

分離大豆たん白質とその酵素水解物の コレステロール代謝に与える影響

THE EFFECTS OF SOY PROTEIN ISOLATE AND
ITS ENZYMATIC HYDROLYSATE ON CHOLESTEROL
METABOLISM

金森正雄・土井裕司（京都府立大学農学部）

Masao KANAMORI and Hiroshi DOI

Department of Agricultural Chemistry, Kyoto Prefectural University

ABSTRACT

Male Wistar strain rats were fed soy protein isolate (Fujipro R), casein and their pepsin hydrolysate diets for five weeks, respectively, during which terms their serum cholesterol levels were analysed periodically. The soy protein isolate and enzymatic hydrolysate diets decreased the growth rate comparing with casein diets. The soy protein isolate and its hydrolysate diets produced lower levels of serum cholesterol throughout the experiments as compared with those on the corresponding casein diets. These appeared to be no relationship between body weight gains and serum cholesterol in rats fed these four different diets. The pepsin hydrolysate of soy protein isolate decreased the level of serum cholesterol and triglyceride than the level on the corresponding soy protein isolate diets. The soy protein isolate, casein and their enzymatic hydrolysate diets made no significant difference to their effect on the cholesterol contents of high density lipoprotein in serum and also all of these diets consequently decreased the content of free cholesterol in serum.

コレステロールは、ステロイドホルモンや胆汁酸の前駆物質であるばかりでなく、細胞膜や細胞内小器官の膜面を形成する生体の必須成分であり、膜面の透過性や柔軟性の調節、形態の保持などの役割を果たしている。一方、高コレステロール血症が、動脈壁の粥状硬化病変と密接な関係を有しており、コレステロールが病変を誘発する危険因子として確認されている。血清コレステロール値は、食餌よりの吸収、生体内での合成および異化排泄により平衡が保たれているのが通常である。しかしこの値は年齢や種々の食餌性因子によって変動することから、高コレステロール血症に対する食餌による改善の可能性を示唆することができる。

ラット、ウラギ、ニワトリ、ブタなどの各種動物およびヒトについて、食餌として与えた植物性たん白質（大

豆）が動物性たん白質（カゼイン）に比べて、それらの血清コレステロール濃度を低下させることが数多く報告されている。またカゼインをたん白質源とする飼料で動物を飼育すると、高脂血症、動脈硬化を生じやすいことが知られている。植物性たん白質による血清コレステロール低下作用の機構に関し詳細は不明であるが、たん白質のアミノ酸組成の相違、含まれる非たん白質成分（dietary fibre, サポニンなど）によるという考え方があり、これらに関する研究も多いが、その機構、理由については依然はっきりしない現状である。

本研究は分離大豆たん白質（フジプロ R）とそのペプシン水解物およびカゼインとそのペプシン水解物をそれぞれのたん白質源として、ラットを飼育し、食餌性

Table 1. Composition of the diets(%)

Constituent	I	II	III	IV	V
Oriental's diet	100				
Casein		20			
Hydrolyzed casein			20		
Fujiipro R				20	
Hydrolyzed Fujiipro R					20
Soybean oil		7	7	7	7
Cellulose powder		5	5	5	5
Mineral mixture		4	4	4	4
Vitamin mixture		1	1	1	1
Sucrose		63	63	63	63

たん白質がコレステロールを中心とした肝代謝に及ぼす影響を観察したものである。

実験方法

1. 実験動物および飼育条件

生後3～4週齢のWistar系雄ラット(体重50～60g)を用い、5匹1群とした。合成食餌は、たん白質として、カゼイン、分離大豆たん白質(フジプロR、不二製油㈱)およびそれぞれをペプシン水解したものを使用し、Table 1に示した飼料組成で24日～31日間飼育した。なお対照としてはオリエンタル酵母工業㈱製の配合飼料を用いた。カゼイン、分離大豆たん白質の加水分解物は、ペプシン：たん白質＝1：100(W/W)でpH 1.6、37℃条件下で1時間加水分解した後乾燥して調製した。加水分解程度は、TNBS反応のO.D.の増加が0 timeに比べ約2倍、SDS-, PAG-電気泳動パターンの結果から判断して、分子量は10,000以下であった。

2. コレステロールおよびトリグリセライドの定量

採血は尾端より1～1.5 cmのところを切断して流出する血液約1 mlをシリコン管に採取して、凝固後、冷

蔵庫に24時間放置し、2,000 rpm 15 min 遠沈して血清を得た。

血清中の総コレステロール、HDL-コレステロールおよび遊離型コレステロールの測定は、それぞれ国際試薬㈱製の測定キット、Fコレス・5、HDL-コレス(等電点分画法)、コレステロールF試薬(酵素法)を用いて行った。また血清中のトリグリセライドも同じく国際試薬㈱製キット、トリグリセライド試薬(酵素法)を用いて測定した。

実験結果および考察

1. 体重増加量、摂食量および肝臓重量

各飼料を用いて飼育24日の体重増加量、飼料摂取量および肝臓重量をTable 2に示した。体重増加量はFig. 1にみられるように、ペプシン処理の有無にかかわら

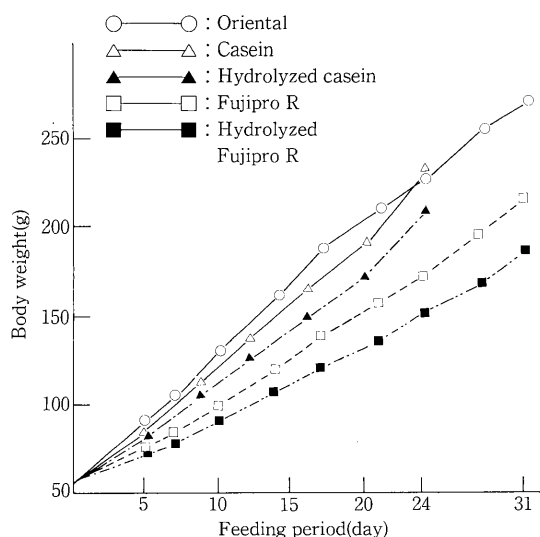


Fig.1 Changes of body weights of rats fed various protein diets

Table 2. Body weight gain, food intake and liver weight in rats fed various protein diets

Diet	Body weight gain (g/24 days)	Food intake (g/day)	Liver weight (g/100g of body weight)
Oriental	168.8±12.64	17.2±1.28	4.60±0.19
Casein	176.4±12.91	15.3±1.03	5.85±0.26
Hydrolyzed Casein	157.8± 3.38	14.2±0.28	5.54±0.17
Fujiipro R	112.2± 6.11	12.2±0.37	5.22±0.29
Hydrolyzed Fujiipro R	94.1± 7.81	11.2±0.69	4.29±0.11

ず常にカゼイン飼料群が大きく、無処理カゼイン飼料群、ペプシン水解カゼイン飼料群、無処理フジプロ R 飼料群、ペプシン水解フジプロ R 飼料群の順であり、飼料摂取量と体重増加量との間に良い相関が得られていることから、体重増加量は飼料摂取量に原因することが理解される。肝臓重量についても、摂取量の多い飼料群ほど大きく体重増加量と同様の傾向を示している。ウサギを用いての実験では^{1,2)}、たん白質量を 20 % とすると、体重増加量はカゼイン飼料群と大豆たん白質飼料群とは、ほとんど差がなくなり、また食飼料中にコレステロールを含む場合も同じ傾向の結果が得られている。ペプシン水解たん白質飼料群の場合、何れも摂食量の減少が認められ、体重増加量も小さかった。原因としては、水解によって生成されるペプチドの影響によるものと考えられるが不明である。パンクレアチン処理したカゼインまたは大豆たん白質飼料を用いてウサギを飼育した実験では、摂食量および体重増加量には顕著な差が認められなかった Huff ら³⁾の結果がある。

2. 血清コレステロール

1) 血清中の総コレステロール

血清中の総コレステロール含量の各種飼料での飼育による経時変化を Fig. 2 に示した。一般に、動物性たん白質食の場合、植物性たん白質食の場合より血漿コレステロールレベルは高いことが報告されているが⁴⁾、図に示すように飼育開始後 24 日目では、カゼイン飼料群、フジプロ R 飼料群、ペプシン水解フジプロ R 飼料

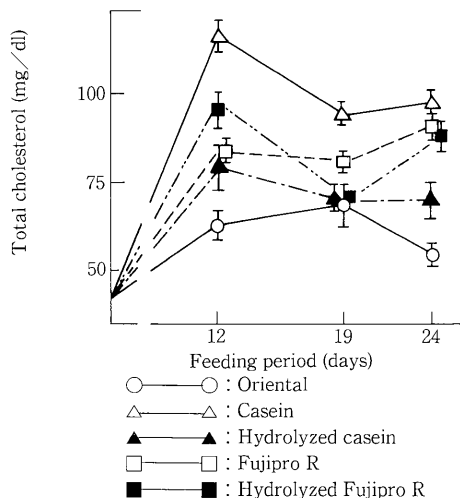


Fig.2 Change of serum total cholesterol as a function of time in rats fed various protein diets

群、ペプシン水解カゼイン飼料群の順で総コレステロール値は高く、同様の傾向の結果が得られた。この実験から飼料たん白質をペプシンで水解すると、総コレステロール値が低下することが認められたがなかなか興味のある結果である。しかしウサギを用いた実験では³⁾、パンクレアチン処理した大豆たん白質を投与したところ、血漿コレステロールレベルは未処理たん白質食を与えた場合と比べさして差が認められなかった。またカゼインあるいは卵黄たん白質アミノ酸組成と同じパターンのアミノ酸混合飼料をウサギに与えた場合は、高コレステロール血症の発症は、それぞれのたん白質飼料を与えた場合とほとんど同程度であった。さらに大豆たん白質やサンフラワーたん白質のアミノ酸組成と同じパターンのアミノ酸混合飼料の方が、カゼインのアミノ酸組成と同じパターンのアミノ酸混合飼料の場合よりも、血漿コレステロールレベルを下げる結果が得られており⁵⁾、アミノ酸組成が血漿コレステロールレベルに影響を与えることが示唆された。本実験では、ラットを用いているが、ペプシン水解によって、血清コレステロールレベル低下が認められ、大変注目すべき興味ある結果であり、さらに消化、吸収の面からも検討を加えたい。

2) 血清中の HDL-コレステロール

HDL はコレステロールを末梢組織から肝臓へ運搬する役割をしており、血中 HDL 濃度の低下によって動脈硬化が促進されることが知られている。各種たん白質飼料で飼育されたラットの血清中の HDL-コレステロールレベルを Table 3 および Fig. 3 に示した。何れの飼料においても飼育期間中 30~45 mg / 100ml のレベルにあり、各飼料間に大差は認められなかった。Nagata ら⁶⁾の実験では、飼料中にコレステロールを添加しているが、血清 HDL-コレステロールレベルはほとんど同じであり、HDL-コレステロールは食餌たん白質による影響は受けにくいのではないかと考えられる。ウサギでの実験においても¹⁾カゼイン飼料群と大豆たん白質飼料群とにおいて HDL-コレステロールレベルには総コレステロールほどの差は認められなかった。

3) 血清中の遊離コレステロール

各飼料で飼育したラットの血清中の遊離型コレステロール濃度は Fig. 4 に示したが、飼育開始後 12 日目で 29~38 mg / 100ml レベルにあり、24 日目では 13~22 mg / 100ml レベルまで漸減するが、各飼料間には大差は認められなかった。

以上総コレステロール、HDL-コレステロール、遊離コレステロールの定量結果から判断して、総コレステロールが少なく、HDL-コレステロールが高くなる飼料

Table 3 Changes of serum HDL-cholesterol in rats fed various protein diets

Diet	(mg/dl)		
	12th day	19th day	24th day
Casein	36.1±2.73	45.2±5.42	37.0±5.38
Hydrolyzed Casein	35.6±3.99	37.6±2.91	37.6±3.47
Fujipro R	29.2±2.52	44.1±3.70	44.1±1.23
Hydrolyzed Fujipro R	34.0±1.99	44.2±5.09	40.9±5.39

Initial value was 19.7±2.96mg/dl.

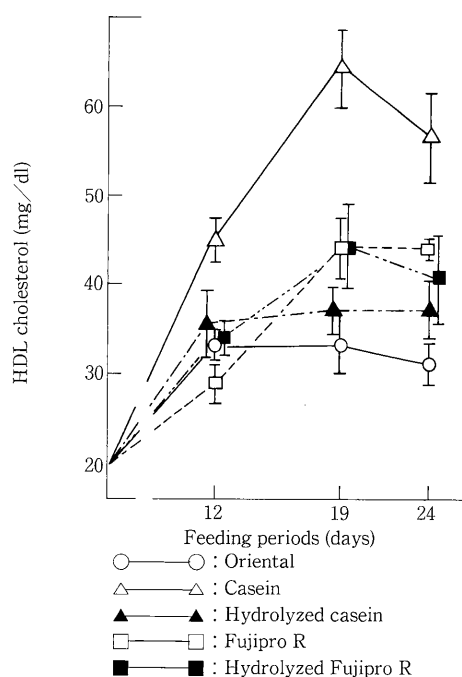


Fig.3 Change of serum HDL cholesterol as a function of time in rats fed various protein diets

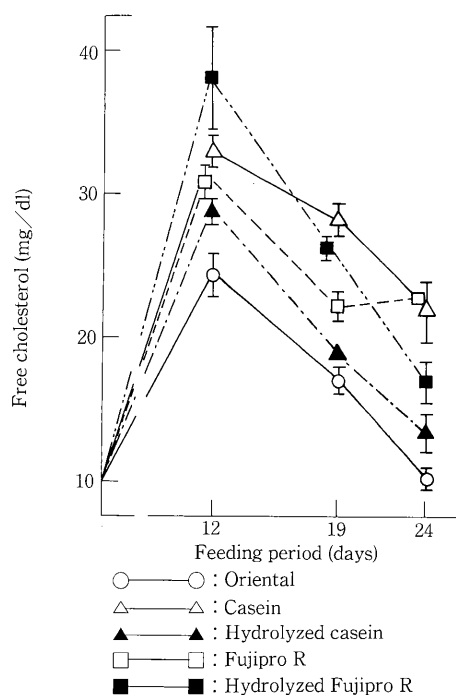


Fig.4 Change of serum free cholesterol as a function of time in rats fed various protein diets

が動物にとり生理的に良い飼料と考えられるので、本実験からカゼインたん白質食より大豆たん白質食であるフジプロ R 食の方がコレステロールの観点から優れていると判断される。

HDL-コレステロールと総コレステロールの比を Table 4 に示したが、その値はカゼイン飼料群よりも大豆たん白質飼料群で常に高く、またペプシン水解によってカゼイン飼料群は高くなった。何れにしてもこの結果から、フジプロ R 飼料群がカゼイン飼料群より優れていることを立証するもので、さらに水解によって良好な結果が期待されるものであった。

3. 血清中のトリグリセライド

各種飼料で飼育したラットの血清中のトリグリセライドの測定結果を Fig. 5 に示したが何れの実験群とも、飼育日数に従って増加するが、飼料相互に大差は認められなかった。ただペプシン水解フジプロ R 食群の場合に血清トリグリセライド含量が少なくなる結果が得られた。理由について推察できぬがペプチド態の効果を考えさせられる結果ではある。

以上の結果からカゼイン食に比し分離大豆たん白質(フジプロ R)食の方が血清中のコレステロールバランスが良く、トリグリセライド含量においても望ましい

Table 4. Changes in ratio of HDL- to total cholesterol in plasma from rats various protein diets

Diet	Ratio of HDL- to total cholesterol		
	12th day	19th day	24th day
Casein	0.311	0.439	0.370
Hydrolyzed casein	0.452	0.538	0.539
Fujipro R	0.349	0.546	0.487
Hydrolyzed Fujipro R	0.358	0.623	0.466

結果であることが明らかとなった。また、いずれの食餌群においてもペプシンによる加水分解処理は良い効果を示した。血清コレステロール含量が食飼料によって差が生ずることは、当然肝機能にも何らかの影響を生ずる可能性が考えられるので血清の各種酵素活性を測定して肝機能の推察を行った。肝細胞破壊を反映すると考えられる transaminase 活性 (GOT, GPT) および LDH 活性を測定した結果では水解フジプロ R 飼料群の値が低く肝臓に良好な結果が得られた。leucine-aminopeptidase, alkaliphosphatase 活性は何れの飼料群でも大差がなかった。

今後は肝臓における酵素生成能や前駆体および代謝産物について検討する予定であり、長期間飼育実験も必要で血清中のたん白質やアミノ酸組成の動態について精査する必要がある。

文 献

- 1) TERPSTRA, A.H.M., and SANCHEZ-MUNG, F.J. (1981) : Time course of the development of hypercholesterolemia in rabbits fed semipurified diets containing casein or soybean protein. *Atherosclerosis*, **39**, 214-227.
- 2) TERPSTRA, A.H.M., VAN TINTELEN, G., and WEST, C.E. (1982) : The effect of different properties of casein in semipurified diets on the concentration of serum cholesterol and the lipoprotein composition in rabbits. *Atherosclerosis*, **42**, 85-95.
- 3) HUFF, M.W., HAMILTON, R.M.G., and CAR-

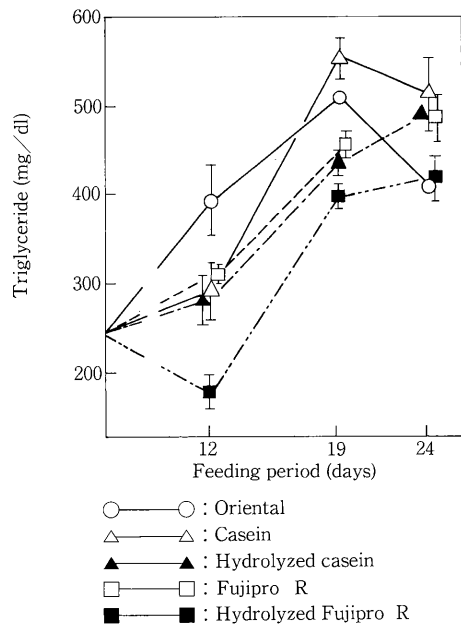


Fig.5 Change of serum triglyceride as a function of time in rats fed various protein diets

ROLL, K.K. (1977) : Plasma cholesterol level in rabbits fed low fat, cholesterol free, semipurified diets: effect of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acid mixtures. *Atherosclerosis*, **28**, 187-195.

- 4) CARROLL, K.K., and HAMILTON, R.M.G. (1975) : Effects of dietary protein and carbohydrate on plasma cholesterol level in relation to atherosclerosis. *J. Food Sci.*, **40**, 18-23.
- 5) HUFF, M.W., and CARROLL, K.K. (1980) : Effects of dietary proteins and amino acid mixtures on plasma cholesterol levels in rabbits. *J. Nutr.*, **110**, 1676-1685.
- 6) NAGATA, Y., TANAKA, K., and SUGANO, M. (1981) : Serum and liver cholesterol levels of rats and mice fed soybean protein or casein. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **27**, 583-593.