コレステロール代謝におよぼす S-methyl-l-cysteine sulfoxide の作用

——第1報 血液コレステロール, 肝コレステロール生成, 網内系およびコレステロールの酸化について——

中村 治雄 石川 昌子*

結 論

含流アミノ酸の Methiin, S-methyl-l-cysteine sulfoxide (以下 Met と略す) は 1955 Morris ら¹⁾ によってキャベツ中に存在することが報告され, その構造は

京都大学医学部衛生学教室藤原教室はキャベツより抽出し高純度の Met をえ, また武田薬品工業株式会社研究所で本物質の合成にも成功し藤原ら²⁾は, Met には脱コレステロール作用があることを明らかにした. また Howe ら³⁾はマウスのコール酸による高コレステロール血症は含流アミノ酸の cystine, cysteine, taurine により抑制されると報告している. 含流アミノ酸 Met のコレステロール低下作用の機序を明らかにしようとして l-cysteine と比べながら本実験を行った.

実験方法

薬物, Met は武田薬品工業株式会社製で (+) 体は天然品, (±) 体は合成品を示す.

1. 血液および肝総コレステロール値におよぼす作用

1) 正常飼料飼育動物に投与

生後4週の dd 系雄マウスをオリエンタル飼料で7日間飼育し, 同時に (±) Met または l-cysteine を 0.5% または 1% 添加した飼料で飼育した. 血液および肝をアセトン-エタノール (1:1) で抽出し, 総コレステロールは Zak 法⁴⁾ で測定した.

2) コレステロール加飼料飼育動物に投与

生後4週の dd 系雄マウスをコレステロール 1% とコール酸 0.1% 加えたオリエンタル飼料で7日間飼育し,

同時に (±) Met または l-cysteine を 1% または 0.5% 添加した飼料で飼育し, 血液および肝総コレステロールを測定した.

2. 肝コレステロールの生成におよぼす作用

1) in vivo 実験

生後4週の dd 系正常雄マウスに (±) Met を 800 mg/kg/日皮下注射し, 7日, 14日, 21日の投与の3群について実験終了日に体重 100 g あたり酢酸-1-¹⁴C 25 μCi, メバロン酸-2-¹⁴C 1 μCi, 皮下注射1時間後の肝コレステロールへのとりこみをしらべた. 前報⁵⁾のごとく肝はアセトン-エタノール (1:1) で脂質を抽出し KOH で鹼化し石油エーテルで抽出後, コレステロールをジギトニットとして分離し, gas flow counter で放射能を測定した.

2) in vitro 実験

A) (±) Met 濃度と生成との関係: ウィスター系正常雄ラット肝を Bucher⁶⁾ 液の 2.5 倍量でホモジナイズし, 700×g, 10分遠心し, その無細胞ホモジネート 1.5 ml に ATP 1.3 mg, DPN 7.6 mg, (±) Met 0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 100 mg をそれぞれ加え, 酢酸-1-¹⁴C の場合は 5 μCi, メバロン酸-2-¹⁴C の場合は 0.12 μCi を加え, 全量 2.0 ml となし, O₂ 下で 37°C 3時間培養後, carrier としてコレステロール 1 mg を加え, 鹼化後ステロールをジギトニットとして分離した.

B) 天然 (+) Met と合成 (±) Met との生成におよぼす差異: dd 系正常雄マウス肝を前述とまったく同様に行い, 無細胞ホモジネート 1.5 ml に天然 (+), 合成 (±) Met および l-cysteine をそれぞれ 10 mg を加え全量 2.0 ml となし4時間培養した. それぞれ5例ずつ行った.

3. 網内系機能におよぼす作用

生後6週の dd 系雄マウスに (±) Met または l-cysteine 500 mg/kg, 皮下注射1時間後に体重 100 g あた

* H. Nakamura, M. Ishikawa: 北海道大学歯学部口腔生理学

り 16 mg の炭素粒子を尾静脈に注射後, 1 分, 5 分, 10 分と 3 回血液を採血し, 血清炭素粒子濃度の減少を 800 m μ で測定した。

4. 肝ミトコンドリアのコレステロール-26-¹⁴C の酸化におよぼす作用

Kritchevsky の法⁷⁾によった。オリエンタル飼料で飼育した生後 6 週の dd 系雌マウス肝を 10% 蔗糖液でホモジナイズし, 600×g で遠心後, 上清を 8,500×g でミトコンドリアを分離し, 上清は煮沸後, 除蛋白し煮沸上清とし, またミトコンドリアはさらに 10% 蔗糖にかへ, 8,500×g で分離した。培養は 1 ml のミトコンドリア液, ATP 25 mg, NAD 5 mg, AMP 8 mg, グルタチオン 15 mg, クエン酸ソーダ 30 mg, 硝酸マグネシウム 6 H₂O 10 mg, ペニシリン G 200 u, ストレプトマイシン 1 mg, 0.25 M Tris buffer 5 ml, pH 8.5, 煮沸上清 5 ml, コレステロール-26-¹⁴C 0.1 μ Ci を加え全量 12 ml となし, 37°C 18 時間培養し, 産生した ¹⁴CO₂ は Ba¹⁴CO₃ として測定し, ミトコンドリア蛋白 mg N に対する酸化の%で表わした。なお飼料に薬物 1% を加え 14 日間飼育した動物および正常動物肝を用いた。

成績および考案

1. 血液および肝総コレステロール値におよぼす作用

1) 正常動物に投与した成績は表 1 のごとく (±) Met 1% 添加では肝総コレステロールは減少し, *l*-cysteine 1% 添加でも減少の傾向を示したが, 血液総コレステロールには変化を与えなかった。0.5% 添加では (±) Met,

表 1. 正常動物の血液および肝総コレステロール値におよぼす作用

薬物 1% 投与群	肝総コレステロール (mg/g)	血液総コレステロール (mg/dl)
A. 正 常	3.6±0.10	129±4.1
B. (±) Met 1%	3.21±0.07	127±5.0
C. <i>l</i> -cysteine 1%	3.32±0.06	119±4.1
P	AB: $p < 0.01$	
薬物 0.5% 投与群	肝総コレステロール (mg/g)	血液総コレステロール (mg/dl)
A. 正 常	3.56±0.08*	115±2.8
B. (±) Met 0.5%	3.46±0.1	109±4.0
C. <i>l</i> -cysteine 0.5%	3.51±0.08	121±3.6

* M±SE, 例数各 10

l-cysteine とも肝および血液総コレステロールには変化は与えなかった。

2) コレステロール加飼料飼育動物に投与した成績は表 2 のごとく, コレステロール負荷による高コレステロール血症は (±) Met 1%, 0.5% 添加で著しく抑制されたが, その度合は 0.5% よりも 1% 添加のほうが著しい。また *l*-cysteine 1%, 0.5% 添加でも抑制されるが, (±) Met としらべると (±) Met 添加のほうが抑制作用が著しい。またコレステロール負荷による肝総コレステロールの増加は (±) Met 1% 添加で抑制されたが, 0.5% では変化なかった。*l*-cysteine 1%, 0.5% 添加では抑制作用はなかった。

以上のことから (±) Met は正常動物の血液総コレステロールに変化を与えないが, 肝コレステロールを減少させることで, これは肝コレステロールの生合成の変化, 異化の増加, 他組織への移動などのいずれかの作用によるのであろう。コレステロール負荷の場合には, (±) Met は血液総コレステロールおよび肝総コレステロールの増加を抑制することである。コレステロール負荷の

表 2. コレステロール加飼料飼育動物の血液および肝総コレステロール値におよぼす作用

薬物 1% 投与群	肝コレステロール (mg/g)	血液コレステロール (mg/dl)
A. コレステロール 1%	17.1±1.2*	354±15
B. コレステロール 1% + (±) MET 1%	12.9±0.86	255±14
C. コレステロール 1% + <i>l</i> -cysteine 1%	17.7±1.5	282±16
P	AB: $p < 0.02$	AB: $p < 0.001$ AC: $p < 0.01$
薬物 0.5% 投与群	肝コレステロール (mg/g)	血液コレステロール (mg/dl)
A. コレステロール 1%	17.2±1.4	346±13
B. コレステロール 1% + (±) Met 0.5%	14.6±1.1	279±12
C. コレステロール 1% + <i>l</i> -cysteine 0.5%	15.6±0.9	296±19
P		AB: $p < 0.01$ AC: $p < 0.05$

* M±SE, 例数各 10

場合には、肝コレステロールの生合成は著しく抑制されるので⁸⁾、(±) Met のコレステロール低下作用の理由として、コレステロールの生合成については考える必要はない。したがって(±) Met コレステロール負荷のコレステロール低下作用はコレステロールの異化の増加、または腸よりコレステロールの吸収の阻害、または糞へのステロールの排泄の増加などが関与すると思われる。(±) Met によるコレステロール負荷時の血液コレステロール低下作用は、藤原ら²⁾の報告と同一である。L-cysteine も Howe ら³⁾の報告と同様にコレステロール負荷による高コレステロール血症を抑制はしたが、(±) Met の添加のほうが抑制が著しい。

2. 肝コレステロールの生合成におよぼす作用

1) *in vivo* 実験

(±) Met 800 mg/kg, 7 日, 14 日, 21 日投与した成績は表 3 のごとく、酢酸-1-¹⁴C からの肝コレステロー

表 3. (±) Met の肝コレステロールの生合成におよぼす作用

群	酢酸-1- ¹⁴ C より	メバロン酸-2- ¹⁴ C より
7 日 対 照	6.8±1.4*	11.1±1.1
7 日 投 与	7.3±1.8	10.6±1.3
14 日 対 照	5.3±1.2	10.6±1.2
14 日 投 与	8.2±1.9	12.2±0.9
21 日 対 照	5.6±0.9	9.2±0.9
21 日 投 与	10.1±1.8**	11.6±1.1

* M±SE, 例数各 8, cpm/mg 肝, ** $p < 0.05$

ルへのとりこみは 7 日, 14 日投与では変化ないが, 21 日投与では増加し, メバロン酸-2-¹⁴C からのとりこみはいずれの投与日数でも変化なかった。

2) *in vitro* 実験

A. (±) Met 濃度と生合成との関係の成績は図 1 のごとく(±) Met の添加の濃度が増加するにつれて、酢酸-1-¹⁴C またはメバロン酸-2-¹⁴C からのとりこみは低下し、40 mg 添加ではそれぞれ 15%, 35% のとりこみにすぎない。酢酸-1-¹⁴C からのとりこみの低下のほうがメバロン酸-2-¹⁴C からのより著しい。したがって(±) Met は *in vitro* では酢酸からメバロン酸間、およびメバロン酸からコレステロール間が抑制されていると思う。

B. 天然(+) Met と合成(±) Met との生合成におよぼす作用の成績は図 2 のごとく、酢酸-1-¹⁴C またはメバロン酸-2-¹⁴C からのとりこみは天然(+) Met, 合成

図 1. (±) Met 濃度と *in vitro* 肝コレステロール生合成 (対照を 100, 例数各 5)

図 2. 天然(+)と合成(±) Met との *in vitro* 肝コレステロール生合成 (対照を 100, 例数各 5)

(±) Met とも低下し両者間に差はなく、また L-cysteine 添加による生合成の低下は酢酸-1-¹⁴C の場合には Met ほど低下しないが、メバロン酸の場合は Met の場合よりもさらに低下した。以上の成績から肝コレステロール生合成は *in vivo* では増加するが、*in vitro* では低下することである。その作用点は *in vivo* では酢酸からメバロン酸間に、*in vitro* の場合には酢酸—メバロン酸間、メバロン酸—コレステロール間に作用し、天然(+)と合成(±) Met 間に差異はみられなかったことである。前述の正常動物の(±) Met 添加による肝コレステロールの減少は(表 1)、肝コレステロールの生合成が関与することが明らかとなり、しかもコレステロールの生合成が増加するにかかわらず、肝コレステロールが減少することは、肝コレステロール減少による feed back に

図 3. 血清炭素粒子の消失 (例数各 5)

より生合成は増加し、一定の肝コレステロール値にするためと考えられるが、肝コレステロールの減少は肝コレステロールの異化、すなわち胆汁酸への異化の増加を推定される。

3. 網内系機能におよぼす作用

血清炭素粒子濃度の成績は図 3 のごとく (±) Met の投与は血清炭素粒子濃度の減少を早めたが、*l*-cysteine は変化を与えなかった。これは (±) Met の投与は網内系機能を亢進させることを示すものである。網内系機能の亢進⁹⁻¹¹⁾は肝コレステロールの増加、および肝中性脂肪の増加を抑制するといわれているので、(±) Met の網内系亢進は前述の正常動物の肝コレステロールの減少、またコレステロール負荷による高コレステロール血症および肝総コレステロールの増加の抑制にも関与していると考えられる。

4. 肝ミトコンドリアのコレステロール-26-¹⁴C の酸化におよぼす作用

表 4 のごとく、(±) Met 1% 添加飼料で 14 日飼育した肝ミトコンドリアおよび正常動物肝ミトコンドリアに (±) Met 添加した場合のいずれでもコレステロール-26-¹⁴C の酸化を増加させたが、*l*-cysteine では添加飼料で飼育した場合のみ酸化を増加させ、正常動物肝ミトコンドリアへの添加では変化なかった。(±) Met がコレステロール-26-¹⁴C の酸化を亢進したことは間接的に異化作用、胆汁酸への異化の増加と考えられる。この (±) Met のコレステロール-26-¹⁴C の酸化の増加、胆汁酸への異化の増加は前述の (±) Met 投与による正常動物の肝総コレステロールの減少、またコレステロール負荷による高コレステロール血症および肝総コレステロールの増加の抑制の理由の一つであるコレステロールの胆汁酸への異化の増加、したがって糞への胆汁酸の排泄の増加となるのであろう。

表 4. 肝ミトコンドリアのコレステロール-26-¹⁴C の酸化におよぼす作用

a. 飼料に薬物 1% を加えて 14 日間飼育したマウスの肝ミトコンドリア

	% oxidation
A. 正 常	6.1 ± 0.9*
B. (±) Met 1%	11.1 ± 1.4
C. <i>l</i> -cysteine 1%	9.5 ± 1.2
P	AB: $p < 0.02$ AC: $p < 0.05$

b. 正常マウスの肝ミトコンドリア培養液に添加

	添 加 量	% oxidation
A. 対 照	0	5.6 ± 0.67
B. (±) Met	30 mg	9.9 ± 1.20
C. <i>l</i> -cysteine	30 mg	7.3 ± 0.88
P		AB: $p < 0.01$

* M ± SE, 例数各 6

以上のことから (±) Met は肝コレステロールの生合成、網内系機能およびコレステロールの酸化の増加によって、多分コレステロールの異化の増加をきたし、糞へのステロール、胆汁酸の排泄の増加となって血液総コレステロール、および肝総コレステロールの減少をきたすものと思われる。

結 論

(±) Met を用いて次の結果を得た。

1. 正常動物の血液総コレステロールには変化を与えなかったが、肝総コレステロールは減少した。コレステロール負荷による高コレステロール血症および肝総コレステロールの増加は抑制された。
2. 肝コレステロールの生合成については *in vivo* では生合成は増加し、その作用点は酢酸とメバロン酸間にあった。*in vitro* では濃度の増加とともに酢酸-1-¹⁴C からも、メバロン酸-2-¹⁴C からも低下し、天然品 (+) と合成品 (±) Met との間にはコレステロールの生合成の抑制について差はなかった。
3. 網内系機能を亢進させた。
4. コレステロール-26-¹⁴C の酸化を増した。

終わりに Methiin を提供していただいた武田薬品工

業株式会社に深謝する。

文 献 1) Morris, C. J. & Thompson, J. F.: Chemi. & Ind. 951, 1955. 2) 松本和, 糸川嘉則, 藤原元典: 栄養と食糧 **24**: 249, 1971. 3) Howe, E. E. & Bosshardt, D. K.: J. Nutrition **76**: 242, 1962. 4) Zak, B.: Am. J. Clin. Path. **27**: 583, 1957. 5) 中村治雄: 日本生理誌 **24**: 370, 1962. 6) Bucher, N. L. R. & McGarrah, K.: J. Biol.

Chem. **222**: 1, 1956. 7) Kritchevsky, D.: Metabolism of Lipid as Related to Atherosclerosis. Charles C. Thomas, Springfield, p. 106, 1965. 8) 中村治雄: 肝臓 **5**: 243, 1964. 9) Van den Bosch, J. et al: J. Exptl. Med. **114**: 1035, 1961. 10) Riggi, S. J. & Di Luzio, N. R.: J. Lipid Res. **3**: 339, 1962. 11) Hess, R.: Advances in Lipid Research, vol. 2, Academic Press, New York p. 295, 1964.

*

*

*

*

*

*

*