

ステロール排泄に対する食餌たん白質の効果

EFFECTS OF DIETARY PROTEIN ON FECAL STEROL EXCRETIONS

山下洵子・上村美和子・藤多淑子・林 伸一（東京慈恵会医科大学）

Junko YAMASHITA, Miwako KAMIMURA, Yoshiko FUJITA and Shin-ichi HAYASHI

Department of Nutrition, The Jikei University School of Medicine, Tokyo 105

ABSTRACT

1. Male Sprague-Dawley rats were maintained on various diets and plasma cholesterol levels and sterol excretions in feces were compared at 9, 13, and 29 weeks of age. 2. Plasma cholesterol level was highest in rats fed 25% casein, lowest in rats fed either 25% SPI or laboratory chow, and within medium range in rats fed either 50% casein or 25% gluten. 3. In general, fecal excretions of both neutral and acidic sterols were smallest in rats fed 25% casein, largest in rats fed laboratory chow, second largest in rats fed 25% SPI, and within medium range in rats fed either 50% casein or 25% gluten. 4. The inverse correlation observed between plasma cholesterol level and fecal excretion of sterols indicated that the hypocholesterolemic effect of SPI or of laboratory chow is mainly mediated by increased excretion of sterols into feces. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 7, 76-79, 1986.

大豆たん白質の血漿コレステロール低下作用の機構に関してはいくつかの学説があるもののいまだ明確でない。一般に同組成のアミノ酸混合物は大豆たん白質自身に比して効果が少ないと報告されていること¹⁾などの根拠から、大豆たん白質の腸管内における消化特性が降コレステロール作用に関係する可能性が大きい。さらに、多くの植物たん白質、とくに大豆たん白質には糞へのステロール排泄を増加させる作用があることが知られており、降コレステロール作用との関連性が注目されている²⁻⁴⁾。私共はこれまでの研究で、分離大豆たん白質(SPI)、グルテン、ソエインなどの植物たん白質はカゼインに比してラットの腸通過時間を短縮させる傾向を示すとともに、糞の中性ステロール排泄を増加させることをみとめた^{5,6)}。今回は中性ステロールのみならず酸性ステロール（胆汁酸とその誘導体）の糞への排泄に対する食餌たん白質の効果について検討した。

実験方法

実験動物は日本クレアより購入した雄の Sprague-

Dawley 系ラットを使用し、8週齢より実験飼料で飼育した。合成実験飼料の組成を Table 1 に示す。たん白質としては、カゼイン（石津製薬）、SPI（不二製油フジプロ R）、または小麦グルテン（和光純薬）を用いた。デキストリンは石津製薬より、油混合（大豆白紋油 4：肝油 1）はオリエンタル酵母より入手した。飼育は恒温、恒湿、人工照明（9：00—21：00点灯）の動物室で行い、飼料と水は自由に摂取させた。

血漿コレステロール濃度は、尾静脈より採取した血液を稀釈後遠沈した上清について和光純薬の酵素測定試薬によって総コレステロールを測定し、血液 100 ml あたりの血漿コレステロールの mg 数としてあらわした。糞の中性コレステロール分析は、2 日分の乾燥糞 1 g より Miettinen らの方法⁷⁾に準じて不鹸化物をガスクロで分析して測定したが、薄層クロマトグラフ分画の操作は省略した。糞の酸性ステロール分析は、上述試料の鹸化物画分を日立の胆汁酸分析系 HPLC で分画し、固定化 3 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素カラムを通したのち蛍光測定を行った。この方法により、16種類の胆汁酸塩誘導体の分離定量が可能である。

各ピークの同定と定量は標準物質（テクノケミカルの15種胆汁酸およびSigmaのヒオデオキシコール酸）を用いて行った。

Table 1. Composition of experimental diets (%)

	25% Protein	50% Protein
Protein	25	50
Dextrin	66	41
Oil mixture	2	2
Vitamin mixture	1	1
Salt mixture	4	4
Cellulose	2	2

結 果

8週齢より20週間以上にわたって各種の実験飼料で飼育したラットの血漿コレステロール濃度の推移をFig. 1に示す。25% カゼイン食では期間中の血漿コレステロール濃度の上昇がもっとも顕著であった。同じたん白含量(25%)のSPIでは上昇がほとんどみとめられず、グルテンでは中間の上昇率がみられた。市販固型食ではSPIと同程度に上昇が抑制された。50%カゼイン食では25%カゼイン食に比してコレステロール上昇がかなり抑制された。

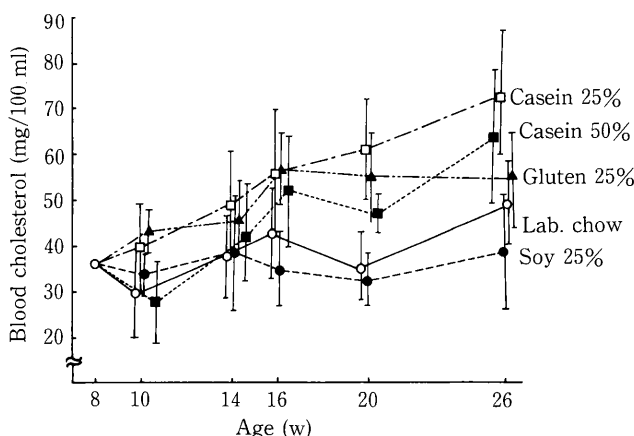


Fig. 1. Effects of dietary proteins on plasma cholesterol level of rats. Values are means $\pm$ SD for 6 rats.

9, 13, および29週齢の時点で各2日分の糞を採取し、中性および酸性ステロールの分析を行った結果をTable 2およびFig. 2に示す。中性および酸性ステロールを合計した全ステロール排泄量は、いずれの週齢においても25%カゼイン食でもっとも少く、以下50%カゼイン、グルテン、SPI、市販固型食の順に増加した。この傾向は中性と酸性のいずれのステロールにおいてもみとめられた。市販固型食ではSPI群の約4倍のステロール排泄があることは注目に値する。このように、血漿コレステロール濃度と糞へのステロール排泄量との間に逆相関関係がみとめられたことは両者の因果関係を示すものと考えられる。

次に各ステロール排泄の内訳(Table 2)をみると、まず中性ステロールではコレステロール排泄量には各食餌の間で大差はないがコプロスタノール排泄量に顕著な差のあることが注目される。なお、コレステロールとコプロスタノールのほかにもいくつかの成分がみとめられたが、これらは未同定であるとともに飼料由来の植物ステロールの可能性もあるので中性ステロ-

ール総量の計算値には含めなかった。これら他成分の量はカゼイン食ではコレステロールとコプロスタノールの合計とほぼ等しく、SPI食ではその約2倍であった。したがって、これら他成分を加算した合計量で比較しても、中性ステロール排泄量は25%SPI食群の方が25%カゼイン食群よりはるかに大きいといえる。

一方、酸性ステロールではグリコール酸、デオキシコール酸のほか、ヒオデオキシコール酸、リトコール酸などがみとめられたが、グリコール酸が量的にもっとも多く、食餌による変動も最大であった。

考 察

今回の実験の結果、25%カゼイン食群ラットに比して25%SPI食群ラットでは中性および酸性ステロールの排泄がいずれも顕著に増加することが確かめられた。大豆たん白質のこのような効果はこれまでにウサギ²⁾、ブタ³⁾、およびラット⁴⁾で報告されているが、今回の実験ではさらに25%グルテン食、50%カゼイン食ならびに固型飼料の場合をふくめ、血漿コレステロ-

Table 2. Effect of diets on fecal sterol excretions in rats

(mg/day)

Diets	Neutral sterols			Acidic sterols				Total sterols (a + b)
	Coprostanal	Cholesterol	Total(a)	Glyco- cholate	Deoxy- cholate	Others	Total(b)	
[9 weeks]								
Casein 25%	0.31	1.48	1.79	1.12	0.05	0.15	1.32	3.11
Casein 50%	1.01	1.38	2.39	3.22	0.22	0.26	3.70	6.09
SPI 25%	3.04	2.33	5.37	5.53	0.63	0.66	6.82	12.19
Gluten 25%	1.44	2.26	3.70	5.45	0.23	0.35	6.03	9.73
Lab. chow	7.73	3.73	11.5	28.4	2.13	5.61	36.2	47.6
[13 weeks]								
Casein 25%	0.12	1.49	1.61	2.42	0.17	0.36	2.95	4.56
Casein 50%	0.59	2.24	2.82	1.22	0.31	0.61	2.14	4.96
SPI 25%	1.87	1.85	3.72	1.36	0.42	0.45	2.23	5.95
Gluten 25%	0.32	2.77	3.09	0.65	0.09	0.16	0.96	3.99
Lab. chow	5.14	2.67	7.81	10.4	2.60	5.89	18.9	26.7
[29 weeks]								
Casein 25%	0.35	1.48	1.82	1.13	0.64	0.70	2.47	4.29
Casein 50%	0.68	1.08	1.75	1.92	1.04	1.86	4.82	6.57
SPI 25%	2.63	1.70	4.34	2.38	2.17	1.93	6.48	10.82
Gluten 25%	0.64	2.41	3.04	3.17	1.43	0.83	5.43	8.47
Lab. chow	6.81	3.38	10.2	13.7	3.69	9.73	27.1	37.3

Each group of 6 rats was divided into 2 subgroups of 3 rats each. Feces of each subgroup was assayed for sterols in duplicate. Each value in the table is the mean of the values for the two subgroups.

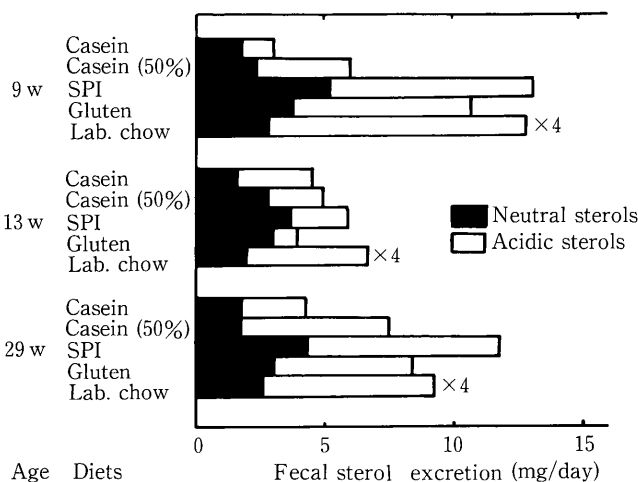


Fig. 2. Fecal sterol excretions of rats fed various diets.

ル濃度と糞中ステロール排泄量との間に逆の相関が存在することが示された。このことは糞中ステロール排泄の増加が血漿コレステロール濃度低下効果の主要な原因であることを強く支持する成績と考えられる。両効果がともに1週間で充分に発現する事実もこれをうらづけている。

大豆たん白質のステロール排泄促進効果は同一組成

の amino 酸混合物ではまったくみられないことがラット⁴⁾で確かめられているから、大豆たん白質の部分消化ペプチドがステロールの再吸収を阻害して排泄を促進するという作用機構が現時点ではもっとも妥当性が高いと思われる。これに対し、カゼインの消化過程ではこのような作用を有するペプチドの産生が少ないと考えられる。しかしカゼイン摂取量が増加すればこの

ようなペプチドも増えるためにステロール排泄が若干増加して血漿コレステロール濃度も若干低下するのはなかろうか。高カゼイン飼料が血漿コレステロール濃度を抑制することはすでに本研究会会誌に報告されているところである^{5,8)}。

糞中ステロール排泄量に影響しうまいひとつの要因として腸内細菌叢によるステロール代謝が考えられる。事実、今回の実験結果でも、中性ステロール各成分の量比は食餌条件によって大きく変動し、中性ステロール排泄量の増加はほとんどコプロスタノールの増加によっている。しかし、酸性ステロールの成分比は食餌条件の影響をほとんど受けないにもかかわらずその排泄量が大きく変動し、また25%と50%カゼイン食とでは中性、酸性ステロールともに同一成分比のまま量が変化している。したがって、腸内腔におけるステロールの二次代謝の変化が食餌によるステロール排泄の量的変化の主要な要因であるとは考えにくい。

市販固型食投与ラットの糞ステロール排泄量は中性、酸性を問わず格段に大きいことが判った。その有効成分の探求も興味深い課題である。

要 約

- 1) 雄ラットの血漿コレステロール濃度は25%カゼイン食でもっとも高く、50%カゼイン食と25%グルテン食がこれに次ぎ、25%SPI食と市販固型食が最低であった。
- 2) 糞への中性および酸性ステロール排泄量は逆に25%カゼイン食が最小で50%カゼイン食と25%グルテン食がこれに次ぎ、25%SPI食が大きく、市販固型食は最大であった。
- 3) 中性ステロール排泄量の増加はもっぱらコプロスタノールの増加によるものであった。一方酸性ステロールはグリココール酸が最大成分であったが、食餌条件による成分比の変化はなかった。
- 4) 以上の結果から、大豆たん白質や市販固型食による血漿コレステロール濃度低下作用は糞へのステロール排泄促進による可能性が高いと結論した。

文 献

- 1) Huff, M. W., Hamilton, R. M. G. and Carroll, K. K. (1977): Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol-free semipurified diets: Effects of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acid mixtures. *Atherosclerosis*, **28**, 187-195.
- 2) Huff, M. W. and Carroll, K. K. (1980): Effects of dietary protein on turnover, oxidation, and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. *J. Lipid Res.*, **21**, 546-558.
- 3) Kim, D. N., Lee, K. T., Reiner, J. M. and Thomas, W. A. (1980): Increased steroid excretion in swine fed high-fat, high-cholesterol diet with soy protein. *Exp. Mol. Pathol.*, **33**, 25-35.
- 4) Nagata, Y., Tanaka, K. and Sugano, M. (1981): Further studies on the hypocholesterolaemic effect of soya-bean protein in rats. *Br. J. Nutr.*, **45**, 233-241.
- 5) 藤多淑子, 村上安子, 林 伸一 (1983): 分離大豆たん白質による血漿コレステロール低下作用の機序. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **4**, 85-88.
- 6) 林 伸一, 藤多淑子, 山下洵子, 村上安子 (1985): 腸通過時間, ステロール排泄, および血漿コレステロール濃度に及ぼす食餌たん白質の影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **6**, 80-84.
- 7) Miettinen, T. T., Ahrens, E. H., Jr. and Grundy, S. M. (1965): Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J. Lipid Res.*, **6**, 411-424.
- 8) 小篠 栄, 田中武彦 (1981): 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. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 41-44.