

# ステロール排泄に対する大豆たん白質の効果

## EFFECTS OF SOY PROTEIN ON FECAL STEROL EXCRETIONS

山下 洵子・上村美和子・林 伸一 (東京慈恵会医科大学)

Junko YAMASHITA, Miwako KAMIMURA and Shin-ichi HAYASHI

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

### ABSTRACT

Effects of soy protein isolate (SPI) on plasma cholesterol level and fecal sterol excretions were studied in male ICR mice. Mice were fed various experimental diets for 3 weeks starting at 4 weeks of age and then subjected to the above determinations. A part of mice were treated with goldthioglucose, a hyperphagia- and obesity-inducing agent, before the feeding experiment. In goldthioglucose-treated mice, a good correlation was observed between body weight and plasma cholesterol level and both high-fat casein and high-fat SPI diets caused a marked hypercholesterolemia of the same degree. The latter results were confirmed in normal mice, too. The amount of fecal neutral sterol excretions (coprostanol plus cholesterol) were not increased by SPI compared with casein. These results were in marked contrast with previous results obtained in other experimental animals, such as rabbits and rats, although correlation between reduced fecal sterol excretion and hypercholesterolemia appears to exist in mice, too. A substantial hypocholesterolemic effect of SPI was observed, however, when mice were fed low-fat diets.

昨年までの研究で、大豆たん白質には糞への中性ならびに酸性ステロール排泄を顕著に促進する作用があり、これが血漿コレステロール低下作用の有力な原因と考えられることをラットを用いて明らかにしてきた<sup>1,2)</sup>。コレステロール代謝にはかなりの動物種差が存在することが知られている。そこで、今回はマウスを用いて、各種の食餌条件下における血漿コレステロール濃度と糞へのステロール排泄との相関を検討した。

### 実験方法

実験動物は日本クレアから購入した4週齢のICR系雌マウスを使用した。一部のマウスは0.5 mg/g 体重のゴールドチオグルコースを腹腔内注射して肥満させた。購入後3日間オリエンタル酵母の固型飼料MFで飼育したのち、各種の実験飼料を約3週週間自由に摂取させた。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)、またはSPI(soy protein isolate, 不二製油フジプロR)を用いた。デキ

ストリンは石津製薬より、ビタミン混合と塩混合は日本クレアより、また油混合(大豆白紋油4:肝油1)はオリエンタル酵母より入手した。高脂肪食調製に用いたCrisco(Procter and Gamble社、米国)は水素添加植物脂肪(飽和および多価不飽和脂肪酸各25%)である。飼育は22±1℃、湿度65±5%、人工照明(9:00—21:00点灯)の動物室で行なった。

実験飼料による飼育の最終2日間マウスを個別ケージで飼育してその間の糞を採取したのち、エーテル麻酔下にて大腿部切開によって血液を採取し、ヘパリン添加、遠沈によって血漿を得た。血漿コレステロール濃度は和光純薬の酵素測定試薬を用いて総コレステロールを測定し、血漿100 ml中のmg数としてあらわした。糞の中性ステロール分析は、2日分の乾燥糞1 gよりMiettinenらの方法<sup>3)</sup>に準じて不飽和物をガスクロマトグラフで分析して測定したが薄層クロマトグラフは省略した。糞の酸性ステロール分析は前報<sup>2)</sup>と同様に行なった。有意差検定はStudentのt-testによった。

Table 1. Composition of experimental diets (%)

| Component       | High-fat diet (HF) | Low-fat diet (LF) |
|-----------------|--------------------|-------------------|
| Protein         | 34                 | 25                |
| Crisco          | 30                 | 0                 |
| Dextrin         | 24                 | 64                |
| Vitamin mixture | 1.5                | 1.5               |
| Salt mixture    | 5.5                | 5.5               |
| Cellulose       | 3                  | 2                 |
| Oil mixture     | 2                  | 2                 |

## 結 果

4 週齢の ICR 系雌マウスに肥満誘発剤であるゴールドチオグルコースを腹腔内投与したのち約 3 週間実験飼料で飼育したところ、体重と血漿コレステロール濃度との間には Fig. 1 のように良い相関 ( $r=0.85$ ,  $p<0.005$ ) がみとめられ、肥満度の高いマウスほど血漿コレステロール濃度が高い傾向にあることがわかった。飼料別に比較すると、Table 2 に示すように、高脂肪カゼイン飼料群と高脂肪 SPI 飼料群はいずれも固型飼料 MF 群に比して顕著に肥満するとともに血漿コレステロール濃度が上昇したが、高脂肪飼料の両群の間ではいずれの指標にも有意差がみとめられなかった。すなわち、この実験条件下のマウスでは、大豆たん白質の降コレステロール効果がみられなかった。

上述の結果が過食ないし肥満によるかどうかをたしかめるため、ゴールドチオグルコースを投与しない正常マウスを用いて、上記と同じ実験飼料で 3 週間飼育したところ、Table 3 に示すようにカゼイン飼料と SPI 飼料はいずれも血漿コレステロール濃度を上昇させ、SPI の降コレステロール効果はやはりみとめられず、Exp. 1 ではカゼイン群よりもむしろ高値を示した。各飼料群マウスの体重には有意差がなく、したがってこの実験結果には過食や肥満が関与しないことは明らかである。

以上の実験における糞の中性ステロール分析の結果を Table 2 と Table 3 に示した。いずれの実験においても、高脂肪カゼイン飼料群ならびに高脂肪 SPI 飼料群マウスのコプロスタノールとコレステロールの合計排泄量は固型飼料 MF 群マウスのその約半量であった。酸性ステロールについては現在分析中であるが、この結果はステロール排泄量が血漿コレステロール濃度を規定する要因であることを示唆している。

最後に、低脂肪飼料を用いてカゼインと SPI の血漿コレステロール濃度に及ぼす影響を比較したところ、

Table 4 に示すように SPI の降コレステロール効果が明らかにみとめられた。この実験の糞ステロール分析も現在進行中である。

## 考 察

今回マウスを用いて血漿コレステロール濃度と糞ステロール排泄に対する飼料たん白質の効果を検討したのは、コレステロール代謝に動物種差があり、マウスにおける研究が比較的少なく、とくにマウスのステロール排泄に対する飼料たん白質の影響に関してはまったく報告がなかったからである。一方、ラットには胆嚢がないがマウスには存在するので、少なくともこの点に関してはマウスの方がラットよりも人間に近いといえる。

今回得られた注目すべき結果は、ICR 系雌マウスでは大豆たん白質の降コレステロール効果が高脂肪飼料ではまったくみとめられず低脂肪飼料では明瞭にみとめられたことである。この結果は、ウサギやラットでは飼料の脂肪含量の多寡にかかわらず、またコレステロール添加飼料の場合にも、大豆たん白質が顕著なコレステロール効果を発揮する事実ときわだって相違する<sup>1,4-6)</sup>。

マウスの血漿コレステロール濃度に及ぼす飼料たん

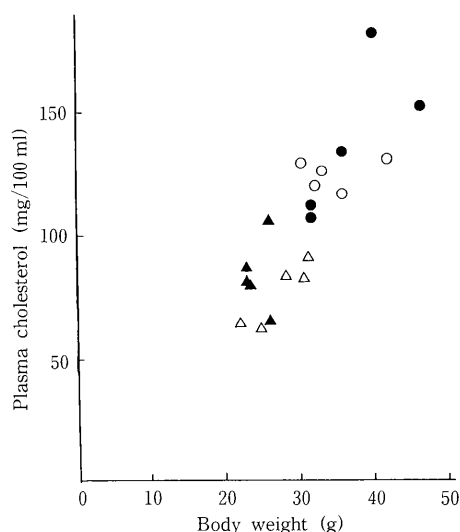


Fig. 1. Correlation between body weight and plasma cholesterol level of female mice treated with goldthiogluconate and fed various diets for 3 weeks. ○, High-fat casein; ●, high-fat SPI; △, chow; ▲, non-treated control fed chow.

Table 2. Effects of diet on plasma cholesterol level and fecal neutral sterol excretions in goldthioglucose-treated mice

| Treatment | Diet      | (n) | Body weight (g) | Plasma cholesterol (mg/100 ml) | Fecal neutral sterols ( $\mu\text{g/day}$ ) |                |                             |
|-----------|-----------|-----|-----------------|--------------------------------|---------------------------------------------|----------------|-----------------------------|
|           |           |     |                 |                                | Coprostanol                                 | Cholesterol    | Total                       |
| GTG       | HF-casein | (6) | 34.6 $\pm$ 1.7  | 127.8 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>   | 455 $\pm$ 112                               | 441 $\pm$ 118  | 895 $\pm$ 189 <sup>d</sup>  |
| GTG       | HF-SPI    | (5) | 37.2 $\pm$ 2.8  | 137.8 $\pm$ 14.0 <sup>*</sup>  | 315 $\pm$ 54                                | 297 $\pm$ 34   | 612 $\pm$ 80 <sup>**</sup>  |
| GTG       | Chow      | (5) | 27.2 $\pm$ 1.7  | 76.5 $\pm$ 5.9 <sup>b</sup>    | 578 $\pm$ 313                               | 1171 $\pm$ 337 | 1748 $\pm$ 206 <sup>e</sup> |
| None      | Chow      | (5) | 24.2 $\pm$ 0.7  | 82.2 $\pm$ 5.1 <sup>c</sup>    | 600 $\pm$ 250                               | 599 $\pm$ 335  | 1199 $\pm$ 144 <sup>f</sup> |

Values are means $\pm$ SE.

<sup>\*</sup>Significantly different from b and c ( $p<0.01$ ) but not from a ( $p>0.1$ ).

<sup>\*\*</sup>Significantly different from e and f ( $p<0.005$ ) but not from d ( $p>0.1$ ).

Table 3. Effects of diets on plasma cholesterol level and fecal neutral sterol excretions in normal mice

| Diet      | (n) | Body weight (g) | Plasma cholesterol (mg/100 ml) | Fecal neutral sterols (μg/day) |             |                      |
|-----------|-----|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------|----------------------|
|           |     |                 |                                | Coprostanol                    | Cholesterol | Total                |
| (Exp. 1)  |     |                 |                                |                                |             |                      |
| HF-casein | (5) | 25.2±0.4        | 84.5±5.7 <sup>a</sup>          | 114±48                         | 551±113     | 665±94 <sup>c</sup>  |
| HF-SPI    | (4) | 24.4±0.6        | 122.5±12.9 <sup>*</sup>        | 405±78                         | 277±32      | 681±74 <sup>**</sup> |
| Chow      | (5) | 24.4±0.4        | 66.6±7.0 <sup>b</sup>          | 261±146                        | 1106±197    | 1267±87 <sup>d</sup> |
| (Exp. 2)  |     |                 |                                |                                |             |                      |
| HF-casein | (5) | 28.0±0.6        | 96.4±10.8 <sup>e</sup>         |                                |             |                      |
| HF-SPI    | (5) | 26.8±1.1        | 103.3±4.5 <sup>***</sup>       |                                |             |                      |
| Chow      | (5) | 26.5±0.6        | 58.5±3.8 <sup>b</sup>          |                                |             |                      |

Values are means $\pm$ SE.

<sup>\*</sup>Significantly different from a ( $p<0.05$ ) and b ( $p<0.01$ ).

<sup>\*\*</sup>Significantly different from d ( $p<0.005$ ) but not from c.

<sup>\*\*\*</sup>Significantly different from f ( $p<0.005$ ) but not from e ( $p>0.1$ ).

Table 4. Plasma cholesterol levels of mice fed low-fat diets

| Diet      | (n)  | Body weight (g) | Plasma cholesterol (mg/100 ml) |
|-----------|------|-----------------|--------------------------------|
| LF-casein | (10) | 31.1 $\pm$ 1.1  | 82.3 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>    |
| LF-SPI    | (10) | 29.9 $\pm$ 1.1  | 49.3 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>    |

Values are means $\pm$ SE.

a, Significantly different from b ( $p<0.005$ ).

白質の効果に関してこれまで報告された結果は必ずしも一致していない。Raheja と Linscheer は Swiss White 系の雄マウスを用い、低脂肪飼料、コレステロール添加飼料のいずれの場合にも大豆たん白質の降コレステロール効果はまったくみとめられなかったと報告している<sup>6)</sup>。一方、Nagata らは JAC ddy 系の雄マウスを用い、無コレステロール低脂肪飼料で大豆たん

白質の降コレステロール効果が飼育20週まではみとめられたが40週以降はみとめられなかったと報告している<sup>7)</sup>。いづれにせよ、マウスと他の多くの動物との間には明らかな種差が存在する。さらに、マウスのなかでも系統や雌雄による差があるのかも知れない。

大豆たん白質の降コレステロール効果に関する動物種や系統による相違、さらに今回の結果でみられたような飼料組成（脂肪含量）による相違は糞へのステロール排泄の相違によるのであろうか。今回、高脂肪飼料で大豆たん白質の糞ステロール排泄促進効果がまったくみとめられなかった結果はこの可能性を支持するものである。もしそうであるならば、ステロール排泄の相違の原因は何であろうか。その機構を解明できれば、高コレステロール血症に対する有効な予防ないし治療手段の開発が可能になるかもしれない。

## 文 献

- 1) 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.
- 2) 山下洵子, 上村美和子, 藤多淑子, 林 伸一 (1986): ステロール排泄に対する食餌たん白質の効果. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **7**, 76-79.
- 3) Miettinen, T. A., 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.
- 4) 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.
- 5) Beynen, A. C., Van der Meer, R., West, C. E., Sugano, M. and Kritchevsky, D. (1986): Possible mechanisms underlying the differential cholesterolemic effects of dietary casein and soy protein. in "Nutritional Effects on Cholesterol Metabolism", ed. by Beynen, A. C., Transmondial, Voorthuizen, pp. 29-45.
- 6) Raheja, K. L. and Linscheer, W. G. (1982): Comparative effects of soy and casein protein on plasma cholesterol concentrations. *Ann. Nutr. Metab.*, **26**, 44-49.
- 7) Nagata, Y., Tanaka, K. and Sugano, M. (1981): Serum and liver cholesterol levels of rats and mice fed soy-bean protein or casein. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **27**, 583-593.