

分離大豆たん白質による 血漿コレステロール低下作用

EFFECT OF SOY PROTEIN ISOLATE ON PLASMA
CHOLESTEROL CONCENTRATION IN THE RAT

林 伸一・村上安子・原 淑子（東京慈恵会医科大学）

Shin-ichi HAYASHI, Yasuko MURAKAMI and Yoshiko HARA

Department of Nutrition, Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

1) Rats were fed on high fat-casein, low fat-casein or high fat-soy isolate diet for long term (>24 weeks). The latter two groups of rats were pair-fed to the first group so that all the group showed the same average growth rate. Plasma total cholesterol concentration was markedly lower in the group of rats fed on high fat-soy isolate than in other two groups.

2) When rats fed on low fat-casein diet for 34 weeks were fed on high fat-soy isolate diet, plasma total cholesterol concentration decreased significantly within one week after the shift of diet.

3) When young rats were fed on low fat-gluten diet with or without supplementation of lysine for 2 weeks, their plasma total cholesterol concentrations were significantly lower than those of rats fed on low-fat casein diet.

4) Supplementation of threonine to casein diet did not affect plasma total cholesterol concentration.

昭和 56 年度研究は当初「オルニチン脱炭酸酵素活性を指標とする分離大豆たん白質へのメチオニン補足効果」という研究題目でスタートした。56 年 7 月までの研究の結果、オルニチン脱炭酸酵素を指標とすれば、分離大豆たん白質は補足なしで、カゼインや卵アルブミンに匹敵する良質たん白質であると結論された¹⁾。しかし、肝オルニチン脱炭酸酵素活性はたん白質摂取に対する反応が迅速であるため、摂取後数時間以内のみの血漿アミノ酸パターンによって酵素誘導のレベルが決定され、したがって必ずしも摂取たん白質の栄養価評価には適当でないことがわかった²⁾。そこで、この方向の研究を一応打ち切り、分離大豆たん白質による血漿コレステロール低下作用に関する検討を開始した。

方 法

1. 動物と飼育条件

4 週齢の Sprague-Dawley 系の雄ラットを、日本クレアより購入し、恒温 (22±1℃)、恒湿 (60±5%)、人工照明 (点灯 9:00~21:00) 下の動物室で飼育した。飼料と水は断らない限り自由に摂取させた。基本的な実験食の組成は Table 1 に示した。アミノ酸を添加する場合にはデキストリン量を減じた。低脂肪食は水を加えて団子状(実験 1-4)として、あるいは粉末状(実験 5)のまま与えた。高脂肪食は水を加えずにそのまま練って与えた。

2. コレステロールの測定

エーテルあるいはネンプタールで麻酔したラットの

Table 1. Composition of experimental diet

	LF-Casein	HF-Casein	HF-SPI
Casein	25 (%)	34 (%)	— (%)
SPI	—	—	34
Fat (Crisco)	—	30	30
Vitamin mixture	1	1.5	1.5
Salt mixture	4	5.5	5.5
Cellulose	2	3	3
Oil mixture	2	2	2
Dextrin	66	24	24

LF : Low fat, HF : High fat, SPI : Soy protein isolate.

尾静脈より 0.1ml 採血し、0.9 % NaCl 0.2ml で稀釈した後、遠心 (3000 rpm, 10 分間) して上澄を得た。上澄 0.1ml を用いて、酵素法 (ペーリンガー製コレステロール・テスト) によって、コレステロールを測定した。したがって、血漿コレステロール濃度は血液 100 ml あたりの mg 数であらわした。

実験結果と考察

1. 長期飼育における血漿コレステロールに対する食餌の影響

4 週齢のラットを 4 匹ずつ 3 群にわけて、Table 1 に示した 3 種類の食餌、すなわち (1) 低脂肪カゼイン食 (LF-casein, 脂肪 2 %, カゼイン 25 %), (2) 高脂肪カゼイン食 (HF-casein, 脂肪 32 %, カゼイン 34 %), (3) 高脂肪 SPI 食 (HF-SPI, 脂肪 32 %, SPI 34 %) で 24~25 週間飼育した。2, 3 群は 1 群と成長速度が等しくなるように給餌量を調整した (pair feeding)。ただし大部分の飼育期間中自由摂食のままで成長速度は同じであった。28~29 週齢において、カゼイン食の場合は高脂肪群と低脂肪群との間に差は全くなかったが、SPI はカゼインに比較して、ラットの血漿コレステロールを著明に低下させることが明らかとなった (Table 2)。

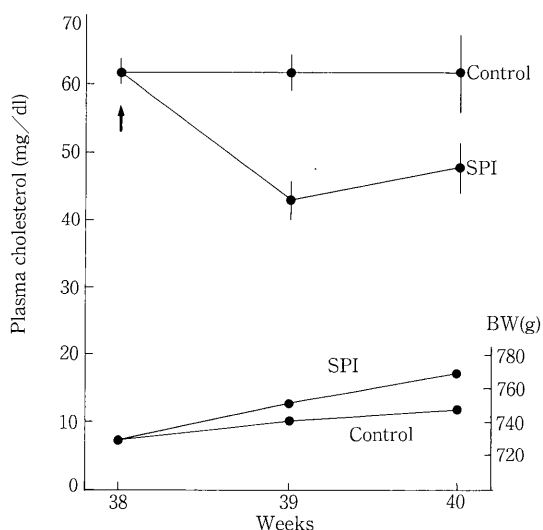


Fig.1 Time course of changes in plasma cholesterol after shift of diet from low fat-casein to high fat-SPI (Mean $\pm$ SE)

2. SPI による血漿コレステロール濃度の変化の時間経過

4 週齢より 38 週齢まで、LF-casein で飼育したラットを 4 匹ずつ 2 群にわけて、一方にはそのまま LF-casein を、他方には HF-SPI を与えた。1 週間後と 2 週間後の体重と血漿コレステロール濃度を Fig. 1 に示した。HF-SPI に切り換えると、ラットは好んで HF-SPI を食べ、摂取エネルギーが増加し、体重の増加が著しかった。このような条件下でも血漿コレステロールは有意に低下した。SPI の血漿コレステロール濃度低下作用は 2 週目以降に有意になると報告されている²⁾が、われわれは比較的高齢の肥満ラットを用いたので、SPI の効果が早くでたのかもしれない。

Table 2. Effect of long-term feeding of diets on plasma total cholesterol

Diet	Age (w)	Body weight (g)	Food intake (g/day)	Cholesterol (mg/dl)
LF-Casein	29	665 $\pm$ 21	23	52 $\pm$ 6
HF-Casein	28	677 $\pm$ 40	16	52 $\pm$ 5
HF-SPI	29	684 $\pm$ 30	16	27 $\pm$ 3

Rats were fed for 24~25 weeks

Mean $\pm$ SE for 4 rats

3. SPI に対するメチオニンの補足効果

SPI のコレステロール低下作用は SPI の栄養価と関係があるのか否かを知る目的で、第 1 制限アミノ酸である Met の補足効果を検討した。4 週齢より HF-SPI で飼育し、33 週齢で HF-SPI に Met を 0.5 % 補足した食餌に切り換えると、Fig. 2 に示すように Met 補足後に、血漿コレステロール濃度は著しく上昇した。2.5 週間後に補足を中止し、もとの HF-SPI にもどすと、血漿コレステロール濃度の上昇は停止した。しかし、control として用いた HF-casein 群、LF-casein 群の両群においても、この飼育期間 (32~40 週齢) 中、加齢に伴って、HF-SPI+Met 群よりは小さいが、血漿コレステロールの増加がみられたので、上記の Met の補足効果が有意か否かはこの実験結果からは判定し難い。従来の報告をみても、大豆たん白質への Met の補足は血漿コレステロール値をやや上昇させる場合^{3,4)}、効果がない場合⁵⁾、特殊な条件下では著しく上昇させる場合⁶⁾等があり明確でない。この点についてはさらに検討中である。

4. 血漿コレステロール濃度に対するグルテンの影響とグルテンへのリジンの補足効果

SPI の代わりに gluten を用いて、コレステロール低下作用が栄養価と関係しているのか否かを検討した。固型飼料 (MF, オリエンタル酵母工業株) で飼育した 6 週齢のラット 16 匹を 4 匹ずつ 4 群にわけて、(1) LF-casein, (2) LF-casein+Lys 1 %, (3) LF-casein の casein を gluten に置き換えた LF-gluten, (4) LF-gluten+Lys 1 % で飼育し、1 週間後と 2 週間後に体重と血漿コレステロール濃度を測定した。1 週間後には、すでに gluten 群と casein 群の間に差が出現した。2 週間後には Table 3 に示すように、その差は明確であった。すなわち、LF-gluten 群は LF-casein 群に比して体重も血漿コレステロール濃度も低かった。Lys を補足すると casein 群のレベルまで体重は増加したが、血漿

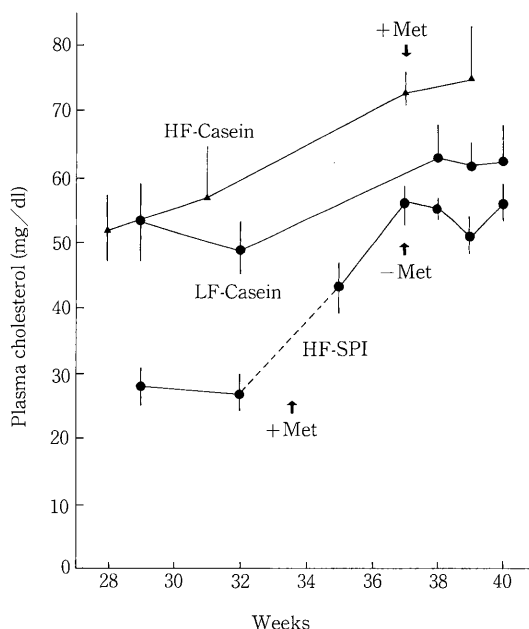


Fig.2 Effect of methionine on plasma total cholesterol

コレステロール濃度は変わらず、低値のままであった。この結果からは、casein 群に比して gluten 群で血漿コレステロール濃度が低いのは、gluten の栄養価とは関係がないといえる。また Table 3 の結果は市販の固型飼料から LF-gluten にかえても血漿コレステロール濃度は変化しないが、LF-casein にかえると上昇することを示している。したがって gluten が血漿コレステロール濃度を低下させたというよりはむしろ casein が血漿コレステロール濃度を上昇させたといえる。

5. 血漿コレステロール濃度に及ぼす casein へのスレオニンの添加効果

先に 10 % の SPI で 10 日間飼育したラットの空腹時

Table 3. Effect of gluten on plasma total cholesterol

Diet	Age (w) (n)	BW (g)	Cholesterol (mg/dl)
(Initial)	6 (16)	238±2	42±1
LF-Casein	8 (4)	349±7	62±6
LF-Casein+Lys	8 (4)	349±9	55±3
LF-Gluten	8 (4)	322±7*	46±1*
LF-Gluten+Lys	8 (4)	341±12	44±2*

Mean±SE Duration of feeding, 2W

*p<0.05 against LF-Casein

Table 4. Effect of threonine supplementation to low fat-casein diet on plasma total cholesterol

Age (w)	Thr supplement		BW (g)		Cholesterol (mg/dl)	
	Duration (w)	Amount (%)	Control	Thr	Control	Thr
9	5	1.25	303±5	290±6	44±2	38±3
12	2	2.5	372±9	341±8	38±2	40±3
16	1.5	0.625	433±10	422±11	38±1	45±1

Mean±SE for 8~10 rats

の血漿遊離アミノ酸濃度をしらべた際に、SPIのアミノ酸パターンを反映して Met の濃度の低下がみられたが、第二制限アミノ酸である Thr は casein で飼育したラットに比して上昇することが見出された。しかし SPI に Met を補足すると Thr 濃度は顕著に低下したり。菅野らは食餌にコレステロールを添加すると血漿 Thr 濃度が低下することを報告している⁹⁾。これらの結果を総合して考えると、血漿コレステロール濃度と血漿 Thr 濃度との間に逆相関関係が示唆されるので casein 食に Thr を添加して血漿コレステロール濃度におよぼす影響をしらべた。4 週齢のラットを 10 匹ずつ 2 群にわけて、一方には CF-casein を、他方には Thr を 1.25 % 添加した LF-casein を粉末状で与えて 5 週間飼育した。Table 4 に示すように Thr の添加によって血漿コレステロール濃度は変化しなかった。さらに Thr 濃度を 2.5%, 0.625% と変化させたが、いずれの場合にも Thr は血漿コレステロール濃度を変化させなかった。

ところで、Table 4 と Table 3 の LF-casein 群の血漿コレステロール濃度を比較すると明らかに Table 4 の方が低い。Table 3 と 4 の実験系のちがいは 3 では飼料に水を加えて団子状で与え、4 では水を加えずに粉末状で与えた点である。この差の原因は現在検討中であるが、Thr の効果も LF-casein が血漿コレステロール濃度を上昇させる条件で再検討する必要がある。

以上を要約すると、高脂肪 SPI 食で長期間飼育したラットの血漿コレステロール濃度は、高脂肪 casein 食あるいは低脂肪 casein 食で飼育したラットに比して顕著に低かった。低脂肪 casein 食から高脂肪 SPI 食に切り換えると、1 週間後には血漿コレステロール濃度が有意に低下した。SPI のコレステロール低下作用と栄養価との関連性を検討したが確定できなかった。しかし

gluten の血漿コレステロールの低下作用と栄養価とは関係がないと結論された。

文 献

- 1) 林 伸一, 村上安子, 原 淑子, 野口民夫 (1981): 肝オルニチン脱炭酸酵素活性を指標とする分離大豆たん白質の栄養価評価 (その2). 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 58-61.
- 2) 芦田 淳 (1981): 分離大豆たん白質と脂質代謝. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 27-30.
- 3) HAMILTON, R.M.G., and CARROLL, K.K. (1976): Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, low cholesterol diet: Effect of dietary proteins, carbohydrates and fibre from different sources. *Atherosclerosis*, **24**, 47-62.
- 4) KATO, N., MOCHIZUKI, S., KAWAI, K., and YOSHIDA, A. (1982): Effect of dietary level of sulfur-containing amino acids on liver drug-metabolizing enzymes, serum cholesterol and urinary ascorbic acid in rats fed PCB. *J. Nutr.*, **112**, 848-854.
- 5) KIM, D.N., LEE, K.T., REINER, J.M., and THOMAS, W.A. (1978): Effect of a soy protein product on serum and tissue cholesterol concentrations in swine fed high-fat, high-cholesterol diet. *Exp. Molec. Pathol.*, **29**, 385-399.
- 6) 菅野道廣, 永田保夫 (1981): 分離大豆たん白質のラット血清コレステロール濃度低下作用(II). 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 45-51.