

分離大豆たん白質のラット肝・血清中の コレステロール，トリグリセライドレベル に及ぼす影響

EFFECT OF SOY PROTEIN ISOLATE ON THE CHOLESTEROL
AND TRIGLYCERIDE LEVELS IN LIVER AND SERUM OF RATS.

福場博保・五十嵐脩・毛利理恵(お茶の水女子大学 生活環境研究センター)

Hiroyasu FUKUBA, Osamu IGARASHI and Rie MORI

Institute of Environmental Science for Human Life,
Ochanomizu University.

ABSTRACT

Serum and liver cholesterol levels are known to be affected by kinds of feeding protein, especially soy protein has a decreasing effect on those levels. One of these effects is assumed to be coming from the difference of amino acid composition of the protein. We noticed the difference of arginine levels in soy protein isolate and casein, the latter having lower level than the former. Rats were fed the diet supplemented with cholesterol at 1% level for 2 weeks. In Exp. 1 the protein level was kept at 20%, whereas in Exp. 2 12%. The following results were obtained.

1) Soy protein isolate decreased the growth rate comparing with casein diet. It might be caused with diarrhea by soy protein isolate.

2) At normal protein level in diet, significant effect of soy protein isolate was not observed in serum lipids. But, at lower protein level, soy protein isolate significantly decreased total and free cholesterol levels in serum and increased HDL-cholesterol level in serum than casein diets.

3) In liver of normal protein group, arginine supplementation decreased significantly triglyceride level and tended to decrease total cholesterol level. Similar effect of arginine was observed in low protein diet, but not significantly.

動物，とくに家兔，ラットなどの血清，肝臓コレステロールレベルは，飼料中のたん白質の種類とレベルで影響されるといわれる¹⁾。とくに，動物性たん白質を与えると植物性たん白質を与えた場合に比べ，血清コレステロールレベルが高くなるといわれる。菅野ら²⁾はコレステロール無添加低脂肪食（ラード1%）を与えたラットでは，たん白質源として大豆たん白質を与えると，カゼインを与えた場合に比べ，血清コレステロールが低下することを発表している。しかし，コレステロール添加食では，この結果はみられなかったと述べている。

このカゼインと大豆たん白質の血清コレステロールレベルに対する知見では，両者のたん白質のアミノ酸組成

に差があることが，その一因として考えられ，メチオニン，リジン/アルギニン比がその要因として考えられている^{3,4)}。事実，メチオニンまたはリジンを大豆たん白質に添加すると，血清コレステロールが上昇するといわれている。これらの現象はカゼインが脂質代謝に悪影響を及ぼしているためと考えられているが，逆にいえば，大豆たん白質がコレステロールの生合成を抑制し，影響を及ぼしているためとも考えられる。そこで，我々はたん白質のレベルを通常の20%と低レベルの12%にした場合の両たん白質の血清，肝コレステロールレベルへの影響をみるために，1%コレステロールを添加した高コレステロール食でラットを飼育し，血清，肝臓の脂質レベル

Table 1. Diet composition

Experimental Groups	I Casein	II Soy protein	III Casein+ Arg	IV Soy protein
α -Starch	30	30	30	30
Casein	20(12)	—	20(12)	—
Soy protein isolate	—	20(12)	—	20(12)
Lard	8	8	8	8
Vitamin mix.	4	4	4	4
Mineral mix.	0.85	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15
Cholesterol	1	1	1	—
Cholic acid	0.25	0.25	0.25	—
Arginine	—	—	0.8 (0.48)	—

Parenthesis means Exp. 2.

Sum up to 100% with β -starch.

に及ぼす影響を検討することにした。また、リジン/アルギニン比を一定にするために、アルギニンをカゼインに加えた群を設け、アルギニン添加の効果を比較検討することにした。

実験方法

初体重が 100g 前後の Sprague-Dawley 系雄ラットを、オイルフリーの粉末飼料にラードを 8% 加えて固型化した飼料で 1 週間予備飼育したのち、Table 1 に示した 4 種類の飼料で 2 週間飼育した。なお、カゼインと大豆たん白質のアミノ酸組成を分析した結果、リジン/アルギニンの比が、カゼインで約 2.15、大豆たん白質で約 0.86 であったので、この比を一定にするために、カゼイ

ンの 4% にあたるアルギニンをカゼインに添加した群を設け、アルギニンの影響をみた。

実験は 2 つで、実験 1 ではたん白質のレベルを通常の 20% に、実験 2 では、低レベルの 12% にした。飼料は、粉末タイプのものを熱湯を適量加えて丸め、固型タイプとして自由摂食させた。体重は 3 日ごとに測定した。2 週間飼育後、ラットを固定し開腹、腹部大動脈から採血し、30~60 分室温放置後 3,000rpm, 10 分遠心分離し、血清を採った。肝臓は、取り出した後、生理食塩水で洗い余分な水分はふきとった後、凍結した。

血清コレステロールは、コレステロール・テスト・ワコー(和光純薬株)、中性脂肪は Triglyceride-C II-Test-Wako(和光純薬株)、HDL-コレステロールは HDL-C

Table 2. Ratio of final body weight to initial weight, and liver and heart weight at normal protein level (Exp. 1).

	Ratio of BW initial to final	Liver wt (g/100gBW)	Heart wt (g/100gBW)
I Casein	1.75 $\pm$ 0.09 ^a	4.3 $\pm$ 0.38 ^a	0.39 $\pm$ 0.04
II Soy protein	1.53 $\pm$ 0.11 ^b	4.2 $\pm$ 0.31 ^a	0.36 $\pm$ 0.06
III Casein+ Arg	1.78 $\pm$ 0.12 ^a	4.3 $\pm$ 0.20 ^a	0.38 $\pm$ 0.07
IV Soy protein chol. free	1.53 $\pm$ 0.10 ^b	3.0 $\pm$ 0.18 ^c	0.34 $\pm$ 0.01

a, b: P<0.05, a, c: P<0.01 Mean $\pm$ SD

Table 3. Ratio of final body weight to initial weight, and liver and heart weight at lower protein level (Exp. 2).

	Ratio of BW initial to final	Liver wt (g/100gBW)	Heart wt (g/100g BW)
I Casein	1.52 $\pm$ 0.13 ^b	4.2 $\pm$ 0.14 ^a	0.44 $\pm$ 0.03
II Soy protein	1.22 $\pm$ 0.15 ^c	4.3 $\pm$ 0.33 ^a	0.44 $\pm$ 0.04
III Casein+ Arg	1.75 $\pm$ 0.07 ^a	4.1 $\pm$ 0.22 ^a	0.41 $\pm$ 0.04
IV Soy protein chol. free	1.55 $\pm$ 0.14 ^b	2.8 $\pm$ 0.10 ^c	0.38 $\pm$ 0.03

a, b: P<0.05, a, c: P<0.01 Mean $\pm$ SD

Table 4. Effect of feeding protein and supplementation of arginine to casein at normal protein level on serum lipid levels (Exp. 1).

		Triglyceride (mg/dl)	Total chol. (mg/dl)	Free chol. (mg/dl)	HDL-chol. (mg/dl)
I	Casein	234.4±40.4 ^a	207.2±59.0 ^a	85.3±13.3 ^a	26.8±6.1 ^b
II	Soy	236.6±52.6 ^a	238.9±57.5 ^a	85.4±16.5 ^a	22.0±5.3 ^b
III	Cas+Arg	227.9±24.2 ^a	259.3±90.1 ^a	82.7±21.7 ^a	20.3±6.9 ^b
IV	Chol. free	196.5±22.2 ^b	96.7±11.9 ^b	35.9±5.6 ^b	61.0±9.0 ^a

a, b : P < 0.01 Mean ± SD

Table 5. Effect of feeding protein and supplementation of arginine to casein at lower protein level on serum lipid levels (Exp. 2).

		Triglyceride (mg/dl)	Total chol. (mg/dl)	Free chol. (mg/dl)	HDL-chol. (mg/dl)
I	Casein	248.4±76.6 ^a	267.2±82.2 ^a	106.0±25.7 ^a	19.8±6.2 ^{b, c}
II	Soy	214.8±57.0 ^a	176.3±55.1 ^b	62.9±26.3 ^b	24.2±7.3 ^b
III	Cas+Arg	243.4±61.3 ^a	267.4±78.6 ^a	124.5±41.8 ^a	14.6±2.2 ^c
IV	Chol. free	125.6±37.3 ^b	96.1±13.2 ^c	37.3±7.1 ^c	40.2±12.2 ^a

a, b; a, c; b, c; P < 0.01 Mean ± SD

Table 6. Effect of feeding protein and supplementation of arginine to casein at normal protein level on liver lipid levels (Exp. 1).

		Triglyceride (mg/g)	Total chol. (mg/g)
I	Casein	29.7±4.9 ^a	30.4±4.3 ^a
II	Soy	20.3±5.5 ^b	26.5±4.6 ^a
III	Cas+Arg	19.1±7.4 ^{b, c}	24.8±2.5 ^a
IV	Chol. free	12.1±2.3 ^c	3.6±0.46 ^c

a, b: P<0.05, a, c: P<0.01, b, c: P<0.01
Mean±SD

Table 7. Effect of feeding protein and supplementation of arginine to casein at lower protein level on liver lipid levels (Exp. 2).

		Triglyceride (mg/g)	Total chol. (mg/g)
I	Casein	25.4±3.8 ^a	29.6±2.2 ^a
II	Soy	23.2±4.8 ^a	26.6±3.2 ^a
III	Cas+Arg	21.5±1.6 ^a	26.7±2.3 ^a
IV	Chol. free	16.6±5.7 ^b	2.8±0.18 ^b

a, b: P<0.01
Mean±SD

栄研（栄研化学㈱）のキットを、それぞれ用いて測定した。肝臓コレステロールは、肝臓脂質を Folch 法⁵⁾ に従って抽出した後、上記のキットを用いて測定した。

実験結果および考察

ラットの成長率を Table 2, 3 に示した。飼料中のたん白質のレベルが低い実験 2 では実験 1 に比較し、成長率が悪かった。さらに実験 1 の結果においても明らかに、大豆たん白質投与群は成長率が悪かった。この大豆たん白質投与群では下痢をしているものがみられ、その傾向は実験 1 で大きかった。肝臓と心臓の重量にはたん白質の量、種類の影響はみられなかった。

血清の脂質レベルの結果を Table 4 と Table 5 に示した。この表からわかるように、中性脂肪においては、大豆たん白質とカゼインとの差、およびアルギニン添加

の影響はみられなかった。またコレステロールへの影響は、たん白質レベルが低い実験 2 で認められた。つまり大豆たん白質投与群（II 群）で低下がみられ、カゼイン投与群（I 群）に対し有意差を認めた（P<0.05）。一方、アルギニン添加の影響は認められなかった。また、HDL-コレステロールの増加が大豆たん白質投与群で認められた。

次に、肝臓の脂質レベルの結果を Table 6, 7 に示したが、実験 1 で中性脂肪にたん白質投与による影響がみられた。つまり、大豆たん白質投与群（II 群）とアルギニン添加の群（III 群）には、カゼイン投与群（I 群）に比較し、中性脂肪の低下がみられた（P<0.05）。しかし、実験 2 では有意差は認められなかった。一方、コレステロールレベルについては、実験 1, 2 とたん白質による影響はみられなかった。

本研究では、高コレステロール食をラットに投与した場合、飼料中のたん白質、とくに大豆たん白質の血清および肝臓コレステロールレベルに及ぼす影響を、たん白質レベルを通常の20%と低レベルの12%の2レベルにして検討したが、血清コレステロールへの影響は、たん白質レベルを低くした場合にみられ、肝臓コレステロールへの影響は、通常および低レベル両条件下で認められなかった。

高コレステロール食を投与している中で、肝臓でのコレステロールの生合成は抑制されていると考えられ、大豆たん白質投与(12%)による血清コレステロールの減少は、肝臓での生合成の低下によるものではなく、腸管での吸収抑制によることも一因と考えられる。しかし、たん白質のレベルを低レベルにした場合(実験2)でのみ、この現象はみられることから、アポたん白の合成の抑制なども考えられる。

一方、リジン/アルギニンの比がコレステロール代謝に影響を与えるという報告もあるが、本研究においては、リジン/アルギニン比の影響は血清についても肝臓についても認められなかった。

大豆たん白質のコレステロール代謝に与える影響については、従来の研究報告などから考えても、多様な要因が考えられ、今後の研究余地が大であると考えられる。

文 献

- 1) 山田恵子, 鵜田克彦, 鈴木敏己, 中村隆(1973): 実験的コレステロール血症および実験的高血圧症におよぼす食餌たん白質の影響, 栄養と食糧, **26**, 431-440.
- 2) 沖田卓雄, 菅野道廣(1979): ラット血漿および肝臓脂質濃度におよぼす食餌たん白質の影響, 栄養と食糧, **32**, 397-401.
- 3) Huff, M.W., Hamilton, R.H.G. and Carroll, K.K. (1977): Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol free, semi-purified diet: effects of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acid mixtures. *Atherosclerosis*. **28**, 187-195.
- 4) Kritchevsky, D. (1979): Vegetable protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 135-140.
- 5) Folch, J., Less, M. and Sloane-Stanley, G.H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.