

閉経モデルラットのアミノ酸プロファイル

出口 佳奈絵*・田中 夏海*・大高 梨沙*・前田 朝美*
亀田 健治**・加藤 秀夫*

Refer to plasma amino acids profile in the ovariectomized rats

Kanae IDEGUCHI, Natsumi TANAKA, Risa OTAKA, Asami MAEDA
Kenji KAMEDA, Hideo KATO

Key words : 卵巣摘出 ovariectomy
アミノ酸プロファイル amino acid profile
タンパク質栄養 nutrition of protein

はじめに

アミノ酸代謝の流れは、生体の動態分析技術の進歩により、健康状態と疾患との関連性から予防医学への応用に活用されている^{1,2)}。生体の恒常的なアミノ酸動態は、疾患前の適切な食生活診断に応用することが可能で、食生活による健康づくりの新しい方向性を与えると考えられる。

実験動物の研究において、ヒトでは不可能な採血である門脈と肝静脈血中の遊離アミノ酸濃度から生体固有のアミノ酸プロファイルを確立し、タンパク質栄養の重要性を浮き彫りにしている³⁾。食餌由来の様々なタンパク質が生体で有益に活用されるためには、小腸と肝臓の栄養生理学的な役割を明らかにすることが不可欠である。タンパク質の量だけでなく質的な視点から疾患予防に的確な栄養管理が重要である。また、性差や加齢に伴う生理的变化とアミノ酸の代謝動態との因果関係も重要である。

食生活の乱れや加齢とともに肥満や糖尿病の発症率は増加している⁴⁾。発症率の性差において、中年期は男性に比べて女性で低く、

更年期を過ぎて高齢期になると男女間の違いが消失している。

生殖期から非生殖期へ移行する閉経前後の更年期は、生活習慣病のリスクが高くなる。卵巣機能の低下による内分泌ホルモンは、特にエストロゲンが成熟期の15%前後まで低下している⁵⁾。女性の健康維持に重要な卵巣機能は、恒常的に調節されているエネルギー代謝や糖質代謝、脂質代謝、骨代謝などを良好に維持する効果を有している^{6,7,8)}。これまで更年期の生理的特性を考慮した栄養学的研究は少なく、タンパク質栄養の指標になる血中アミノ酸プロファイルと健康に関する知見も少ない。更年期のモデル動物である卵巣摘出ラットにおいて、卵巣機能の消失によるエストロゲンの低下はエネルギー消費を低下させ、その結果体重増加と肥満傾向を示すことが報告されている⁹⁾。

本研究では、卵巣の有無による体内環境の変化と血中アミノ酸の代謝動態との関連性を調べた。量的・質的なタンパク質栄養のアセスメントであるアミノ酸プロファイルから、健康づくりと生活習慣病予防に関連するタンパク質栄養の生理的意義を検討した。

* 東北女子大学

** 愛媛大学

方法

実験動物は Wistar 系 9 週齢の雌ラットを用いた。飼育条件は、活動期である暗期を 9:00~21:00 とした 12 時間の明暗サイクルで、暗期の 10:00~17:00 に自由摂食させた。飼育環境に慣れさせるために約 1 週間予備飼育した。予備飼育後に、開腹のみの偽手術 (Sham 群) ラットと、卵巣の双方を摘出した卵巣摘出 (Ovariectomy, Ovax 群) ラットを作成した。実験食は、カゼインをタンパク質源に用いて、タンパク質エネルギー比率 20%, 脂肪 20%, 糖質 60% とした。この食餌条件下で約 2 週間飼育した。Sham 群 5 匹は空腹時の 9:00 に、残りの Sham 群 5 匹と Ovax 群 6 匹は摂食開始から約 3 時間後に、門脈と肝静脈から同時採血を行った。血漿中遊離アミノ酸の分析は、愛媛大学学術支援センター病態機能解析部門に依頼し、全自動アミノ酸分析器 (日本電子 JLC-500) を用いて分析・測定し、アミノ酸プロファイルを提示した。タンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸は、体内における合成機能の有無によって必須 (不可欠) アミノ酸と非必須 (可欠) アミノ酸に分類される (表 1)。

表 1 アミノ酸の種類

必須アミノ酸	略号	非必須アミノ酸	略号
トレオニン	Thr	グリシン	Gly
メチオニン	Met	アラニン	Ala
バリン	Val	プロリン	Pro
ロイシン	Leu	セリン	Ser
イソロイシン	Ile	システイン	Cys
リジン	Lys	アスパラギン酸	Asp
ヒスチジン	His	グルタミン酸	Glu
フェニルアラニン	Phe	アスパラギン	Asn
トリプトファン	Trp	グルタミン	Gln
		アルギニン	Arg
		チロシン	Tyr

結果

ラットの成長発育過程を図 1 に示した。Sham 群よりも卵巣を摘出した Ovax 群で体重の増加がみられた。卵巣摘出による体重増加の要因には、Sham 群 (11.4g/匹) よりも Ovax 群 (15.0g/匹) で平均摂食量が増加したことが考えられる。

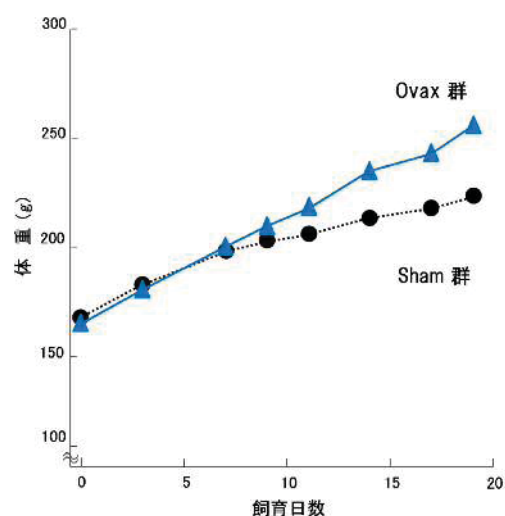


図 1 卵巣摘出による体重の経時的変化

本研究では、アミノ酸代謝における小腸の特性を調べるために、食餌タンパク質源がカゼインのアミノ酸組成と摂食後の門脈血中アミノ酸濃度を比較した (図 2,3)。空腹時の門脈血中濃度の高いアミノ酸から順にアミノ酸プロファイルを示した。

食餌中のアミノ酸組成と比較して、摂食後は典型的な固有の門脈血中必須アミノ酸プロファイルが認められた。各アミノ酸濃度は摂食によって増加し、アミノ酸プロファイルは空腹時と同様であったことから、腸管を経由したタンパク質の摂取によって生体固有のアミノ酸プロファイルが形成されたと考えられる。卵巣の有無でみると、偽手術の Sham 群と比較して卵巣摘除の Ovax 群でアミノ酸濃度はやや増加した。しかし、類似の必須アミ

閉経モデルラットの氨基酸プロファイル

ノ酸プロファイルは卵巣の有無に関係なく同じパターンを示した。

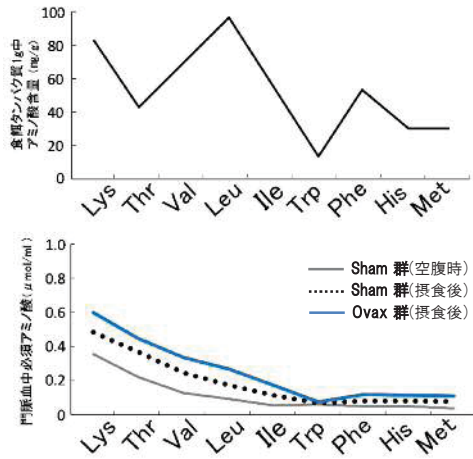


図2 食餌中氨基酸組成および摂食後の門脈血中必須氨基酸プロファイル

食餌中の非必須氨基酸組成は、グルタミン酸、プロリンの順に多いが、空腹時の門脈血中非必須氨基酸では、アラニン、グルタミンの多いプロファイルで相違が認められた。摂食すると、いずれの群も空腹時とは異なってプロリンとセリンが高まるような門脈血中非必須氨基酸プロファイルが認められた。

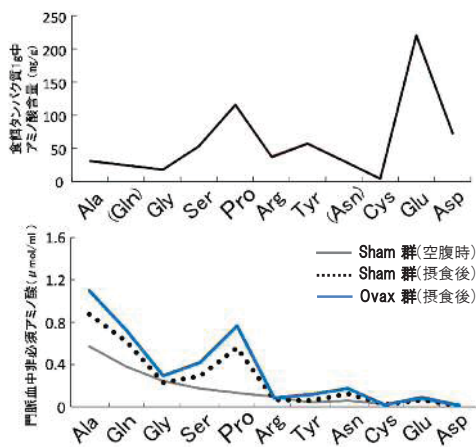


図3 食餌中氨基酸組成および摂食後の門脈血中非必須氨基酸プロファイル

腸管より吸収された氨基酸は門脈を経て肝臓に入るが、肝臓から放出された肝静脈血中の必須及び非必須氨基酸プロファイルは図4,5に示した。生体に必要な氨基酸パターンを示す門脈血中氨基酸プロファイルを維持したまま、卵巣の有無に関わらず肝静脈血中の氨基酸濃度はほぼ同じレベルに調節されていた。摂食後、小腸を経由した門脈よりも肝臓を経由した肝静脈血中の氨基酸濃度は低くなり、いずれも同様のプロファイルが認められた。

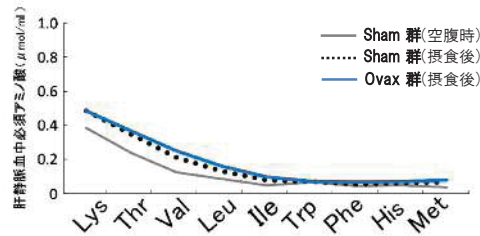


図4 肝静脈血中必須氨基酸プロファイル

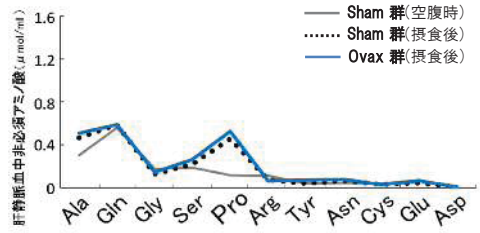


図5 肝静脈血中非必須氨基酸プロファイル

肝臓における氨基酸代謝は、門脈血液と肝静脈血液の濃度差から算出した(図6,7)。正の値は血中の氨基酸濃度が門脈よりも肝静脈で低いことを示しており、肝臓での氨基酸代謝利用が亢進されたと考えられる。

脂質代謝に関与するケト原性氨基酸(リシン・ロイシン)、筋肉で代謝されやすい分岐鎖氨基酸(ロイシン・バリン・イソロイシン)、糖質代謝に関与する糖原性氨基酸(主にアラニン・プロリン・セリン・グルタミン)は、Sham群と比較してOvax群において、肝臓での代謝と利用が高まる知見が得られた。

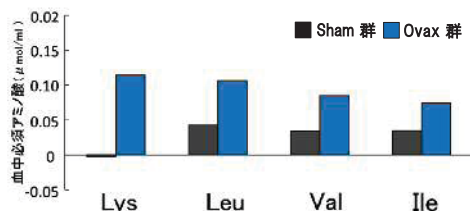


図6 肝臓での必須アミノ酸代謝
△(門脈-肝静脈)

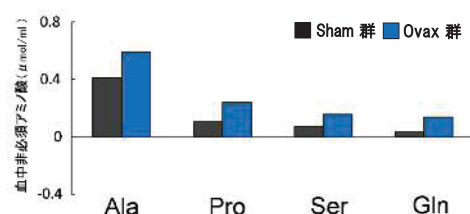


図7 肝臓での非必須アミノ酸代謝
△(門脈-肝静脈)

考察

体重の経時的変化では、いずれの群も緩やかな成長が認められた。偽手術の Sham 群よりも卵巣摘除の Ovax 群の体重が増強した。Ovax 群の体重増加の要因として、Sham 群よりも平均摂取量が多かったことから、エネルギー摂取量が影響したと考えられる。Gao⁶⁾らの報告では、マウスの視床下部にエストロゲンを注入すると摂食量と体重が減少し、エストロゲンはレプチンと同様に食欲抑制に関与する遺伝子発現を増加させることで食欲を低下させると考えられている。Ovax 群の摂食量増加には、食欲抑制作用のあるエストロゲンの低下が関与していると考えられる。さらに、卵巣を摘出したラットは自発的運動量の減少、すなわちエネルギー消費量の低下により内臓脂肪型肥満になることが報告されている^{10,11)}。卵巣摘除のラットに Sham 群と同等の摂食量に制限した場合の体重増加は、エネルギー摂取量よりもむしろエネルギー消費量の低下による可能性が考えられる。

卵巣の有無による血漿中アミノ酸代謝動態

に関する報告は少ない。本研究は、肝臓を中心としたアミノ酸代謝を調べるために、肝臓に入る前の門脈血液と肝臓から放出された肝静脈血液の同時採血を行い、閉経モデルラットにおける血漿中の必須及び非必須アミノ酸プロファイルの特性を追求した。

先行研究^{3,12)}では、アミノ酸プロファイルの形成には小腸の質的な調節と肝臓の量的な調節の双方によって、生体固有の血漿中アミノ酸動態が決定されると示唆している。本研究でも卵巣の有無に関わらず、摂食後に小腸を経由した門脈において必須及び非必須アミノ酸プロファイルを維持しながら、肝静脈で同様のプロファイルが認められた。小腸はタンパク質の消化吸収だけでなく、生体に適応したアミノ酸プロファイルの形成に関与し、肝臓では量的な調節が行われていることから、小腸と肝臓の栄養生理学的役割が重要である。タンパク質栄養を反映する摂食後のアミノ酸プロファイルを評価することは、加齢に伴う栄養と健康状態の把握に有効であることが示唆された。

卵巣摘除の Ovax 群において、Sham 群と比較して肝臓でのリシンとロイシンの代謝量が亢進していた。これは、卵巣摘除による代謝変化が起因となり、肝臓ではケトン体生成に利用されやすいケトン性アミノ酸の需要が高まったと推察された。Chevalier¹³⁾らは、肝臓のインスリン抵抗性を伴う内臓脂肪型肥満において、糖新生の抑制が弱くなり、糖原性アミノ酸の需要、つまり肝臓への取り込みが亢進する。その結果、血漿中の糖原性アミノ酸は低下すると報告している。今回、卵巣の有無に関わらず血中糖原性アミノ酸の低値は認められなかった。Sham 群と比較して卵巣摘除の Ovax 群では肝臓でのアラニンやプロリンなどの代謝量が増加傾向を示した。体内環境の変化に応じた合成と分解の双方で調節されている糖原性アミノ酸は、エネルギー源として肝臓での利用が促進していると考えら

れる。一方、インスリン抵抗性によって筋肉組織のタンパク質分解は増加して合成は抑制され、むしろ血漿中の分岐鎖アミノ酸は上昇傾向を示すことが報告されている^{14,15,16}。私共の動物実験では、正常ラットと比較して1型糖尿病モデルラットの血中分岐鎖アミノ酸は増加し、肝臓での代謝量も増加することを観察している。糖尿病モデルラットにインスリン投与すると、正常ラットと類似のアミノ酸プロファイルが認められた。本研究において、卵巣摘除したラットの分岐鎖アミノ酸の代謝動態は、糖尿病モデルラットで観察された肝臓でのアミノ酸代謝特性と一致していた。つまり、加齢に伴う代謝変化であってもアミノ酸代謝動態に影響することが浮き彫りになった。以上のことから、卵巣の有無に関わらず摂食後の必須及び非必須アミノ酸プロファイルは保持され、小腸と肝臓の相互作用によって体内環境に応じたアミノ酸バランスに調整していることが明らかになった。

近年、加齢に伴う骨格筋などの体タンパク質減少を予防する観点から、良質な食事タンパク質の摂取が重要視されている^{17,18}。栄養状態に応じた過剰や制限などによる摂取量の調整だけでなく、食事タンパク質の質を考慮した栄養管理・栄養療法も重要である¹⁹。病院の献立で摂取するタンパク質のアミノ酸組成（タンパク質の質）の評価の1つとして、アミノ酸スコアを用いた報告²⁰がある。いずれの病院食も、推定平均必要量及びアミノ酸評点パターンを上回っており、適切なアミノ酸給与がなされていたと考えられる。食事中タンパク質の評価と併せて、生体内におけるタンパク質利用の面から栄養管理を検討することが重要である。加齢に伴う健康づくりと疾患予防には、生体固有のアミノ酸プロファイルがタンパク質利用のものさしとして活用が期待できる。

今後は、食事療法が重要である疾患モデルラットにおける生体固有のアミノ酸プロファ

イルを解明し、食事由来のタンパク質の量的な面に加え、質的な面も考慮した栄養管理の実用化にも応用できると考えられる。

謝辞

本研究は、令和2年度公益社団法人青森学術文化振興財団の助成を受けて実施した。

利益相反

利益相反に相当する事項はない。

参考文献

- 1) 中山 聡ら：血漿中遊離アミノ酸濃度の基準範囲と試験法の標準化. *ぶんせき*, 2: 58-66 (2019)
- 2) 今泉 明：血液中のアミノ酸プロファイルで健康状態を評価する「アミノインデックス技術」の開発と実用化. *化学と生物*, 53(3): 192-197 (2015)
- 3) 出口 佳奈絵ら：必須アミノ酸プロファイルにおける小腸と肝臓の生理的役割. *東北女子大学紀要*, 58: 17-20 (2020)
- 4) 厚生労働省：令和元年国民健康・栄養調査報告 (2020)
- 5) Speroff L, et al: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins(USA): 653 (1999)
- 6) Gao Q, et al: Cross-talk between hypothalamus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 294: E817-E826 (2008)
- 7) Barros RP, et al: Estrogen receptors: new players in diabetes mellitus. *Trends Mol Med*, 12: 425-431 (2006)
- 8) 伴場 信之：加齢による変化—内分泌代謝—. *Dokkyo Journal of Medical Sciences*, 35(3): 209-218 (2008)
- 9) 加藤 遥ら：更年期肥満の予防における食餌タンパク質の生理的役割. (未発表)

- 10) 細原 浩平ら：肥満ラットにおける補正下着の着用による減量効果. 県立広島大学人間文化学部紀要, 4 : 31-37 (2009)
- 11) 鄭 継華ら：果糖の適切な摂取量とその栄養学的効果について. 県立広島大学人間文化学部修士論文 (2007)
- 12) 田中 夏海ら：摂取タンパク質の違いによる非必須アミノ酸のプロファイル. 東北女子大学紀要, 58 : 141-144 (2020)
- 13) Chevalier S: The greater contribution of gluconeogenesis to glucose production in obesity is related to increased whole-body protein catabolism. Diabetes, 55 : 675 - 681 (2006)
- 14) Fiehn O , et al : Plasma metabolomics profiles reflective of glucose homeostasis in non-diabetic and type 2 diabetic obese African-American women. PLoS One, 5 , e15234 (2010)
- 15) Wurtz P , et al : Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults. Diabetes Care, 36 : 648-655 (2013)
- 16) Batch BC, et al : Branched chain amino acids are novel biomarkers for discrimination of metabolic wellness. Metabolism, 62 : 961-969 (2013)
- 17) 厚生労働省：日本人の食事摂取基準(2020年版)
- 18) 葛谷 雅文：サルコペニアと栄養管理. 外科と代謝・栄養, 50(1) : 1-6 (2016)
- 19) 濱田 康弘ら：腎不全の栄養管理における静脈栄養の意義と実際. 日本静脈経腸栄養学会雑誌, 33(3) : 848-852 (2018)
- 20) 秦 奈々子ら：病院食の献立のアミノ酸構成の評価. 中村学園大学・中村学園大学短期大学部研究紀要, 50 : 299-304 (2018)