

外因性コレステロール代謝に対する 食餌たん白質の影響について

THE EFFECTS OF PROTEIN NUTRITION ON EXOGENOUS HYPERCHOLESTEROLEMIA

小篠 栄・田中武彦（大阪大学医学部）

Hisashi OZASA and Takehiko TANAKA

Department of Nutrition and Physiological Chemistry,
Osaka University Medical School.

ABSTRACT

There are many researches reporting interrelationships between plasma cholesterol levels and dietary fats. However, the effects of dietary protein on cholesterol metabolism has not been elucidated yet. In this report, it is described that plasma cholesterol levels increased after oral loading of cholesterol and bile acid to rats, and this high level is remarkably changed under various conditions of protein nutrition. The plasma levels of cholesterol clearly increased in the animals fed on low protein diet (5%) compared to that on high protein diet (40%). The mechanism of this phenomenon has not yet been elucidated and, so far tested, is not due to changes in intestinal cholesterol absorption.

The differences in dietary protein quality also showed remarkable effects on exogenous hypercholesterolemia. Proteins giving higher biological values showed more increasing effect on plasma cholesterol levels. However, differences in plasma cholesterol levels between animals fed on low protein diets and high protein diets are much more distinguishable in the animals fed on higher quality protein.

近年、わが国においても欧米型食生活への移行に伴い、動脈硬化性疾患と高脂血症、中でも高コレステロール血症との関係が注目され、また高コレステロール血症と食餌性脂質との関連が多く論じられてきた。しかし、脂質以外、とりわけたん白質が高コレステロール血症にどのような影響をおよぼすのかについては、従来まであまり報告はみられなかった。血中のコレステロール等の脂質は、リポたん白質としてアポたん白質と複合体を形成しており、またアポたん白質には、いろいろな種類があり、それぞれ機能を異にしている。そして、組織中ではコレステロールは SCP (Sterol Carrier Protein) によって代謝の場を移動している。これらによってもたん白質は、コレステロールの代謝に対して重要な役割をもつであろうことは明白である。そこで本報告において

は、食餌性たん白質に着目して高コレステロール血症にどのような影響を及ぼすかについて検討を加えてみた。

実験動物としてラットは高コレステロール血症のモデルとなりにくい動物であるが、よく知られているように食餌にコレステロールとともに胆汁酸（中でもコール酸ナトリウム）を同時に与えると容易に高コレステロール血症が発症する。この条件下で食餌中のたん白質の質と量を変化させて血中と肝臓中のコレステロールのレベルを比較した。また、コレステロールの腸管での吸収率に対するたん白質栄養の影響についても検討を加えた。

方 法

1. 動物及び飼育条件

6週齢のSD系雄ラットを用い、1グループ4匹とし

た。また実験開始時の平均体重は $175 \pm 5\text{g}$ である。合成食餌はたん白質としてカゼイン, soy protein isolate (フジプロR, 不二製油㈱), ツェイン, グルテン等を使用し, これらを, 5%, 10%, 20%, 40% (W/W) と含量を変化させ, これらに並行してデキストリンを増減させた。その他, スクロース20%, ラード10%, ビタミン混合1% (オリエンタル酵母工業㈱), ミネラル混合4% (オリエンタル酵母工業㈱), セルロース4%とした。

2. コレステロールの定量

血中のコレステロールは採血後に得られた血清を酵素法 (ヤトロン㈱製コレステロール測定キット) にて測定した。これはコレステロールエステラーゼ, コレステロールオキシダーゼ, パーオキシダーゼの3種の酵素を用いた総コレステロールの比色測定による試薬セットであり, 血中エステル型コレステロールはコレステロールエステラーゼの作用により分解され, 遊離型コレステロールとして測定する。

肝臓中のコレステロール測定はまず, Folch 法にて脂質抽出を行った。肝組織を20倍量のクロロホルム:メタノール (2:1) でホモグナイズし, 一晚放置後ガラスフィルターで濾過し, 0.2容の0.9% NaClを加えて混合したのち, 遠心分離を行った。上層は吸引にて除き, 残ったクロロホルム層を 50°C 温水中にて N_2 ガス気流にて風乾し, 任意の量のクロロホルムを加え, ねじ口試験管に入れてフリーザーに保存した。コレステロールの測定は Zak-Henly 法 (百瀬による変法) によった。サンプル (約 $400\mu\text{g}$ ステロール量) を 50°C 温水中にて N_2 気流にて風乾し, 氷酢酸に溶解した。 4ml の氷酢酸溶液に対して 2ml の塩化第二鉄・過塩素酸溶液を加え, 沸騰水中にて20分間加熱したのち430あるいは440nmのO.D.を測定した。

3. コレステロールの腸管吸収

コレステロールの腸管での吸収率は Zilver-Schmitt らによる IRM (Isotope Ratio Method) によった。これは核種の異なる二種類のラベル化合物を *in vivo* にて, 一方は静脈注射, 他方は経口投与し, 血中に現われたそれぞれの放射能の比率から投与物質の吸収率を算出するものである。まず ^{14}C -コレステロールを含んだ溶液を胃管チューブにて経口投与を行う。その際, 投与後胃管チューブ内に残った放射能を測定し, 実験に使用した放射能から差し引き, いわゆる正味 (net) の投与放射能を正確に求める。経口投与後ただちに 0.5ml ^3H -コレステロール溶液を頸静脈から投与する。投与後, 水ならびに餌を自由摂取させ, 48, 72, 96時間後に頸静脈より採血し, 各血清についてそれぞれ ^3H と ^{14}C の放射能を同時測定する。吸収率は,

$$\frac{\text{経口投与量} (^{14}\text{C}\text{-コレステロール})\%}{\text{静脈投与量} (^3\text{H}\text{-コレステロール})\%} \times 100$$

で表わす。そして, 48, 72, 96時間後の値を平均して, そのラットのコレステロールの吸収率とする。

結 果

1. 血中コレステロールに対する食餌性コレステロールおよび胆汁酸の影響

動物を4群に分け, I. 合成食のみのコントロール群, II. 合成食餌に0.5%のコール酸ナトリウムを添加した群, III. 合成食に1.0%のコレステロールを添加した群, IV. 合成食に0.5%のコール酸ナトリウムと1%のコレステロールの両者を添加した群とした。従来の多くの報告に見られるように, Fig. 1 のとおり血中コレステロールはコール酸ナトリウムとコレステロールの両者を添加した群においてのみ極めて著明に上昇した。この場合, 食餌中のたん白質はカゼイン20%であった。

2. 外因性高コレステロール血症に対する食餌中たん白質含量の影響

コレステロールとコール酸ナトリウムの同時添加食時における高コレステロール血症に対する食餌中たん白質の影響は Fig. 2 に示すとおりであった。すなわち, 食餌にコレステロールあるいはコール酸ナトリウムおよび両者を添加した群において, カゼイン含量を5%, 10%, 20%, 40%とした食餌で10日間飼育した。血中コレステロールは食餌中たん白質含量の高いほど低下した。コントロールとして無添加の場合やコレステロールのみを添

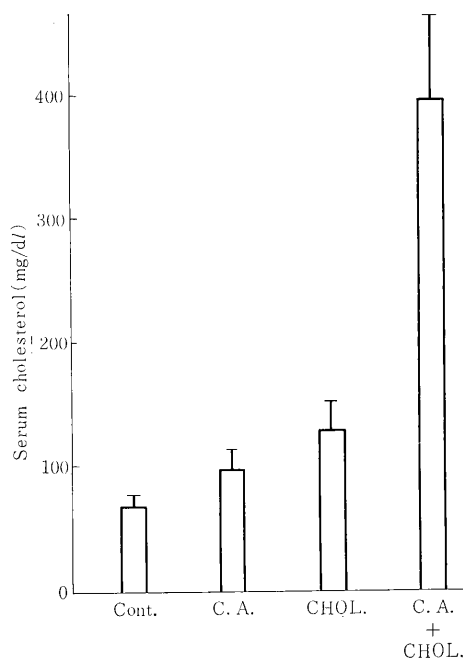


Fig. 1 Serum cholesterol level in rats fed on diets containing cholesterol (CHOL.) and Na-choleate (C.A.)

加した場合にはたん白質含量による差は見出せなかったが、コール酸のみを添加した場合においても食餌たん白質増加による血中総コレステロール値の低下作用がみられた。また、このような血中コレステロール値の変化は

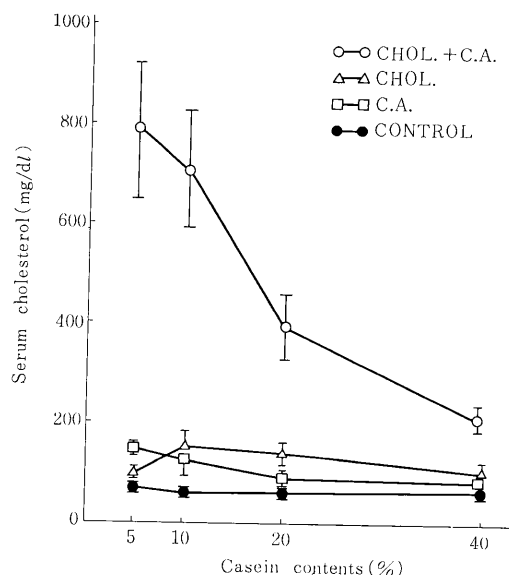


Fig. 2 Effects of dietary protein contents on serum cholesterol level

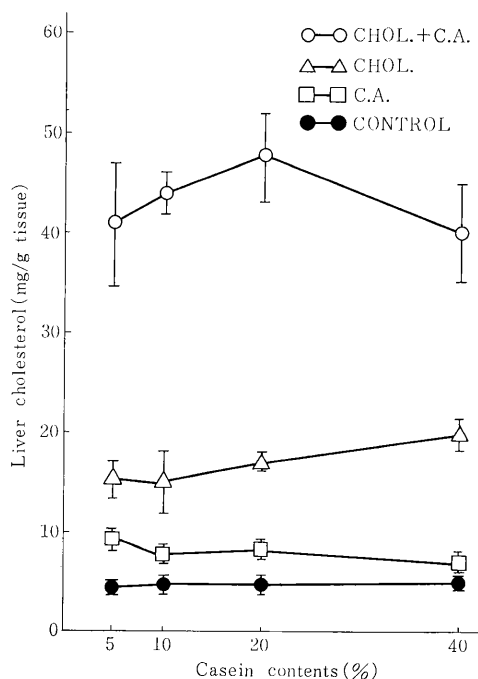


Fig. 3 Effects of dietary protein contents on liver cholesterol level

主に血中 VLDL レベルの変化に基づくものであることが電気泳動法によって確かめられた。

また Fig. 3 に示すように、無添加の場合コール酸の

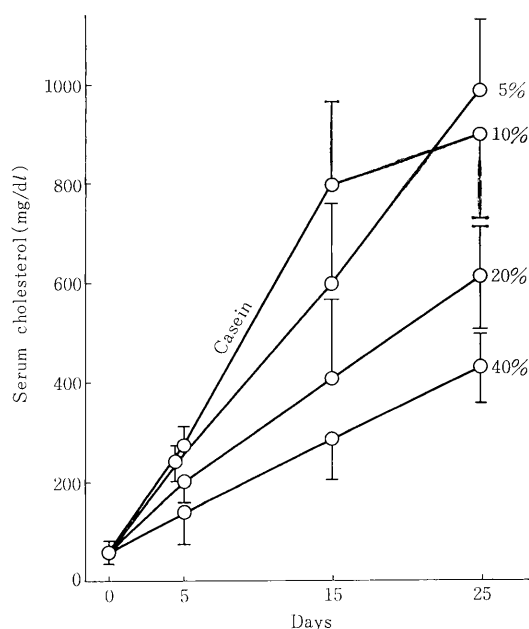


Fig. 4 Time course of changes in serum cholesterol level after cholesterol administration

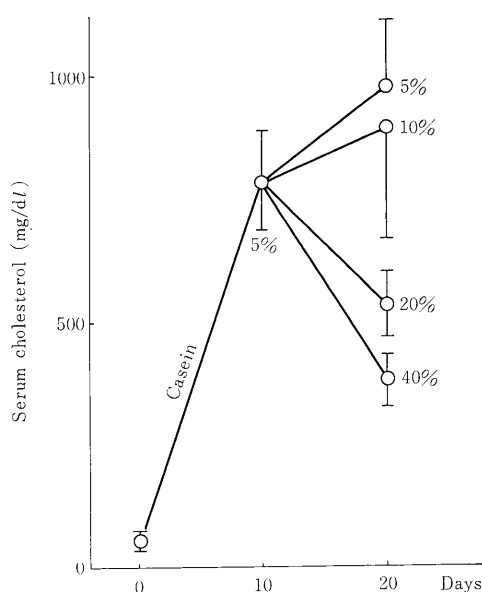


Fig. 5 Time course of changes in serum cholesterol level after shifts of dietary protein contents

みの添加の場合、コレステロールのみの添加の場合、両者の添加の場合はそれぞれ、肝臓中のコレステロールレベルに差が見られたが、しかし血中レベルの変化とは異なり、たん白質含量による差は全く見出せなかった。

3. コレステロールおよびコール酸添加食による血中コレステロールレベルの変化の時間経過

種々のたん白質含量の食餌において、コレステロール、コール酸ナトリウムの両者を添加した場合に血中コレステロールがどのような時間経過で変化するかをFig. 4に示した。低たん白食の方がその上昇率が高いことが明らかとなった。

また Fig. 5 は5%のたん白質で飼育したのち、5%、10%、20%、40%のたん白質食にわけてさらに10日間飼育した場合の血中のコレステロールの変化を示している。

血中のコレステロールは食餌中のたん白質含量が増すことによって有意に低下し、その変化は10日以内に起ること、またこれらの変化が可逆的であることが明らかとなった。

4. 外因性高コレステロール血症に対する食餌性たん白質の影響

外因性高コレステロール血症がたん白質含量によって大きく影響をうけることが上記の実験で明らかとなったので、たん白質の質的な相違がどのような影響を与えるかを調べた。Fig. 6に示すように、たん白質の質的な差は外因性のコレステロール血症に明確な影響を及ぼす

が、一般的にいえば、質の良いたん白質の方が血中コレステロールをより高くする傾向がみられた。とくにカゼインおよび大豆たん白質がその代表的な例であった。

5. コレステロールの腸管吸収に対するたん白質栄養の影響

コレステロールの腸管における吸収率については、コール酸とコレステロール同時添加の場合、5%、10%、20%、40%カゼイン含量によって、それぞれ $61.5 \pm 13.3\%$ 、 $67.5 \pm 10.0\%$ 、 $78.8 \pm 3.7\%$ 、 $89.2 \pm 3.6\%$ とたん白含量が増すにつれて、吸収率が高くなる傾向が見られた。よって、血中コレステロールレベルのたん白質含量による差は、吸収の差によるものでないことが示された。

また、たん白質の種類による血中コレステロールレベルの差については、コレステロールの腸管での吸収率を検討してみたところ、たん白質の種類によって、著明な差は見出されなかった。この点については、さらに検討中である。

考 察

従来より食餌性脂質と血清コレステロールとの関連について多くの知見が見られるが、たん白質栄養とコレステロール代謝との関連については未だ充分な研究がなされていない。本研究においては食餌性コレステロール負荷により血清コレステロールのレベルが著しく上昇するが、この上昇がたん白質栄養により極めて著明な影響をうけることを初めて明らかにしたものである。

すなわち、白ネズミにおいて食餌にコレステロールと胆汁酸塩とを添加すると血清のコレステロールのレベルが著しく上昇することはよく知られた事実であるが、この上昇は食餌のたん白質含量により大きく変化し、低たん白質食(5%)の場合は非常に高く、高たん白質食の場合は著明に低いことが明らかとなった。この現象の機構は未だ明らかでないが、コレステロールの腸管吸収能には大きな差の見られないことから、生体内におけるコレステロールの代謝能にその作用点があると考えられる。

投与たん白質の質的な差異について検討を行ったが、低たん白質においてはカゼインや大豆たん白質等の良質のたん白質の方が血清コレステロールのレベルが高かった。しかし、たん白質レベルが高い場合は、血清コレステロールレベルの低下の程度がより著明であった。

私共の研究は未だ現象論的な段階であり、その詳細な機構については今後の研究をまたねばならないが、高脂血症に対する対策としては、低たん白質食より高たん白質食の方がより望ましいのではないかと考えられる。またそういう立場から、飽和脂肪酸やコレステロール含量の高い動物性たん白質食品よりは、大豆たん白質製品がより適当と考えられる。

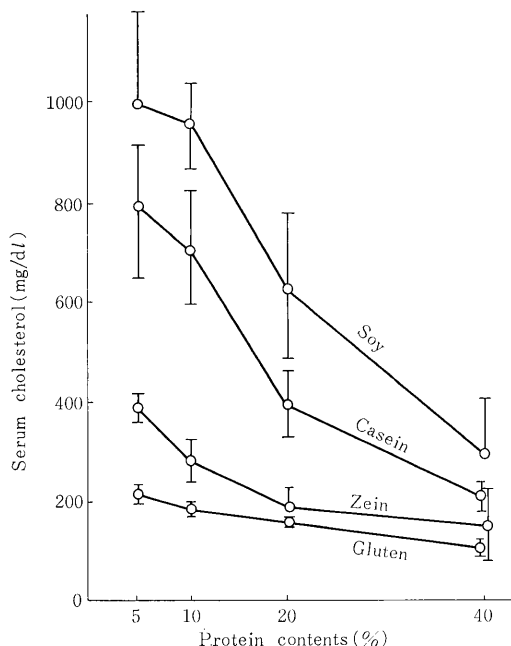


Fig. 6 Effects of various dietary protein contents on serum cholesterol level