

血中コレステロール濃度に及ぼす分離大豆たん白 質及びカゼインのサクシニル化の影響

EFFECT OF SUCCINYLATION OF SOY PROTEIN ISOLATE (SPI)
AND CASEIN ON PLASMA CHOLESTEROL CONCENTRATION IN
RATS.

佐伯 茂・桐山修八（北海道大学農学部）

Shigeru SAEKI and Shuhachi KIRIYAMA

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060.

ABSTRACT

Plasma cholesterol concentration (p-chol) of rats fed a 20% casein diet for 10 days was significantly higher than that of rats fed a soy protein isolate (SPI) diet. Three days after crossing-over of their respective diets, p-chol of each group reached the same level as that of its previous counterpart. When fed a 2% succinylated casein (2% SC) or SPI (2% SS) diet, p-chol level was unchanged in spite of slightly but significantly lowered digestibilities. When the degree of succinylation was increased up to 10% (10% SC or 10% SS), growth rate of rats decreased. The addition of 1% lysine hydrochloride (Lys) to these diets completely improved growth. The addition of Lys to a 10% SS diet significantly increased p-chol above SPI-fed group, but yet it was significantly lower than casein-fed group. Feeding of a 10% SC diet significantly reduced p-chol only after 7 days, but Lys supplementation to this diet induced complete return of p-chol to that of casein-fed group. The addition of cholestyramine (2% and 4% of diet) to a casein or SPI diet had no effect on p-chol. Only when a casein diet was supplemented with 4% cholestyramine, p-chol progressively increased after a small fall for 2 days. From these and previous results in our laboratory, we conclude that the hypocholesterolemic effect of SPI is independent of bile acid binding activity of its undigested residues in the intestinal lumen. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn* 6, 68-75, 1985.

血漿コレステロール (P-chol) 濃度は飼料中のたん白質源の種類で異なり、分離大豆たん白質 (SPI) の場合はカゼインに比べ有意に低いことが知られている¹⁻⁴⁾。この原因として、両たん白質間のアミノ酸組成、アミノ酸配列、消化性などの相違による可能性が指摘されている⁵⁾。一方、SPI 飼料時には胆汁酸類の糞中排泄が増加することから、SPI 飼料中の未消化性残渣が、胆汁酸、コレステロール (chol) の腸肝循環を阻害し、ひいては P-chol を低下させるという推定もなされている⁶⁾。

本研究では、まず、SPI をサクシニル化して水溶性を高め、消化性を変えたとき、P-chol にどのような変化がみられるかを調べた。ついで、胆汁酸の sequestrant として知られているコレステラミンを投与したときの P-chol 変化について調べた。

実験方法

基本飼料の組成は Nagata ら⁶⁾の方法に従い、たん白質源には 20% カゼイン、20% SPI (フジプロ R) を、脂肪源には 1% コーン油を、炭水化物源にはショ糖

を、塩類混合物には Ebihara ら⁷⁾の MMZ を用い、その他ビタミンを十分量含むように調製した。

カゼイン、SPI のサクシニル化は Franzen と Kinsella⁸⁾ の方法に従い、これらをたん白質源とする場合には、基本飼料と N 含量が等しくなるように添加した。サクシニル化の程度は、原料たん白質に対する無水コハク酸の添加量の割合で示した。

実験 1

あらかじめ、カゼイン飼料あるいは SPI 飼料(各 10 匹)を与え、途中 P-chol 濃度を測定し、両群間で有意差があることを確認した。10 日目に飼料を交換して与え、以後経日的(10, 11, 12, 13, 14, 17 日目)に P-chol 濃度の変化を追跡した。

実験 2

あらかじめ、カゼイン飼料で 3 群(各 6 匹)を、SPI 飼料で 2 群(各 6 匹)を 10 日間飼育し、途中 P-chol 濃度を測定した。10 日目にカゼイン飼料群には、カゼイン、2% サクシニル化カゼイン(2% SC)あるいは無たん白質飼料を、SPI 飼料群には、SPI あるいは 2% サ

クシニル化 SPI(2% SS)飼料を与え、さらに 7 日間飼育し、P-chol 濃度およびたん白質消化率を測定した。

実験 3

あらかじめ、カゼイン飼料(5 匹)または SPI 飼料(20 匹)で 8 日間飼育し、途中 P-chol 濃度を測定した。8 日目にカゼイン飼料群は同一飼料を与えつづけ、SPI 飼料群は 4 群(各 5 匹)に分け、SPI、2% SS、6% SS あるいは 10% SS 飼料を与え、以後経日的(8, 9, 10, 11, 15 日目)に P-chol 濃度を測定した。15 日目にサクシニル化による有効性リジンの減少を補う目的で、全飼料にそれぞれ 1% Lys・HCl を補足し、再び経日的(16, 17, 18, 20, 22 日目)に P-chol 濃度を測定した。

実験 4

あらかじめ、カゼイン飼料(20 匹)または SPI 飼料(5 匹)で 14 日間飼育し、途中 P-chol 濃度を測定した。14 日目に SPI 飼料群には同一飼料を与えつづけ、カゼイン飼料群を 4 群(各 5 匹)に分け、カゼイン、2% SC、6% SC、あるいは 10% SC 飼料を与え、以後実験 3 と同様の操作をおこなった。

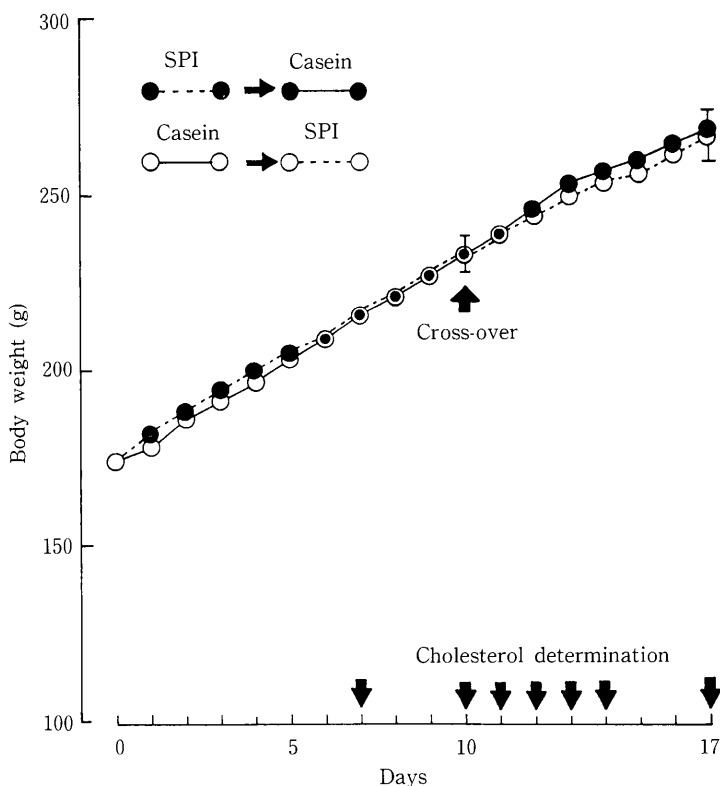


Fig. 1. Change in body weight of rats fed either a 20% casein or SPI diet. The diets were crossed-over at day 10. Vertical bars represent SEM (Exp. 1, n=10/group).

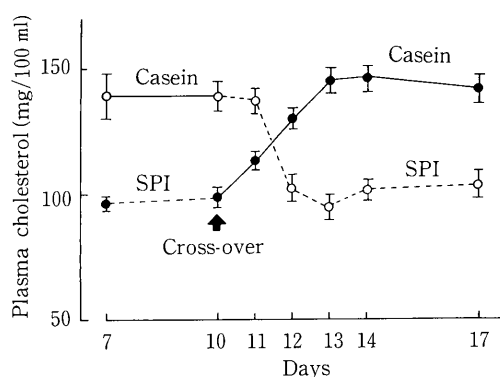


Fig. 2. Change in the plasma cholesterol concentration of rats fed either a casein or SPI diet. Vertical bars represent SEM (Exp. 1, n=10/group).

実験 5

あらかじめカゼイン飼料(18 匹)または SPI 飼料(18 匹)で 12 日間飼育し、途中 P-chol 濃度を測定した。12 日目に両群ともそれぞれ 3 群(各 6 匹)に分け、各飼料にコレステラミン(CI-型)を 0%, 2% あるいは 4% 添加し、以後経口的(12, 13, 14, 15, 16, 18, 20 日目)に P-chol 濃度を測定した。

全実験を通じて、P-chol 濃度は尾静脈血約 50 μ l から得た血漿 10 μ l を用いて、久城ら⁹⁾の方法に従って測定した。有意差の検定は Duncan の multiple range test ($p < 0.05$)によっておこなった。必要に応じて t-

test も用いた。

結果と考察

実験 1

Fig. 1 に示したように、カゼイン飼料と SPI 飼料との間で成長速度に差はなかった。P-chol 濃度はカゼイン飼料群で有意に高いことが再確認された (Fig. 2)。両群の飼料をそれぞれ相手側の飼料にとり換えると、P-chol レベルは 2 ~ 3 日で変化し、カゼイン飼料から SPI 飼料に換えると SPI 飼料群のレベルまで下がり、SPI 飼料からカゼイン飼料に換えるとカゼイン飼料群

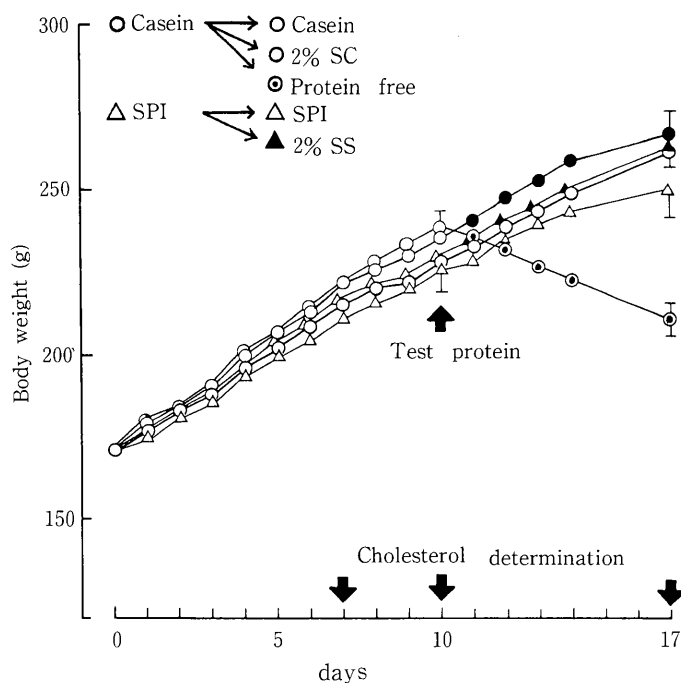


Fig. 3. Change in body weight of rats fed diets containing succinylated proteins (degree of succinylation, DS=2%) after feeding a casein or SPI diet for 10 days. Vertical bars represent SEM (Exp. 2, n=10/group).

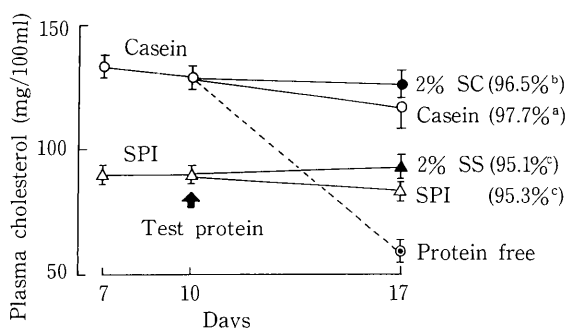


Fig. 4. Change in the plasma cholesterol concentration of rats before and after feeding diets containing succinylated proteins (DS=2%). Figures in parentheses indicate true digestibilities of dietary proteins. Values not sharing a common superscript letter are significantly different ($p < 0.05$). Vertical bars represent SEM (Exp. 2, $n = 5$ /group).

のレベルまで上昇し、以後両群とも一定値を保った。このように P-chol 濃度は、その時々飼料たん白質源に特有のレベルに急速に到達し、その後比較的長期間（少なくとも 3 週間）は一定に維持されていることがわかった。しかも、この現象は再現性が高かった。

実験 2

2% サクシニル化により、カゼイン、SPI とともに水溶性が増し、物性変化がみられた。消化性は 2% SC 飼料でのみ有意に低下したが (Fig. 4), 成長には影響なく (Fig. 3), また P-chol 濃度にも変化はみられなかった

(Fig. 4)。

実験 3

ここでは SPI のサクシニル化の程度を変えて実験をおこなった。2% SS 飼料は実験 2 と同様に SPI 飼料群と同様の速度で成長したが、6% SS, 10% SS 飼料群では下痢便を伴った成長抑制がみられ (Fig. 5), 消化率あるいは Lys 利用率の低下が推定された。これらの飼料に 1% Lys·HCl を補足したところ、下痢が止まり、成長速度は SPI 飼料群と同程度にまで回復した。したがって、6% SS や 10% SS 飼料ではたん白質全

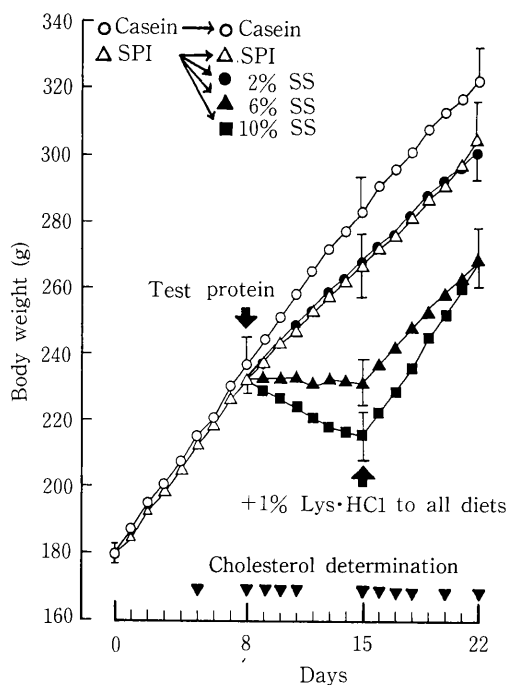


Fig. 5. Change in body weight of rats fed diets containing SPI with various degree of succinylation (DS=2, 6 and 10%, respectively), including a casein diet-fed group. Vertical bars represent SEM (Exp. 3, $n = 5$ /group).

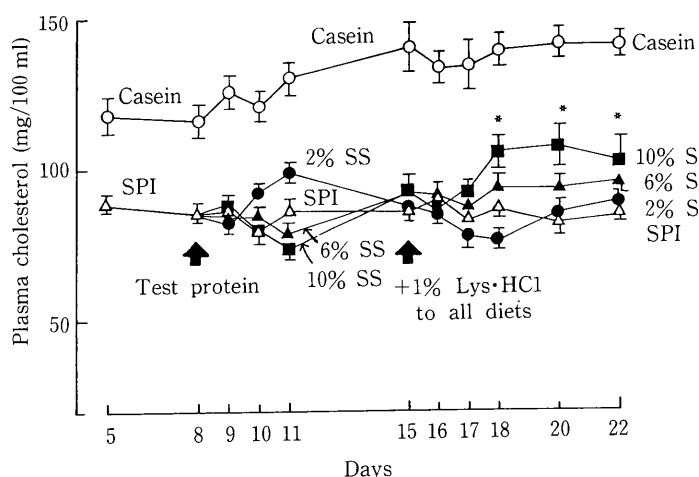


Fig. 6. Change in the plasma cholesterol concentration of rats fed diets containing SPI with various degrees of succinylation (DS=2, 6 and 10%, respectively), including a casein diet-fed group. Vertical bars represent SEM (Exp. 3, n=5/group).

体の消化率が低下したというよりも、主として有効性
Lys 含量の低下が起こっていたものと思われた。

SPI 飼料群の P-chol 濃度は全実験期間を通じてほ

ぼ一定で、カゼイン飼料群に比べ常に有意に低かった
(Fig. 6)。6% SS または 10% SS 飼料を与えたとき、
成長が低下したにもかかわらず、P-chol 濃度は SPI 飼

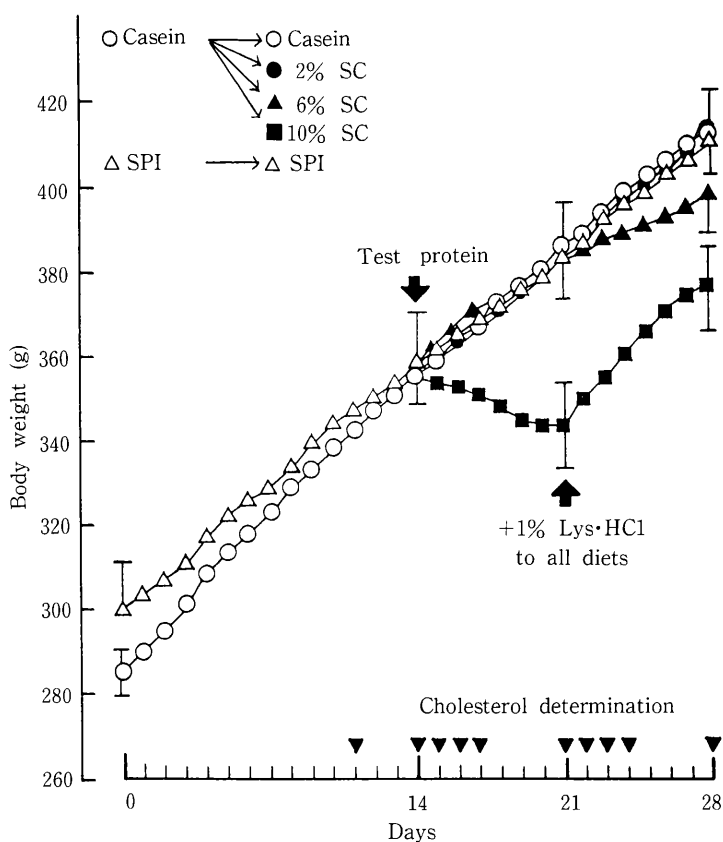


Fig. 7. Change in body weight of rats fed diets containing casein with various degrees of succinylation (DS=2, 6 and 10%, respectively), including a SPI diet-fed group. Vertical bars represent SEM (Exp. 4, n=5/group).

料群レベルより低下することはなかった。これは実験 2 (Fig. 4) の無たん白飼料で成長が低下したとき、P-chol 濃度が著しく低下したと対照的であった。15 日目に 1% Lys・HCl を全飼料に補足したところ、10% SS 飼料群でのみ、18, 20, 22 日目 (Lys 添加 3, 5, 7 日目に対応) の P-chol 濃度が SPI 飼料群に比べ有意に上昇した (Fig. 6)。しかし、SPI, 2% SS または 6% SS 飼料群では Lys 添加による影響はみられず、以前報告された Arg/Lys 比が低下するとき P-chol が上昇する¹⁾という関係はみとめられなかった。

実験 4

ここではカゼインのサクシニル化の程度を変えて実験をおこなった。6% SC 飼料群では実験 3 の 6% SS 飼料群の場合 (Fig. 5) と異なり、成長低下はみられなかったが、10% SC 飼料群では下痢便を伴った成長低下がみられた (Fig. 7)。21 日目に 1% Lys・HCl を全飼料に補足したところ、10% SC 飼料群の成長は有意に改善され (Fig. 7)、下痢も阻止された。

カゼイン飼料群の P-chol 濃度は、全実験期間を通じて SPI 飼料群より有意に高かった (Fig. 8)。10% SC 飼料群の P-chol 濃度は成長低下に伴って低下し、21 日目 (10% SC 飼料 7 日目に対応) ではカゼイン飼料群と比べて有意に低かったが、SPI 飼料群と比べると依然として有意に高いままであった。21 日目に 1%

Lys・HCl を全飼料に補足したところ、10% SC 飼料群の P-chol は上昇しはじめ、22 日目 (Lys 添加 1 日目に対応) 以後はカゼイン飼料群と同レベルに戻った。

実験 5

カゼイン飼料と SPI 飼料にそれぞれ 2% あるいは 4% レベルでコレステラミンを添加しても成長速度に変化はみられなかった (Fig. 9)。P-chol 濃度も経日的に追跡したが、カゼイン飼料群では SPI 飼料群より常に有意に高く、低下傾向はみとめられなかった (Fig. 10)。4% コレステラミンを添加したカゼイン飼料群では、むしろ P-chol 濃度が次第に上昇し、18 日目 (コレステラミン添加 6 日目に対応) 以降はカゼイン飼料群より有意に高くなった。4% コレステラミンを添加した SPI 飼料群でも同様に、P-chol 濃度が低下することはなく、有意ではないが、むしろ上昇傾向がみられた。コレステラミンが胆汁酸の sequestrant であることはよく知られている¹⁰⁾。また、コレステラミン投与では糞中ステロイド排泄が増加するばかりでなく¹¹⁾、それに伴い肝臓でのコレステロール合成が著しく促進される¹²⁾。カゼイン飼料に 4% コレステラミンを添加したとき P-chol 濃度が上昇しはじめたのは、糞中ステロイド排泄増加に対応した代償的合成亢進によるものかもしれない。これらの結果から、P-chol レベルに対する SPI の効果は、糞中ステロイド排泄の促進による

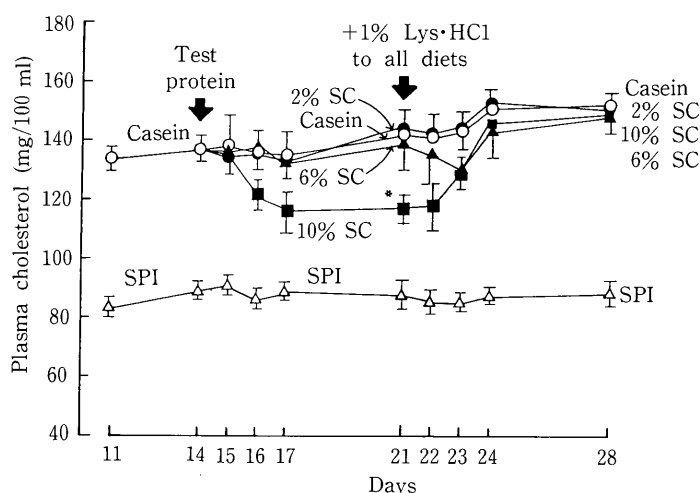


Fig. 8. Change in the plasma cholesterol concentration of rats fed diets containing casein with various degrees of succinylation, (DS=2, 6 and 10%, respectively). Vertical bars represent SEM (Exp. 4, n=5/group).

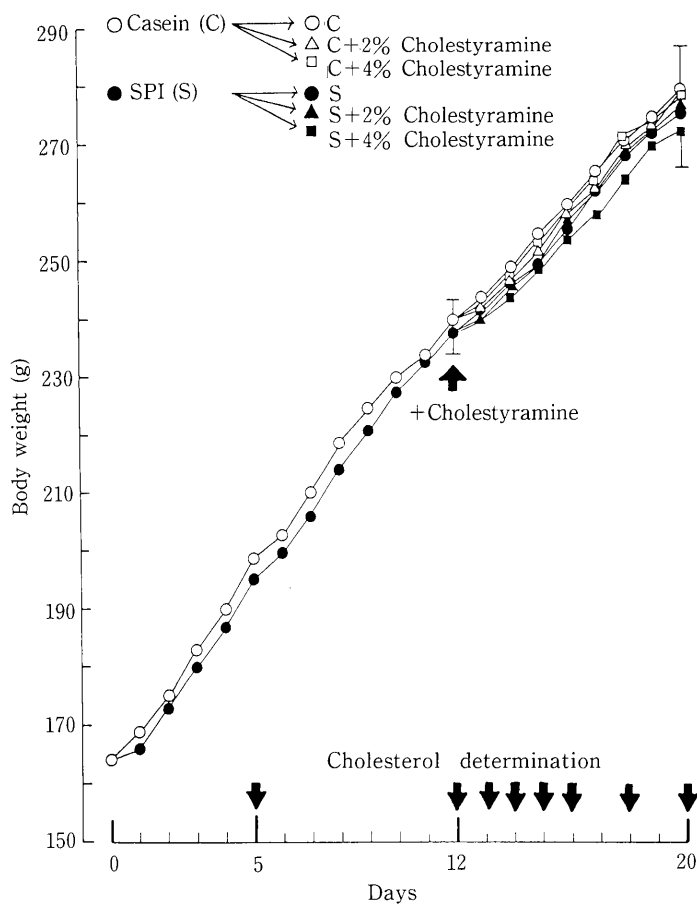


Fig. 9. Change in body weight of rats fed either a casein or SPI diet with or without the addition of cholestyramine (2 and 4%). Vertical bars represent SEM (Exp. 5, n=6/group).

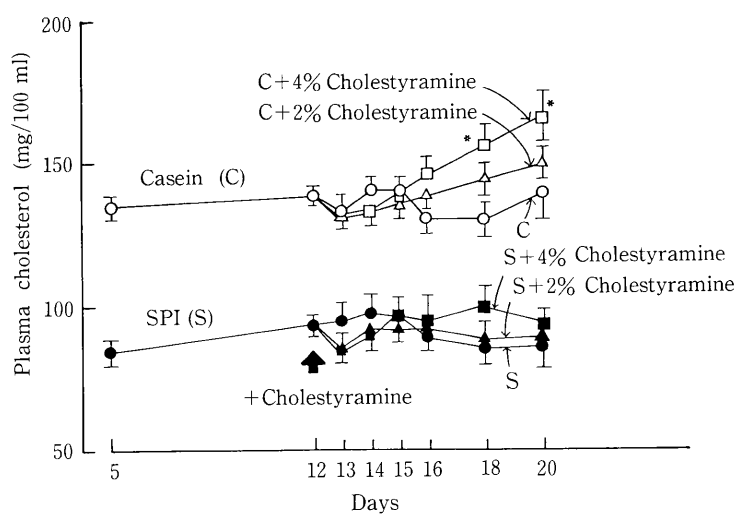


Fig. 10. Change in the plasma cholesterol concentration of rats fed a casein or SPI diet with or without the addition of cholestyramine (2 and 4%). Vertical bars represent SEM (Exp. 5, n=6/group).

とは考えにくい。胆汁酸の再吸収の場である回腸を切除したラットを用いて、カゼイン飼料時と SPI 飼料時の P-chol 濃度を比較した実験でも、SPI 飼料で常に有意に低かった(佐伯ら, 1985)。この事実も上記の結論と符合する。したがって、カゼインと SPI の P-chol レベルに対する影響の違いは、代謝レベルで生じる何らかの相違によるものと考えられる。

文 献

- 1) Kritchevsky, D. (1979): Vegetable protein and atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 135-140.
- 2) Yadav, N. R. and Liener, I. E. (1977): Reduction of serum cholesterol in rats fed vegetable protein or an equivalent amino acid mixture. *Nutr. Rep. Int.*, **16**, 385-389.
- 3) Carroll, K. K. and Hamilton, R. M. G. (1975): Effect of dietary protein and carbohydrate on plasma cholesterol levels in relation to atherosclerosis. *J. Food Sci.*, **40**, 18-23.
- 4) Nagata, Y., Imaizumi, K. and Sugano, M. (1980): Effects of soya-bean protein and casein on serum cholesterol levels in rats. *Br. J. Nutr.*, **44**, 113-121.
- 5) West, C. E., Beyan A. C., Terpstra, A. H. M., Scholz, K. E., Carroll, K. K. and Woodward, C. J. H. (1983): The nature of dietary protein and serum cholesterol. *Atherosclerosis*, **46**, 235-256.
- 6) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M. (1982): Studies on the mechanism of anti-hypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixture in relation to the casein counterparts in rats. *J. Nutr.*, **112**, 1614-1625.
- 7) Ebihara, K., Imamura, Y. and Kiriya, S. (1979): Effect of dietary mineral composition on nutritional equivalency of amino acid mixtures and casein in rats. *J. Nutr.*, **109**, 2106-2116.
- 8) Franzen, K. L. and Kinsella, J. E. (1976): Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 788-795.
- 9) 久城英人, 水口葉子, 福井 巖(1972): 血清脂質の超微量定量法に関する検討. その 1 コレステロール. 臨床病理, **20**, 573-576.
- 10) Howard A. E. (1975): Drugs used in the prevention and treatment of atherosclerosis, in "The Pharmacological Basis of Therapeutics", ed. by Goodman, L. and Gilman, A., Macmilan Publishing Co., Inc., New York, pp. 744-752.
- 11) Mittinen, T. A. and Lempinen, M. (1977): Cholestyramine and ileal by-pass in the treatment of familial hypercholesterolaemia. *Eur. J. Clin. Invest.*, **7**, 509-514.
- 12) Spady, D. K., Turley, S. D. and Dietschy, J. M. (1985): Rates of low density lipoprotein uptake and cholesterol synthesis are regulated independently in the liver. *J. Lipid Res.*, **26**, 465-472.