれぞれ対照群、それらに 0.3% リジン塩酸塩 (Lys) を添加した Lys 群, 0.3% Lys と 0.2% スレオニン (Thr) を添加した Lys+Thr 群を設けた。

実験 III は 6.3% 米類似アミノ酸混合物 (米 88% 相当), 5% ラード, 4% 塩混合, 2% セルロース粉末, 1% ビタミン混合, 0.5% Chol, 0.25% コール酸ナトリウム, 80.95% 小麦デンプンを含む対照群, それに 0.3% Lys を添加した Lys 群, 0.3% Lys と 0.2% Thr を添加した Lys+Thr 群を設けた。

実験 IV は Table 1 に示した Chol 無添加米飼料と Chol 添加米飼料をそれぞれ対照群, それらに 0.2% Thr を添加した Thr 群を設けた。

2. 動物実験

実験動物は 5 週齢で体重約 100 g の Donryu 系雄ラット (日本ラット) を 1 群 5 頭用いた。飼育は 12 時間交替の明暗サイクル下 (7 時点灯, 19 時に消灯) の温度 22~23°C, 湿度 50~60°C の恒温恒湿の部屋で飼料と水を自由に摂取させ、実験 I, III, IV は 3 週間、実験 II は 2 週間行なった。

3. 分析方法

飼育終了後、解剖当日の午前 6 時に摂食を中止させ、午後 1 時に頸動脈より採血し屠殺した。採血はヘパリン塗布小型試験管に行ない、3,000 rpm の遠心分離で血漿を分離し分析に供した。

血漿と肝臓の Chol 濃度 (総コレステロール) と肝臓のトリグリセリド (TG) は先の報告¹¹⁾に従って測定した。血漿の High Density Lipoprotein-Cholesterol (HDL-Chol) は和光純薬工業㈱の HDL-Cholesterol-test Wako (ヘパリン・マンガン沈殿法) で測定した。実験

結果の有意性の検討は、分散分析法（実験Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ）と *t*-検定（実験Ⅳ）によった。

実験結果および考察

実験ⅠとⅡの結果を Table 2 に示した。

Chol 無添加の場合，Lys 添加で飼料摂取量は低下したが，体重には差がなかった。Lys と Thr の組合せ添加で，飼料摂取量は増加し成長は促進され，先の報告¹¹⁾

Table 1. Composition of basal diet (%).

	Chol-free diet	Chol-added diet
Rice	88.00	88.00
Lard	5.00	5.00
Mineral mix. ^a	4.00	4.00
Vitamin mix. ^b	1.00	1.00
Cholesterol		0.50
Sodium cholate		0.25
Wheat starch	2.00	1.25

^a Minerals in 100 g of mixture; CaHPO₄ 2H₂O 14.56 g, KH₂PO₄ 25.72 g, NaH₂PO₄ 9.35 g, NaCl 4.66 g, Ca-lactate 35.09 g, Fe-citrate 3.18 g, MgSO₄ 7.17 g, ZnCO₃ 0.11 g, MnSO₄ 4-6 H₂O 0.12 g, CuSO₄ 5H₂O 0.03 g, KI 0.01 g.

^b Vitamins in 100 g of mixture; A-acetate 50,000 IU, D₃ 10,000 IU, E-acetate 500 mg, K₃ 520 mg, B₁-HCl 120 mg, B₂ 400 mg, B₆-HCl 80 mg, B₁₂ 0.05 mg, C 3,000 mg, D-biotin 2 mg, Folic acid 20 mg, Ca-pantothenate 500 mg, *p*-Amino benzoic acid 500 mg, Nicotinic acid 600 mg, Inositol 600 mg, Choline-chloride 20,000 mg.

と一致した結果であった。Chol 添加の場合，対照群と Lys 群で著しい体重減少を生じたが，Lys と Thr の組合せ添加で体重減少は有意に抑制された。したがって，Chol 添加米飼料に米タンパク質の制限アミノ酸である Lys と Thr の組合せ添加でタンパク質の栄養価が向上し，体重減少を抑制したものと考えられる。なお，Chol 添加米飼料による体重減少は Chol の吸収を促進するため添加したコール酸ナトリウムに起因した¹²⁾。

Chol 無添加の場合，血漿の Chol 濃度と HDL-Chol 濃度は Lys 添加では変動しないが，Lys と Thr の組合せ添加で有意に上昇した。肝臓の Chol 濃度と TG 濃度は Lys 添加で有意に増加し，先の報告¹¹⁾と同じ結果で，Lys 添加で肝臓脂質の蓄積を生じた。

Chol 添加の場合，Lys 添加で血漿 HDL-Chol 濃度は低下し，肝臓 TG 濃度は上昇した。Lys と Thr の組合せ添加で血漿と肝臓の Chol 濃度は有意に上昇し，血漿 HDL-Chol 濃度は低下した。肉眼的にも Lys+Thr 群の血漿は乳白色を呈し，高 Chol 血症が観察された。

米タンパク質の第一制限アミノ酸である Lys 添加による体重，血漿 Chol 濃度への影響は少ないが，第二制限アミノ酸である Thr との組合せ添加でタンパク質の栄養価が向上したため，体重減少の抑制や血漿 Chol 濃度の上昇が起こったものと推察され，血漿 Chol 濃度と摂取タンパク質の栄養価との関連性を示唆した。

Chol 添加米飼料への Lys と Thr の組合せ添加で生ずる血漿 Chol 濃度の上昇は，総 Chol 濃度に対する HDL-Chol 濃度の比が低下することから，Very Low Density Lipoprotein-Cholesterol (VLDL-Chol) + Low Density Lipoprotein-Cholesterol (LDL-Chol) の上昇に

Table 2. Effects of the addition of lysine and threonine on plasma and liver cholesterol levels in rats fed on a rice diet with or without cholesterol and cholic acid.

Diet	Changes body weight (g/3 weeks)	Food intake (g/3 weeks)	Plasma cholesterol			Liver lipids (mg/g)	
			Total (mg/dl)	HDL (mg/dl)	$\frac{\text{HDL}}{\text{Total}} \times 100$ (%)	Cholesterol	Triglyceride
Experiment I (Cholesterol-free diet)							
Control	22± 4 ^a	265± 8 ^b	70± 4 ^b	49±3 ^b	68±3 ^b	2.7±0.2 ^b	23.8±2.7 ^b
+0.3% Lys	15± 7 ^a	225±12 ^c	58± 4 ^b	42±3 ^b	73±5 ^b	4.1±0.1 ^a	41.4±5.0 ^a
+0.3% Lys +0.2% Thr	113± 8 ^b	420±16 ^a	89± 5 ^a	76±4 ^a	85±1 ^a	2.1±0.1 ^b	17.3±0.7 ^b
Experiment II (Cholesterol-added diet)							
Control	-29± 2 ^b	151± 3 ^b	115±10 ^b	43±2 ^a	38±4 ^a	51.7±1.7 ^b	27.5±1.2 ^b
+0.3% Lys	-31± 1 ^b	151± 8 ^b	99± 8 ^b	34±1 ^b	36±4 ^a	51.1±2.7 ^b	34.5±2.8 ^a
+0.3% Lys +0.2% Thr	4±10 ^a	219±16 ^a	400±23 ^a	23±1 ^c	6±1 ^b	69.8±6.1 ^a	24.3±1.5 ^b

Lys, lysine; Thr, threonine.

Values (means ± SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a column of the same experiment are significantly different (*p* < 0.05).

Table 3. Effects of the addition of lysine and threonine on plasma and liver cholesterol level in rats fed on amino acid mixture simulating the rice diet containing cholesterol and cholic acid (Experiment III).

	Control	+0.3% Lys	+0.3% Lys +0.2% Thr
Changes in body weight (g/2 weeks)	-33±2 ^b	-31±1 ^b	-6±2 ^a
Food intake (g/2 weeks)	101±4 ^b	105±4 ^b	150±6 ^a
Plasma cholesterol (mg/dl)	133±6 ^b	135±7 ^b	225±13 ^a
Liver cholesterol (mg/g)	29.8±1.8 ^b	26.9±1.4 ^b	38.3±3.8 ^a

Lys, lysine; Thr, threonine.

Values (mean±SE for 5 rats) with different alphabetical superscripts within a line are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Effect of the addition of threonine on plasma and liver cholesterol level in rats fed on a rice diet with or without cholesterol and cholic acid (Experiment IV.)

	Cholesterol-free diet		Cholesterol-added diet	
	Control	+0.2% Thr	Control	+0.2% Thr
Changes in body weight (g/3 weeks)	14± 5 ^a	19± 4	-20± 5	-3± 5 ^c
Food intake (g/3 weeks)	267±25	295±17	197±10	226±13
Plasma cholesterol				
Total (mg/dl)	80± 6	84±10	91± 8	221±26 ^b
HDL (mg/dl)	53± 3	58± 1	29± 3	41± 3 ^c
(HDL/Total)×100 (%)	67± 4	70± 3	32± 4	20± 3 ^c
Liver lipids (mg/g)				
Cholesterol	2.4±0.1	2.1±0.2	38.4±2.7	50.5±2.3 ^b
Triglyceride	36.3±1.9	21.3±1.9	46.6±6.7	38.2±4.4

Thr, threonine.

^a Values are the mean±SE of 5 rats per group.

Significantly different from the corresponding control diet at ^b $p<0.01$, ^c $p<0.05$ respectively (by the Student's *t*-test).

よると推察される。

Chol を含む米類似アミノ酸混合物をタンパク質源とした対照群, Lys 群とも体重減少が著しい。しかし, Lys と Thr の組合せ添加で飼料摂取量が有意に増加し, 体重減少は抑制された (Table 3)。

血漿と肝臓の Chol 濃度は Lys 添加で差はないが, Lys と Thr の組合せ添加で有意に上昇した。したがって, Lys または Lys と Thr の組合せ添加による体重や血漿と肝臓の Chol 濃度などの変化は, 実験Ⅱでの米をタンパク質源とした結果と同じ動向を示し, 大豆タンパク質とカゼインによる血漿 Chol 濃度差は大豆タンパク質とカゼインに相応するアミノ酸混合物でも再現されるとの結果^{5,6)}と併せ考えると, 血漿 Chol 濃度は摂取タンパク質のアミノ酸組成によって調節されることを示唆した。

実験Ⅱ, Ⅲの結果, すなわち Lys 単独添加では体重,

血漿と肝臓の Chol 濃度への影響は認められないが, Lys と Thr の組合せ添加で体重減少の軽減, 血漿と肝臓の Chol 濃度の有意な上昇を生ずることから, 体重や血漿と肝臓の Chol 濃度の変動は Thr に起因すると考えられるので, Thr 単独添加の影響について検討した。

その結果 (Table 4), Chol 無添加の場合, Thr 添加による体重, 血漿 Chol 濃度への影響は少なかった。Chol 添加の場合, Thr 添加で体重減少の抑制, 血漿の Chol 濃度と HDL-Chol 濃度ならびに肝臓 Chol 濃度が有意に上昇し, 実験Ⅱでの Lys と Thr の組合せ添加と同じ動向であった。

Chol 添加飼料による体重減少は, 米タンパク質の第一制限アミノ酸である Lys 添加で改善されないが (Table 2), 第二制限アミノ酸である Thr 単独添加で体重減少が抑制されること, Nagata ら¹³⁾のカゼインや大豆タンパク質に Chol とコール酸添加で血漿中遊離 Thr

濃度が特異的に低下するとの報告とあわせ考えると、Chol 添加飼料摂取で、原因は明らかでないが Thr の不足を示唆し、Chol 代謝と Thr との関連性は大きいと推察される。

また、Chol を含む米飼料や Lys 添加米飼料への Thr 添加で、体重減少の抑制や血漿と肝臓の Chol 濃度の上昇を生ずる点から、タンパク質の栄養価と血漿 Chol 濃度との関連性も示唆されたので、今後、多くのタンパク質を用い幅広い検討が必要と思われる。

要 約

コレステロールとコル酸を含む米をタンパク質源とする飼料に、リジンとスレオニンを添加し、ラットの血漿と肝臓のコレステロール濃度への影響について検討した。

米飼料、リジン添加米飼料摂取で体重が著しく減少したが、これらの飼料への Thr 添加で体重減少は抑制された。

米類似アミノ酸混合物をタンパク質源とした飼料、それにリジンを添加した飼料摂取で体重は減少したが、リジンとスレオニンの組合せ添加で体重減少は抑制され、米をタンパク質源とした結果と一致した。

血漿と肝臓のコレステロール濃度は米飼料、米類似アミノ酸混合物飼料へのリジン添加で変動しないが、リジンとスレオニンの組合せ添加で有意に上昇した。血漿と肝臓のコレステロール濃度の上昇は、スレオニン単独添加が原因であった。

米飼料、リジン添加米飼料に、スレオニン添加で生ずる血漿の総コレステロールに対する HDL-コレステロールの比は顕著に低下した。

以上の結果、米飼料に添加したスレオニンが、血漿と肝臓のコレステロール濃度の調節に関与していることが示唆された。

文 献

- 1) Carroll, K.K. and Hamilton, R.M.G. : *J. Food Sci.*, 40, 18 (1975)
- 2) 菅野道廣 : 化学と生物, 20, 155 (1981)
- 3) Carroll, K.K. : *Fed. Proc.*, 41, 2792 (1982)
- 4) 村松敬一郎 : 食の科学, 85(3), 8 (1985)
- 5) Nagata, Y., Tanaka, K. and Sugano, M. : *Br. J. Nutr.*, 45, 233 (1981)
- 6) Huff, M.W. and Carroll, K.K. : *J. Nutr.*, 110, 1676 (1980)
- 7) West, C.E., Deuring, K., Schutte, J.B. and Terpstra, A.H.M. : *J. Nutr.*, 112, 1287 (1982)
- 8) Terpstra, A.H.M., Woodward, C.J.H., West, C.E. and van Boven, H.G. : *Br. J. Nutr.*, 47, 213 (1982)
- 9) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M. : *J. Nutr.*, 112, 1614 (1982)
- 10) Gibney, M.J. : *Atherosclerosis*, 47, 263 (1983)
- 11) 山田幸二, 平野隆司, 松浦栄一 : 農化, 54, 187 (1980)
- 12) 山田幸二, 吉田時子, 平野隆司 : 第40回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, 222 (1961)
- 13) Nagata, Y., Imaizumi, K. and Sugano, M. : *Br. J. Nutr.*, 44, 113 (1980)

(昭和61年7月11日受理)