

原 著

## マウスのタンパク質栄養状態と体毛タンパク質合成の 関係について

中村博範\*<sup>1</sup> 金澤健一郎\*<sup>2</sup> 松枝秀二\*<sup>1</sup>

### 要 約

タンパク質・エネルギー栄養失調症では、毛髪が細くなり、脆弱化することが知られている。しかし、毛髪の構成成分の変化については、ほとんど調べられていない。毛髪の主要な構成成分はタンパク質で、それは主にケラチンタンパク質 (Keratin proteins : KP) とケラチン付随タンパク質 (Keratin-associated proteins : KAP) に大別される。この2つのタイプのタンパク質は、分子量 (KP>KAP) とシステイン含有率 (KP<KAP) に違いがある。そこで、本研究では、毛髪を構成するタンパク質の違いに着目して、タンパク質欠乏食を与えたマウスの体毛タンパク質組成の変化について調べ、タンパク質栄養状態と体毛タンパク質合成の関係について検討を行った。

背部の体毛を除去した8週齢の雄C3Hマウスに25%カゼイン食 (標準食群) あるいは1%カゼイン食 (タンパク質欠乏食群) を4週間与えた。タンパク質欠乏食群では、体重が有意に減少し、また、血清総タンパク質は標準食群よりも有意に低値となった。体毛中システイン含有率は、標準食群と比較してタンパク質欠乏食群では有意に低値となった。また、体毛タンパク質の電気泳動による分析から、タンパク質欠乏食群においてKAPの一部が減少していることが分かった。

これらの結果は、タンパク質栄養状態が、システイン含有率の高いKAPの合成に影響することを示唆した。

### 1. 緒言

タンパク質・エネルギー栄養失調症では、毛髪が細くなり、脆弱化することが知られている<sup>1,2)</sup>。しかし、毛髪の構成成分の変化については、ほとんど調べられていない。

毛髪の主要な構成成分はタンパク質で、それは主に2つのタイプに大別される。1つは、中間径フィラメントを構成するケラチンタンパク質 (Keratin Proteins : KP) で、もう1つは、フィラメント周囲のマトリックスを構成するケラチン付随タンパク質 (Keratin-Associated Proteins : KAP) である<sup>3,4)</sup>。前者のKPは、分子量40~60kDaの繊維状タンパク質で、I型 (酸性型) とII型 (中性/塩基性型) がある。KPは、システイン含有率 (タンパク質の構成アミノ酸に占めるシステインの割合) が約6%のタンパク質で、この割合は、他の組織タ

ンパク質と比較すると高いが、KAPと比較すると低い。そのため、KPは毛髪のタンパク質において低硫黄タンパク質と呼ばれている。次に、後者のKAPは、分子量10~30kDaの球状タンパク質で、システイン含有率が非常に高いという特徴がある。KAPは、アミノ酸組成によって、超高硫黄タンパク質 (Ultra High Sulfur Proteins : UHSP, システイン含有率30%以上)、高硫黄タンパク質 (High Sulfur Proteins : HSP, システイン含有率約20%) に分類され、マウス体毛や羊毛では、さらに高グリシンチロシンタンパク質 (High Glycine Tyrosine Proteins : HGTP) が存在する<sup>5,6)</sup>。毛髪はこれらのタンパク質が分子間および分子内でジスルフィド結合 (S-S結合) を形成することで強い構造安定性を維持し強固なものとなっている。

毛髪を構成するこれらのタンパク質は、毛包下部

\*1 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科 \*2 独立行政法人 国立病院機構 名古屋医療センター  
(連絡先) 中村博範 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学  
E-Mail : hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp

の毛乳頭に接する毛細血管から栄養素（グルコースやアミノ酸）の供給を受けて合成される。毛包におけるタンパク質の合成は、他の組織タンパク質の合成よりも速いとの報告がある<sup>7)</sup>。また、タンパク質が不足した場合、血清アルブミン合成の減少よりも早い段階で毛髪のタンパク質の合成障害が生じるとの報告がある<sup>8,9)</sup>。そのため、毛髪のタンパク質合成は、栄養状態の影響をより受けやすいと考えられる。毛髪を構成するタンパク質の中で、特にKAPは多くのシステインが合成において必要となる。したがって、その合成はKPよりもタンパク質代謝あるいは含硫アミノ酸代謝の影響を受けやすいと推察される。毛髪を構成するKPとKAPの構成割合が栄養状態によって変化するかについては、毛髪を構成するタンパク質のKPとKAPの特徴の違いに着目して評価することができる。すなわち、KPとKAPはシステイン含有率が異なるため、その構成割合が変化すれば毛髪全体のシステイン含有率に変化が生じることになる。また、KPとKAPは分子量が異なることから、毛髪のタンパク質を電気泳動で分離して評価することができる。

そこで、本研究では、タンパク質栄養状態と毛髪のタンパク質合成の関係を明らかにするため、タンパク質欠乏マウスの体毛のタンパク質組成の変化について、体毛中システイン含有率および体毛抽出タンパク質の電気泳動による評価から検討を行った。

## 2. 方法

### 2.1 試薬

試薬は、いずれも分析用またはその相当純度のものを購入し使用した。また、水はミリポア超純水製造装置Simply Lab製の純水を使用した。

### 2.2 実験動物及び飼料

実験動物として、7週齢のC3Hマウス（雄、C3H/HeJYokSlc）を日本エスエルシー株式会社から購入した。飼料は、粉末原料をオリエンタル酵母工業株式会社から購入し、オリエンタル配合を基準として標準食（25%カゼイン）を調製した。また、タンパク質欠乏食は、カゼインの配合割合を1%とし、 $\alpha$ -コーンスターチで熱量を調整した（表1）。

### 2.3 実験飼育

7週齢のC3Hマウスを購入し、標準食（25%カゼイン食）で1週間予備飼育を行った後、イソフルラン麻酔下で背部体毛をバリカンと除毛クリーム（主成分：チオグリコール酸）で処理して実験に使用した。

実験飼育は、標準食群（Standard diet group：ST群、13匹）、タンパク質欠乏食（Protein-

表1 飼料の組成

原料 (g/kg)	標準食 <sup>1</sup>	タンパク質欠乏食
	(25%カゼイン食) (1%カゼイン食)	
カゼイン	250	10
コーンスターチ	380	380
$\alpha$ -コーンスターチ	100	340
スクロース	50	50
大豆油	60	60
セルロースパウダー	80	80
ミネラル混合 <sup>2</sup>	60	60
ビタミン混合 <sup>3</sup>	20	20

<sup>1</sup>オリエンタル配合に準じて調製

<sup>2</sup>オリエンタル配合ミネラル混合を使用

<sup>3</sup>オリエンタル配合ビタミン混合を使用

deficient diet group：PD群、14匹）の2群に分け4週間行った。飼育は、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、明暗サイクル12時間（8：00-20：00）で行い、1ケージに1匹とし、飼料と水は自由摂食とした。体重および摂食量は毎日測定し、また、背部除毛部の写真を除毛直後を含めて1週間毎に撮影した。

実験飼育終了後、一晩絶食させ、イソフルラン麻酔下で開腹して後大静脈から採血を行った。血液は、一晩冷蔵庫（ $4^\circ\text{C}$ ）に放置した後、遠心分離して血清を分離した。血清は分析まで冷凍保存（ $-50^\circ\text{C}$ ）した。体毛は、除毛部に新しく形成された体毛のみをバリカンで刈りとり、分析まで密閉式の袋に入れて室温暗所にて保存した。

本動物実験は、動物実験ガイドラインに従い、川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認を得て行った（承認番号11-004）。

### 2.4 血清総タンパク質濃度の測定

血清総タンパク質濃度はLowry法<sup>10)</sup>で定量した。タンパク質濃度はアルブミン標準液（ウシ血清由来アルブミン）を用いて作成した検量線から求めた。

### 2.5 体毛中システイン含有率の測定

体毛中システイン含有率はMooreらのシステイン測定法<sup>11,12)</sup>を一部改変して行った。

栓付試験管に体毛を約2mg量り入れ、過ギ酸（ギ酸：過酸化水素=9：1、混合したあと1時間室温放置してから使用）2.0mlを加えて、まず、過ギ酸酸化（ $0^\circ\text{C}$ 、24時間）を行った。その後、ロータリーエバポレーターで減圧乾固して過ギ酸を除去し、残渣に6M塩酸を2.0ml加えてホットドライバスで加水分解（ $110^\circ\text{C}$ 、24時間）を行った。加水分解後、塩酸を減圧下で除去し、残渣に0.1M塩酸2.0mlを加え溶解し、体毛の加水分解液とした。この加水分解液1.0mlをあらかじめ0.1M塩酸で平衡化した強酸性陽

イオン交換樹脂カラム (Dowex50W, 直径7mm×高さ70mm) にかけて, 0.1M塩酸5.0ml (1.0ml×5回) でシステイン酸のみを溶出させた. その溶出液を減圧乾固して, 0.1M塩酸1.0mlで再溶解しシステイン酸の測定用の試料とした.

体毛の加水分解液中の総アミノ酸とカラムで分離したシステイン酸は, それぞれニンヒドリン法<sup>13)</sup> で定量した. 総アミノ酸量はロイシン当量としてロイシン標準液から求めた. また, システイン酸量はシステイン酸標準液から求め, その値をシステイン量とした. システイン含有率は, 総アミノ酸量に占めるシステイン量の割合として算出した.

## 2.6 体毛抽出タンパク質の電気泳動

体毛からタンパク質を抽出し, タンパク質のシステイン残基 (SH基) を蛍光ラベルのモノプロモビマン (MBB) で標識してから<sup>14)</sup>, 電気泳動によって分離し定量的に評価を行った.

ネジロマイクロチューブ (2.0ml) に体毛を約2.5mgと破碎棒を入れ, ビーズ破碎機を使用して体毛を細かく破碎した. 破碎棒を取り除き, 抽出液 (組成: 8M尿素, 2%SDS, 62.5mM Tris-HCl, pH6.8) 400  $\mu$ lを加え, S-S結合の還元剤として200mMトリブチルホスフィン<sup>15)</sup>を10  $\mu$ l加えて, 室温で5時間おいて体毛タンパク質を抽出した. その後, 遠心分離し, 上清40  $\mu$ lを別のマイクロチューブにとり, そこに200mMMBB (アセトニトリルで溶解) を1  $\mu$ l加えて, 室温遮光下で20分間放置してタンパク質のシステイン残基 (SH基) を蛍光標識した. その反応液にサンプルバッファー (組成: 62.5mMTris-HCl, pH6.8, 2%SDS, 40%グリセロール, 0.01%BPB) 60  $\mu$ lを加えて遠心分離して上清をサンプルとして電気泳動に用いた.

電気泳動 (SDS-PAGE) は, Laemmli法に従い<sup>15)</sup>, アクリルアミド濃度を分離ゲル15%, 濃縮ゲル4%として, 上記のサンプル15  $\mu$ lと分子量マーカー10  $\mu$ lをそれぞれウェルにアプライして, 電気泳動 (トリス/グリシン/SDSバッファー, 200V定電圧) を行った. 電気泳動後, ゲルを固定液 (メタノール: 純水: 酢酸 = 5: 4: 1) 中で15分間固定し, その後, 純水を入れ換えながら20分間洗浄した. 洗浄したゲルをUVトランスイルミネーター上に置き, 遮光フード (Bio-Pyramod) をかぶせて, 365nmでバンドを検出し, デジタルカメラで撮影した. 撮影後, ゲルをクマシーブリリアントブルー (CBB) で1時間染色し, 純水で洗浄したあと, その容器にキムワイブを入れて一晩放置して脱色した. CBBで染色したゲルをスキャナで読み取り分子量の測定に用いた. 画像解析は, 画像処理ソフトの

Image Jを使用し, デンシトグラムの作成と分子量の計算を行った.

## 2.7 統計処理

値は平均値  $\pm$  標準偏差で示し, 2群間の比較は Student's t-testを用いた. また, 統計学的有意水準は1%未満とした. 統計処理には, 統計ソフトには IBM SPSS Statistics 19を使用した.

## 3. 結果

### 3.1 体重変化および総摂食量

各群の実験飼育開始時と終了時での体重の比較を図1に示した. 実験飼育開始時の体重 (g) は, ST群24.9  $\pm$  2.0, PD群24.6  $\pm$  1.6で, 終了時は, ST群26.1  $\pm$  3.1, PD群17.2  $\pm$  0.7となった. ST群の終了時の体重は, 開始時と比較して有意ではないが増加した. 一方, PD群の終了時の体重は, 開始時と比較して有意に低下していた. 各群の総摂食量 (g/28日) は, ST群113.4  $\pm$  8.5, PD群108.4  $\pm$  10.3で, 2群間での有意差はなかった (図2).

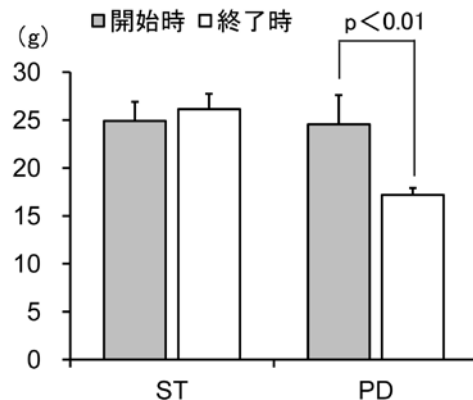


図1 実験飼育開始時と終了時での体重比較

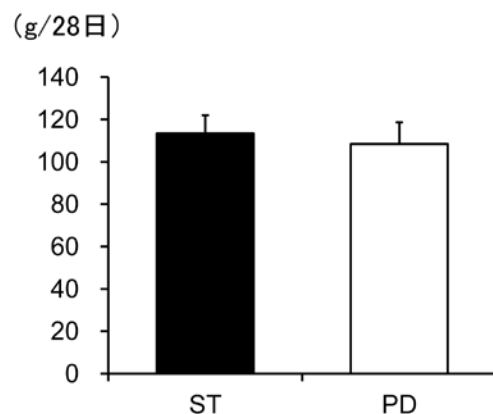


図2 実験飼育期間中の総摂食量

### 3.2 血清総タンパク質濃度

実験飼育終了時の血清総タンパク質濃度 (g/dl) は, ST群6.0  $\pm$  0.7, PD群4.5  $\pm$  0.5で, PD群ではST群と比較して有意に低値を示した (図3).

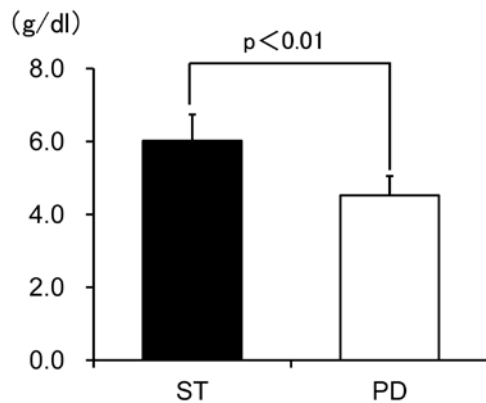


図3 実験飼育終了時における血清総タンパク質濃度

### 3.3 体毛の成長

ST群とPD群の除毛直後も含めた1週間おきの除毛部の写真を図4に示した。除毛後2週間経過すると両群に差が出始め、PD群の体毛の成長に遅れがみられた。実験終了時(4週間後)にはST群の体毛はほぼ全て生え揃っていたのに対し、PD群では全て生え揃うことがなかった。

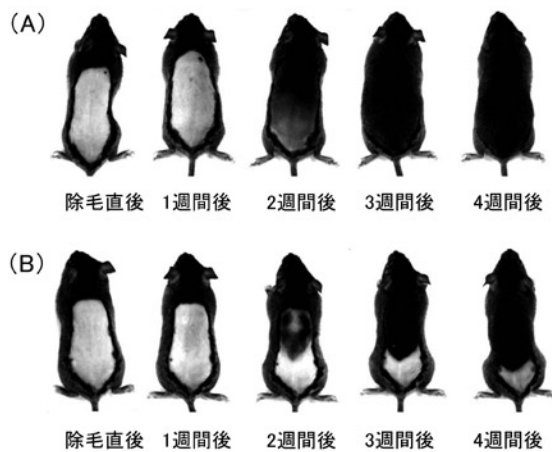


図4 除毛直後からの除毛部の変化

(A) ST群: 25%カゼイン食, (B) PD群: 1%カゼイン食

### 3.4 体毛中システイン含有率

実験飼育期間中に除毛部から新たに形成された体毛を採取し、そのシステイン含有率の測定を行った。体毛中システイン含有率(%)は、ST群 $12.7 \pm 0.8$ 、PD群 $10.4 \pm 0.6$ となり、PD群はST群と比較して有意に低値であった。(図5)。

### 3.5 体毛抽出タンパク質の電気泳動 (SDS-PAGE)

ST群とPD群の体毛から抽出したタンパク質のSDS-PAGEのバンドとそのデンシトグラムを図6に示した。検出されたバンドの分子量(kDa)は、(a) 56.6, (b) 43.9, (c) 23.5, (d) 21.1,

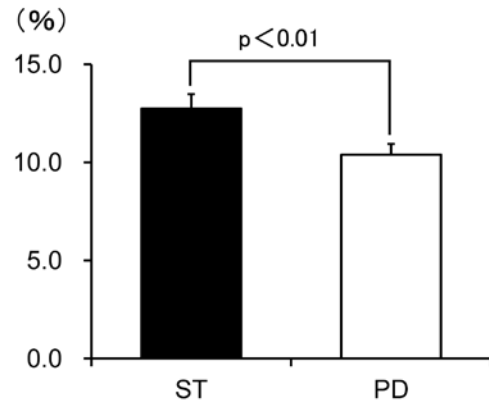


図5 体毛中システイン含有率

実験飼育期間中に除毛部に形成された体毛を実験飼育終了時に採取して測定した。

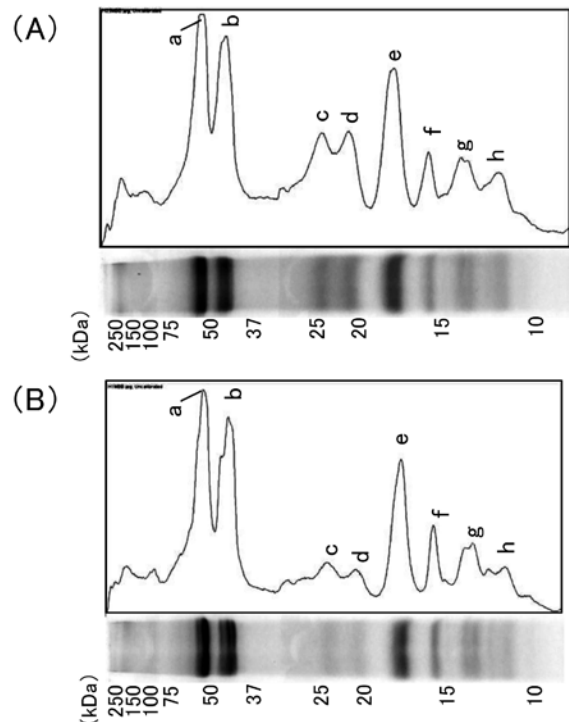


図6 体毛抽出タンパク質の電気泳動 (SDS-PAGE)

(A) ST群: 25%カゼイン食, (B) PD群: 1%カゼイン食  
体毛抽出タンパク質をモノプロモビマン (MBB) で蛍光標識した後、電気泳動で分離して365nmで検出した。また、画像処理ソフトImage Jを用いてデンシトグラムを作成した。数値は、分子量マーカーのバンドの位置を示す。

(e) 17.1, (f) 15.3, (g) 14.6, (h) 12.3であった。蛍光検出したバンドのデンシトグラムにおいて、ST群と比較してPD群の分子量20~25kDa (cおよびd) のタンパク質が減少していた。

## 4. 考察

### 4.1 タンパク質栄養状態の評価

マウスのように成長の早い小動物では、成長にともなうタンパク質の蓄積があるため、タンパク質の供給が十分であるかどうかは体重増加を指標として評価することが可能である<sup>16)</sup>。本研究では、25%カゼイン食を標準食とし、1%カゼイン食をタンパク質欠乏食として用いた。中田らによれば、マウスは体重当たりの飼料摂取量がラットの2倍で、カゼインを使用した場合、マウスの飼料中タンパク質量の至適量はラットのほぼ半分の10~12%と報告している<sup>17)</sup>。したがって、本研究で設定した1%カゼイン食はタンパク質欠乏食に相当する。実験飼育開始時と終了時の体重は、標準食のST群では増加がみられた。このことから、標準食ではタンパク質の供給量は十分であったと考えられる。一方、PD群では体重が有意に減少した。したがって、PD群では、タンパク質欠乏状態にあり、体タンパク質の分解が合成よりも優位な状態であったと考えられる。また、血清総タンパク質濃度は、標準食のST群と比較してPD群では有意に低値となった。血清タンパク質のうち、アルブミンの半減期はヒトでは約21日であるが、マウスのような小動物は、代謝回転が速く、半減期は約2日である<sup>18)</sup>。そのため、マウスではタンパク質欠乏による影響が現れやすい。PD群の血清タンパク質が低値を示したことから、PD群がタンパク質欠乏状態にあったことは明らかである。

### 4.2 体毛成長と栄養状態

毛髪は、伸び続けることはなく、一定の周期性を持って抜けていき、また新しい毛髪に生え変わる。毛包組織におけるこのサイクルのことを毛周期と呼び、成長期、退行期、休止期の3段階がある。ヒトの毛周期は1本1本独立しており、毛髪は85~90%が成長期にある。一方、マウスやラットではヒトとは異なり毛周期はすべて同調している。本研究で使用したC3Hマウスは、毛周期が明らかとされており、通常、生後45日~95日までは休止期である<sup>19)</sup>。しかし、休止期にカミソリや除毛クリームで除毛するなどの刺激が加わると成長期が誘導されることから<sup>20)</sup>、本研究においては、体毛の成長期を誘導させるため、あらかじめマウスの背部体毛を除毛処理した。

PD群の体毛成長はST群と比較して遅れがみられた。体毛成長に関する研究は羊において調べられており、含硫アミノ酸のメチオニンとシステインが体毛成長に大きく関与するところが報告されている<sup>21,22)</sup>。毛母細胞は体内で活発に細胞分裂を繰り返す細胞の一つで<sup>23)</sup>、この分裂によって毛髪は成長する。メチオニンは、DNAのメチル基転移反応に関わるS-アデノシル-L-メチオニンや細胞増殖促進作用を示すポリアミンの前駆体となり<sup>24)</sup>、また、タンパク質合成における開始コドンに対応するアミノ酸でもある。Reisは、羊にメチオニンの拮抗剤であるエチオニンを投与した場合、羊毛の成長低下を引き起こしたと報告している<sup>25)</sup>。このことから、メチオニンはシステインの供給に寄与するだけでなく、体毛の成長に直接関与すると考えられる。次に、システインと体毛成長の関係については、羊へのシステイン投与が羊毛の成長を増加させるとの報告がある<sup>26)</sup>。体毛タンパク質のシステイン含有率は、体内の他の組織タンパク質や食肉タンパク質中のシステイン含有率が0.6~2%程度<sup>27)</sup>であることを考えると非常に高い。そのため、体毛タンパク質の合成はシステインの供給によって制限されていると考えられる。したがって、PD群における体毛成長の遅れは、タンパク質摂取の低下によって、メチオニンとシステインの供給量が低下したことが原因として考えられる。その他、体毛の成長にはエネルギーが必要である。毛包における細胞分裂やタンパク質合成のエネルギーの基質としては主にグルコースが利用される。毛包組織ではグルコースの嫌気的な解糖によってエネルギーが生成され、成長期毛のグルコース必要量は休止期毛の2倍に相当すると報告されている<sup>28)</sup>。PD群で用いた飼料はカゼインを減らし、 $\alpha$ -コーンスターチを添加して熱量を調整した。ST群とPD群では総摂食量に差がなかったことから、PD群ではむしろ糖質をより多く摂取していたことになる。そのため、PD群においては毛包組織へのグルコースの供給が低下していたとは考えにくい。したがって、体毛の成長の遅れは、エネルギー不足が原因ではないと考えられる。また、ビタミンやミネラルに関しても、25%カゼイン食も1%カゼイン食も同じ比率で添加しているため、その影響はほとんどなかったと考えられる。

4.3 体毛タンパク質合成の評価

体毛中システイン含有率(%)は、ST群(12.7±0.8)と比較してPD群(10.4±0.6)では有意に低値を示した。体毛を構成するタンパク質は、主にKPとKAPに大別され、そのシステイン含有率は、KPは約6%で、KAPのUHSPは30%以上、またHSPは約20%である。体毛全体のシステイン含有率がST群で約13%であったことから、システイン含有率の低下は体毛を構成するタンパク質のうちKAPのUHSPあるいはHSPの割合が相対的に低下していることを示す。

次に、マウスの体毛抽出タンパク質の電気泳動の結果は、PD群において、分子量の20~25kDaのタンパク質の低下を示した。この20~25kDaはKAPの分子量に相当する。KAPはUHSPとHSP、そしてHGTPの3つに分けられ、このうちHGTPは10kDa前後であることからバンド (h) の位置がHGTPと推定される。したがって、20~25kDa付近のタンパク質はUHSPとHSPである可能性が高く、この結果はシステイン含有率の評価とも一致する。羊毛やラットの体毛においては、含硫アミノ酸の添加によって体毛中のシステイン量あるいは高硫黄タンパク質が増えるという報告がある<sup>29,30)</sup>。そのため、KAPのUHSPあるいはHSPの合成は、システインの供給に依存していると考えられる。また、Powellらは、毛包におけるタンパク質の遺伝子発現を調べ、毛包下部においてKPのI型とII型が最初に発現し、そのあとでKAPのHSPとUHSPが発現することを報告している<sup>31)</sup>。したがって、タンパク質欠乏によってシステイン供給が低下した場合、システイン含有率の高いKAPのUHSPあるいはHSPについては十分に合成されずに毛髪の形成が進むと考えられる。

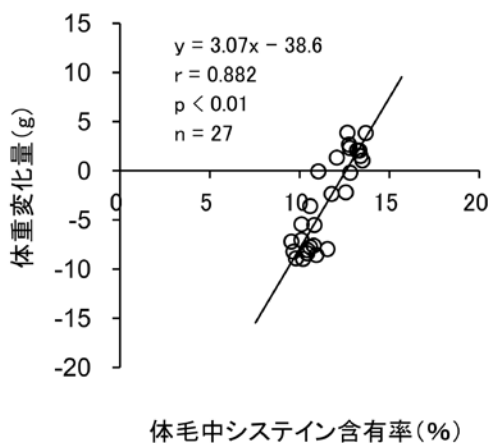


図7 体毛中システイン含有率と体重変化量の関係  
使用したデータは、ST群とPD群を合わせたもの。

#### 4.4 体毛中システイン含有率と栄養評価指標の関係

体毛中システイン含有率は、栄養評価指標である体重変化量および血清総タンパク質濃度と有意な正の相関を示した(図7, 図8)。したがって、体毛中システイン含有率は、タンパク質栄養状態を反映すると考えられる。ヒトの毛髪と栄養状態の関係については、さらに検討していく必要があるが、ヒトの毛髪は、マウス体毛よりもシステイン含有率が高いため、KAPの構成割合がより高いと考えられる。そのため、ヒトの毛髪中システイン含有率についても、タンパク質栄養状態を反映する1つの指標になる可能性がある。しかしながら、ヒトの毛髪においては、老化やホルモンによる影響、パーマや脱色・染色剤による影響、あるいは、服薬による影響など栄養因子以外の要因が影響する可能性もあるため、それらの影響の有無について同時に検討していく必要がある。

#### 5. 結語

本研究の結果は、タンパク質栄養状態が、システイン含有率の高いKAPの合成に影響するということを示唆した。

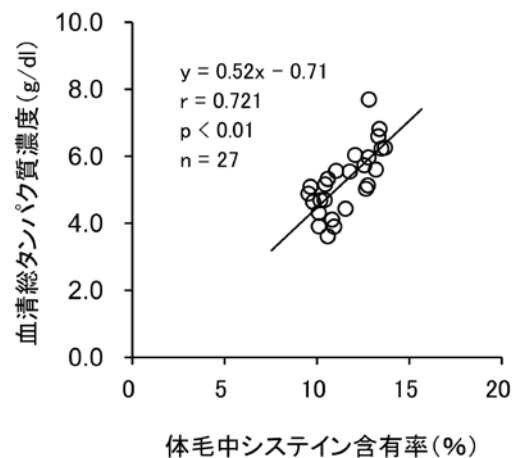


図8 体毛中システイン含有率と血清総タンパク質濃度の関係  
使用したデータは、ST群とPD群を合わせたもの。

#### 文 献

- 1) Bradfield RB: Protein-calorie malnutrition diagnosis by hair tissue: a review. *The Journal of Tropical Pediatrics and Environmental Child Health*, **19**(4), 370-375, 1973.
- 2) 谷守: 身体症状からみる栄養評価 5 爪甲, 毛髪. *臨床栄養*, **111**(5), 588-592, 2007.
- 3) Powell BC and Rogers GE: Hard keratin IF and associated proteins. *Cellular and molecular biology of intermediate filaments*, Plenum Press, New York, 267-300, 1990.

- 4) Gillespie JM : The proteins of hair and other hard  $\alpha$ -keratins. *Cellular and molecular biology of intermediate filaments*, Plenum Press, New York, 95–128, 1990.
- 5) Clarence RR : 毛髪科学. 第4版, フレグランスジャーナル社, 東京, 1–119, 2006.
- 6) Powell BC and Rogers GE : The role of keratin proteins and their genes in the growth, structure and properties of hair. *Formation and Structure of Human Hair*, Birkhäuser Verlag, Berlin, 59–148, 1997.
- 7) Sims RT : The measurement of hair growth as an index of protein synthesis in malnutrition. *British Journal of Nutrition*, **22**, 229–236, 1968.
- 8) Jordan VE : Protein status of the elderly as measured by dietary intake, hair tissue, and serum albumin. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **29**(5), 522–528, 1976.
- 9) Bradfield RB : Protein deprivation : comparative response of hair roots, serum protein, and urinary nitrogen, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **24**(4), 405–410, 1971.
- 10) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265–275, 1951.
- 11) Moore S, Schram E and Bigwood EJ : Chromatographic determination of cystine as cysteic acid. *Biochemical Journal*, **57**, 33–37, 1953.
- 12) Moore S : On the determination of cystine as cysteic acid. *The Journal of Biological Chemistry*, **238**, 235–237, 1963.
- 13) Rosen H : A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Archives of biochemistry and biophysics*, **67**, 10–15, 1957.
- 14) O'keefe DO : Quantitative electrophoretic analysis of proteins labeled with monobromobimane. *Analytical Biochemistry*, **222**, 86–94, 1994.
- 15) Laemmli UK : Cleavage of Structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680–686, 1970.
- 16) 岸恭一, 木戸康博 : タンパク質・アミノ酸の新栄養学. 講談社, 東京, 199–205, 2007.
- 17) 中田忍, 木村利二 : タンパク質栄養研究におけるマウスの利用. 日本栄養・食糧学会誌, **40**(2), 111–116, 1987.
- 18) 船引龍平 : 蛋白質代謝回転の意味 蛋白質代謝理論の史的展開 (Ⅲ). 化学と生物, **133**(5), 334–340, 1995.
- 19) 横山大三郎 : 男性型脱毛症と育毛有効成分. 油化学, **44**(4), 266–273, 1995.
- 20) Hamada K and Suzuki K : Evaluation of biochemical indices as a hair cycle marker in C3H mice. *Experimental Animals*, **45**, 251–256, 1996.
- 21) Reis PJ and Sahl T : The nutritional control of the growth and properties of mohair and wool fibers : a comparative review. *Journal of Animal Science*, **72**, 1899–1907, 1994.
- 22) Hynd PI and Masters DG : Nutrition and wool growth. *Sheep Nutrition*, CABI, New York, 165–188, 2002.
- 23) 松崎貴 : 毛髪を科学する. 第4版, 岩波書店, 東京, 96, 2004.
- 24) Hynd PI and Nancarrow MJ : Inhibition of polyamine synthesis alters hair follicle function and fiber composition. *Journal of Investigative Dermatology*, **106**, 249–253, 1996.
- 25) Reis PJ and Tunks DA : Inhibitory effects of ethionine, an analogue of methionine, on wool growth. *Australian Journal of Biological Sciences*, **35**, 49–62, 1982.
- 26) Reis PJ : Effects of amino acids on the growth and properties of wool. *Physiological and Environmental Limitations to Wool Growth*. University of New England Publications Unit, New South Wales, 223–242, 1979.
- 27) Beach EF, Munk B and Robinson A : The amino acid composition of animal tissue protein. *The Journal of Biological Chemistry*, **148**, 431–439, 1943.
- 28) Adachi K, Takayasu S, Takashima I and Kano M : Human hair follicles : Metabolism and control mechanisms. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **21**, 901–924, 1970.
- 29) Gillespie JM and Reis PJ : The dietary-regulated biosynthesis of high-sulphur wool proteins. *Biochemical Journal*, **98**, 669–677, 1966.
- 30) Fratini A, Powell BC, Hynd PI, Keough RA and Rogers GE : Dietary cysteine regulates the levels of mRNAs Encoding a family of cysteine-rich proteins of wool. *Journal of Investigative Dermatology*, **102**, 178–185, 1994.
- 31) Powell BC, Nesci A, and Rogers GE : Regulation of keratin gene expression in hair follicle differentiation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **642**, 1–20, 1991

## The Relationship between Protein Nutritional Status and Hair Protein Synthesis in Mice

Hironori NAKAMURA, Kenichiro KANAZAWA and Shuji MATSUEDA

(Accepted Nov. 6, 2012)

**Key words** : cysteine, hair, keratin, malnutrition, mice

### Abstract

It is known that hair becomes thin and weak during protein-energy malnutrition. However, the changes in hair components have not been well studied. The main component of hair is protein, of which there are 2 types: keratin proteins (KP) and keratin-associated proteins (KAP). These proteins differ in molecular weight (KP > KAP) and cysteine content rate (KP < KAP). In this study, we focused on the differences in hair proteins and examined changes in the composition of hair proteins in mice fed a protein-deficient diet.

Eight-week-old male C3H mice, from which hair on the backs had been removed, were fed a diet containing 25% casein (standard diet group) or 1% casein (protein-deficient diet group) for 4 weeks. In the protein-deficient diet group, the body weight was significantly decreased and the total serum protein levels were significantly lower than those in the standard diet group. The cysteine content rate in the hair was significantly lower in the protein-deficient diet group compared to the standard diet group. Electrophoretic analysis of hair proteins indicated that there was a decrease in certain KAP in the protein-deficient group.

These results suggest that protein nutritional status affects the synthesis of KAP with high cysteine content during hair formation.

Correspondence to : Hironori NAKAMURA

Department of Clinical Nutrition

Faculty of Health Science and Technology

Kawasaki University of Medical Welfare

Kurashiki, 701-0193, Japan

E-Mail : [hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp](mailto:hironori@mw.kawasaki-m.ac.jp)

(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.22, No.2, 2013 200–207)