

脳卒中易発症ラットの血小板凝集におよぼす SPI ならびに EPA の影響

EFFECTS OF EPA AND SPI ON PLASMA LIPIDS AND PLATELET
FUNCTION IN SHRSP

江 孟燦・駒井三千夫・木村修一（東北大学農学部）

Meng-Tsan CHIANG, Michio KOMAI and Shuichi KIMURA

Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 980

ABSTRACT

Epidemiological studies suggest that high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a precursor of the trienoic prostaglandins, is associated with low incidence and reduced extent of myocardial infarction. A highly concentrated EPA (78% of EPA, ethylester form), manufactured from sardine oil, was administered to SHRSP (stroke-prone spontaneously hypertensive rats) for 4 weeks. Casein or SPI (soy protein isolate) was used as protein source in the experimental diet. In the experiment using casein diet, significant decreases in blood pressure, triglyceride and cholesterol in plasma and platelet count in SHRSP were observed at 4 weeks after EPA treatment, but no significant difference was found in SPI diet. Also a similar effect of EPA on plasma lipid level and platelet aggregation was observed in Wistar-Kyoto (WKY). Platelet count in WKY was observed to be contrast to SHRSP after EPA treatment. WKY fed casein diet with EPA supplement had higher platelet count than those fed diet without EPA supplement. The reason for this contrast phenomenon is not clear. The supplement of methionine to SPI diet induced the lowering effect of EPA on the blood pressure, triglyceride, cholesterol, platelet count and platelet aggregation. Besides, the ratio of EPA to arachidonic acid in plasma was higher in rats fed methionine supplemented SPI diet than those fed the diet without methionine. These facts suggest that the amino acid profile is related to the effective utilization of EPA. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn* 8, 46-51, 1987.

これまでの疫学的研究によって、生活習慣、とくに食事条件が高脂血症、高血圧症、脳血管障害、動脈硬化症などと関連していることが示されている¹⁾。したがって、食事による脂質代謝の改善は循環器系疾患の予防に最も効果的なものと考えられる。1974年に岡本らによって開発された脳卒中易発症ラット (SHRSP) は²⁾、この方面の研究に好適な材料を提供し、大きな成果が上げられている。一方、魚介類に含まれている高度不飽和脂肪酸 (エイコサペンタエン酸 [EPA] 等) は血栓症の予防に効果をもつことが報告されている³⁾。

昨年度までの研究において、SHRSP ならびにその

対照ラットである Wistar-Kyoto (WKY) における血小板凝集が、食餌たん白質源によってどのような差があるかを検討し結果、SHRSP では血小板凝集はきわめて弱く、カゼイン食と分離大豆たん白質 (SPI) 食の間に有意な差を見出すことができなかった。しかし、WKY では SPI 食の方がカゼイン食よりも有意に低いことが認められた⁴⁾。今回はさらにこれを発展させる目的で EPA の血小板凝集能に対する影響を検討するとともに、この場合食餌中たん白質源の相違がこれにどのように関わっているのかについても追求することにした。昨年度と同様、SHRSP および WKY を食餌

中たん白質源として SPI およびカゼインを含む実験食で飼育し、成育、血圧、血小板凝集などについて比較検討した。また、SPI のアミノ酸組成に着目して SPI にメチオニンを補足した場合の影響についても検討した。

方 法

実験1 たん白質源の差による EPA の影響

実験動物としては雄性 SHRSP および WKY を用いた。基本食には、たん白質源として20%のカゼインまたはSPIを用い、脂質としてはバターを用いた (Table 1)。また、飲水としてはどの群にも1% NaCl 溶液を与えた。実験群には、この基本食に EPA 濃縮物 (EPA を78%含む) 4%を添加した群 (EPA 添加群) と添加していない群 (対照群) を設けた (計8群)。どの実験群についても30日間自由摂取させた後屠殺し、測定した。

結 果

成育については、SHRSP と WKY の両系統のラットにおいていずれも SPI に EPA を添加した群 (SPI+EPA) が他の3群と比べて劣ることがわかった (Fig. 1, 2)。血圧 (Fig. 3)、血小板凝集能 (Fig. 4)、そして血漿トリグリセリド値および血小板数は、SHRSP のカゼイン食では EPA の添加によりいずれも低下することを認めた。しかし、SPI 食ではこうした EPA の添加効果はみられなかった。WKY の場合カゼイン食では、EPA 添加により血小板凝集能 (Fig. 5) および血漿トリグリセリド値の低下が観察されたが、血圧の低下 (Fig. 3) および血小板数の減少は認められなかった。

また血漿脂質の EPA/AA 比をみると SHRSP, WKY とともに SPI 食に比べカゼイン食で大きく、Table 2)、カゼイン食の方が EPA の体内吸収がたかいことを示唆する結果をえた。

方 法

実験2 SPI へのメチオニン (Met) 補足による影響

雄性 SHRSP および WKY を実験動物として用い、両系統のラットに (1) カゼイン、(2) カゼイン+EPA、(3) SPI、(4) SPI+EPA、(5) SPI+Met+EPA の5つの実験食を与えた (計10群)。飲水と飼育期間については実験1と同様である。

結 果

成育については、SHRSP および WKY の両系統と

Table 1. Composition of basal diet (%)

Casein or SPI	20
Mineral mix.	4
Vitamin mix.	2
Cholesterol	0.5
Cholic acid	0.25
Butter	10
Corn starch	up to 100

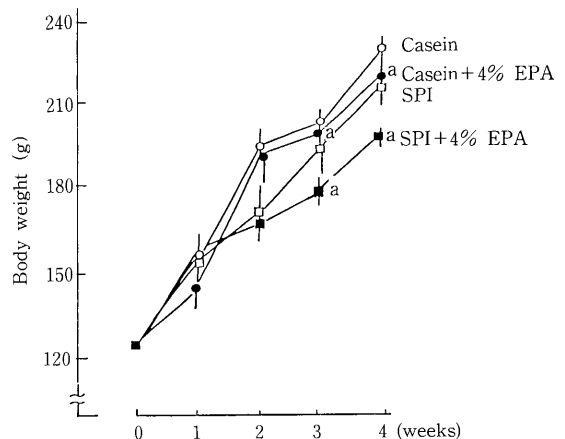


Fig. 1. Changes of body weight in SHRSP receiving the experimental diets and 1% NaCl solution for 30 days. Vertical bars represent SD. The same superscript letter shows significant difference ($p < 0.005$).

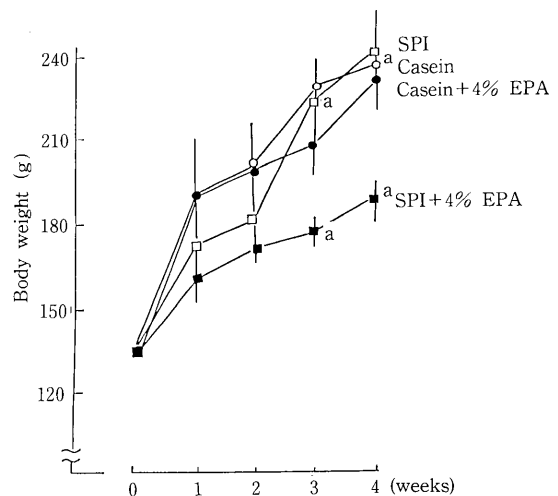


Fig. 2. Changes of body weight in WKY receiving the experimental diets and 1% NaCl solution for 30 days. Vertical bars represent SD. The same superscript letter shows significant difference ($p < 0.005$).

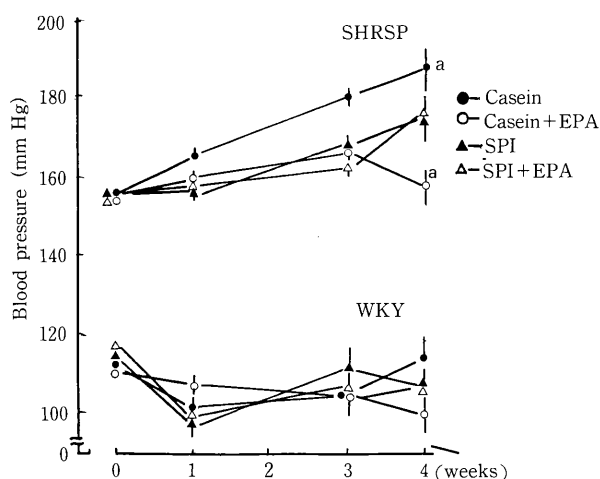


Fig. 3. Change of blood pressure in SHRSP or WKY receiving the experimental diets and 1% NaCl solution for 30 days. Vertical bars represent SD. The same superscript letter shows significant difference ($p < 0.005$).

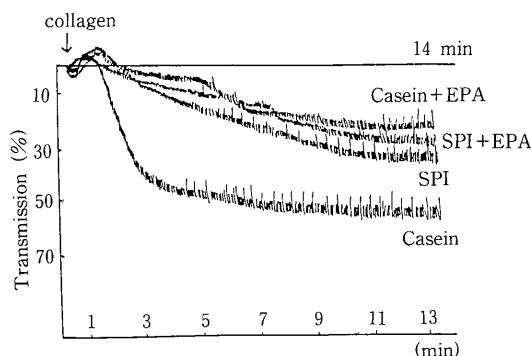


Fig. 4. Effect of EPA on the platelet aggregation in SHRSP fed experimental diets for 30 days. Citrated PRP (platelet rich plasma) from rats was preincubated for 2 min at 37°C, then the platelet response to collagen (60 $\mu\text{g/ml}$) was tested.

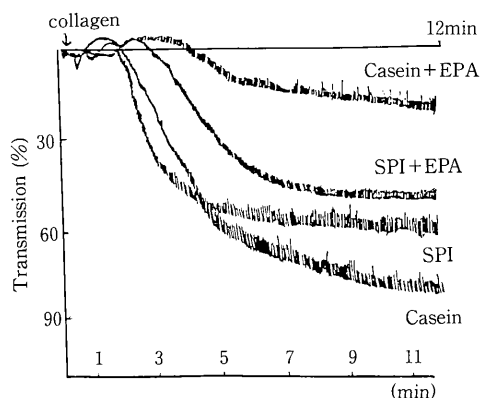


Fig. 5. Effect of casein or SPI on the platelet aggregation in WKY. Citrated PRP from rats was preincubated for 2 min at 37°C, then the platelet response to collagen (60 $\mu\text{g/ml}$) was tested.

Table 2. Ratio of EPA to AA in the plasma from SHRSP and WKY

	EPA/AA	
	SHRSP	WKY
A. Casein+EPA	0.92 ± 0.05^c	0.78 ± 0.06^i
B. SPI+EPA	0.61 ± 0.16^{cd}	0.40 ± 0.11^{ij}
C. SPI+EPA+Met	1.08 ± 0.24^d	1.73 ± 0.56^j

Data are mean $\pm$ SD and values in the same column of each experiment with the same superscript letter are significantly different (cdij $p < 0.005$)

も SPI 食で EPA 添加によって成育が劣るが、SPI にメニオンを添加した群 (SPI+Met+EPA) では成育が改善されることが認められた (Fig. 6, 7)。血圧は、SHRSP における SPI 食の場合は EPA 添加だけでは下がらないが、これにさらに Met を添加した群では有意に下がり、カゼイン食で EPA を添加した群と同じレベルになることが示された (Fig. 8)。血小板凝集については、凝集能の低い SHRSP においてもカゼイン食群では EPA 添加によって有意に低くなることがわかった (Fig. 9)。また SPI 食群では EPA 添加により凝集能が若干下がっただけであったが、SPI+Met+EPA 群では有意に血小板凝集能が下がり、カゼインに EPA を添加した群 (casein+EPA) と同じレベルまでになることが示された。ほぼ同様な血小板凝集能の変化が WKY ラットにおいてもはっきりと確認された (Fig. 10)。

上記実験で、SPI に Met および EPA を添加した場合血圧を下げたり血小板凝集能を低下させる効果があったが、たんなる Met 添加でもそのような効果のある

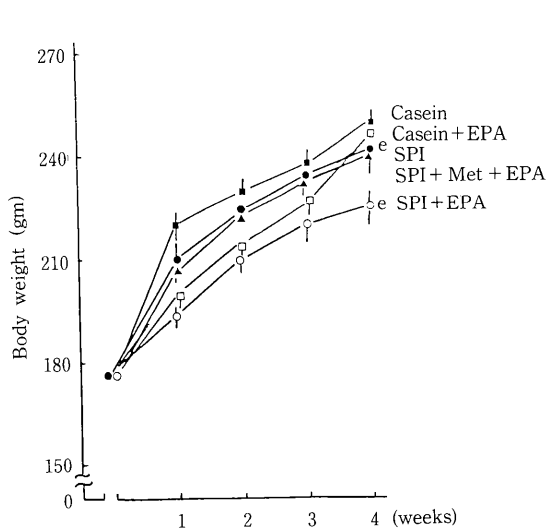


Fig. 6. Changes of body weight in SHRSP fed experimental diets for 30 days. Vertical bars represent SD. The same superscript letter shows significant difference ($p < 0.005$).

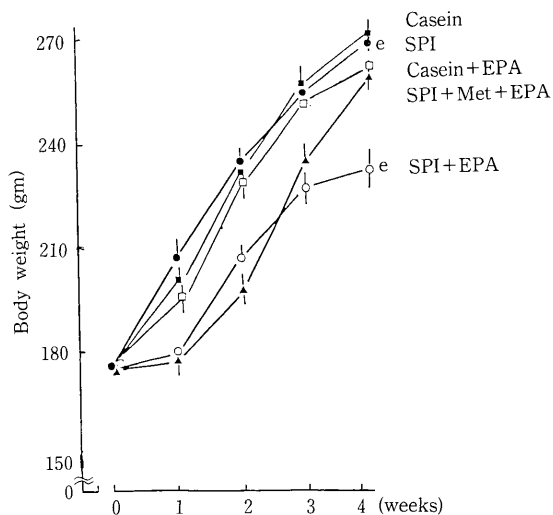


Fig. 7. Changes of body weight in WKY fed experimental diets for 30 days. Vertical bars represent SD. The same superscript letter shows significant difference ($p < 0.005$).

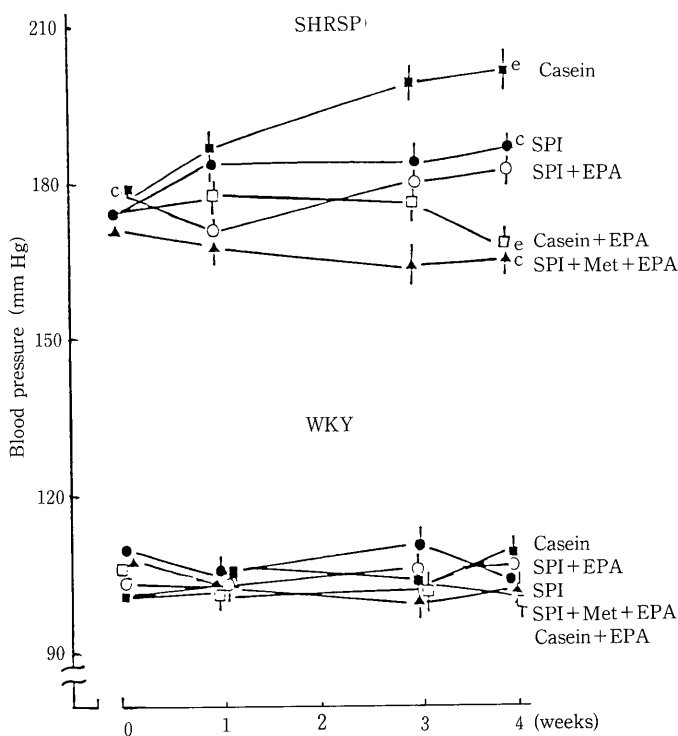


Fig. 8. Changes of blood pressure in SHRSP or WKY fed the experimental diets for 30 days. Vertical bars represent SD. The same superscript letter shows significant difference ($p < 0.005$).

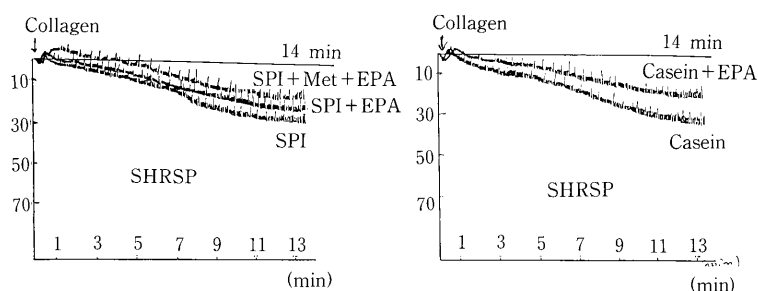


Fig. 9. Effect of platelet aggregation in SHRSP fed experimental diets for 30 days. Citrated PRP from rats was preincubated for 2 min at 37°C, then platelet response to collagen (60 μ g/ml) was tested.

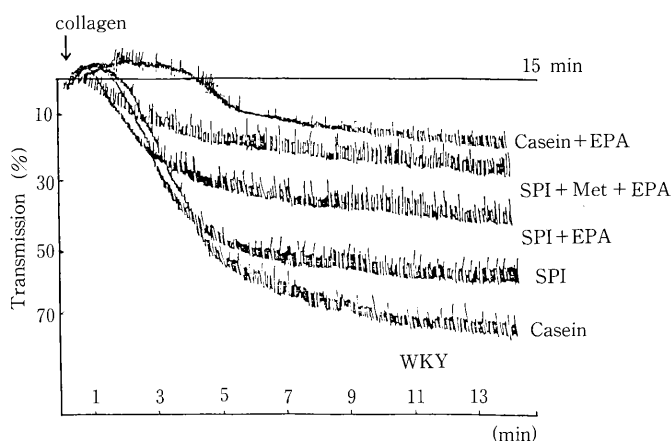


Fig. 10. Effect of EPA on the platelet aggregation in WKY fed experimental diets for 30 days. Citrated PRP from rats was preincubated for 2 min at 37°C, then the platelet response to collagen (60 μ g/ml) was tested.

可能性が考えられるので、さらにこれを確認するため SPI に Met を添加する群を設けて上記と同様の補足実験を行なったが、Met 添加だけでは SHRSP の血圧の低下はほとんどみられず、血小板凝集についても SPI+Met+EPA 群ほど顕著な凝集能の低下は認められなかった。

考 察

実験 1 において、カゼイン食の場合には SHRSP の高血圧発症に対する EPA の添加による抑制効果がみられたのに拘らず、SPI 食の場合にはその効果がみられないという事実があった。その理由の一つとしてはカゼイン食よりも SPI 食の方がそれだけで血圧が低いためと考えられる。さらにこの理由を追求するために、SPI のアミノ酸組成に着目してその第一制限アミノ酸であるメチオニンを添加した場合の EPA の影響について検討してみた。その結果、メチオニン添加で

は EPA の効果が認められた。すなわち、SPI に Met を添加した群では SHRSP の血圧の上昇抑制や両系統のラットの血小板凝集能の低下が、カゼインに EPA を添加した場合とほぼ同じ程度にみられた。興味あることに、血漿中の (EPA/アラキドン酸) 比をみると (Table 2), とくに SHRSP において SPI 食では EPA 添加群で 0.61 と低い、カゼイン食の EPA 添加群で 0.92, さらに SPI の Met および EPA を添加した群でのそれは 1.08 とほぼ同じレベルまでに上昇した。このことは、EPA の生体への利用が食餌たん白質の種類によって異なることを示唆している。以上は、たん白質のアミノ酸組成が EPA の抗高血圧症効果の発現に大きく関与していることを示したものと見える。

文 献

- 1) Yamori, Y., Horie, R., Tanase, H., Fuijwara, K., Nara, Y. and Lovenberg, W. (1984) : Possible

- role of nutritional factors in the incidence of cerebral lesions in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, **6**, 49-53.
- 2) Okamoto, K., Yamori, Y. and Nagaoka, A. (1974) : Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ. Res.*, **34** (Suppl. 1), 143-153.
- 3) Dyerberg, J., Bang, H. O. and Hjørne, N. (1975) : Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.*, **28**, 958-966.
- 4) 江 孟燦, 駒井三千夫, 木村修一(1986) : 高血圧脳卒中易発症ラット (SHRSP) に対する大豆たん白質の影響について. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **7**, 90-93.