

ヒトの分離大豆たん白質摂取時におけるステロール排泄および血漿コレステロール濃度

EFFECTS OF SOY PROTEIN ISOLATE ON FECAL STEROL EXCRETION AND PLASMA CHOLESTEROL IN YOUNG MEN

奥田豊子・三好弘子・山本由美子・浅田敏枝,
上田真弓・早川奈津美・小石秀夫 (大阪市立大学生活科学部)

Toyoko OKUDA, Hiroko MIYOSHI, Yumiko YAMAMOTO, Toshie ASADA,
Mayumi UEDA, Natumi HAYAKAWA and Hideo KOISHI
Faculty of the Science of Living, Osaka City University, Osaka, 558

ABSTRACT

The effects of the substitution of soy protein isolate for milk protein in diets on plasma cholesterol levels and fecal neutral sterol excretion, were examined on 5 healthy young men. The experimental diets contained 25% of energy as fat, 67% as carbohydrate and 8% as protein. The intakes of energy and protein were about 43 kcal/kg/day and 0.8 g/kg/day, respectively. The cholesterol intake was 23 mg/kg/day from egg yolk. The subjects were fed a milk diet and then a soy protein isolate (SPI) diet for 2 weeks each. There was a 6-day break period between both diets. In the milk diet, half of protein was composed of skim milk and in the SPI diet it was substituted with SPI. During the milk diet period, total and LDL-cholesterol and β -lipoprotein levels in plasma were significantly increased, but they were unchanged during the SPI diet period. The SPI diet, compared to the milk one, produced a significant increase in the fecal excretion of lipid, cholesterol and neutral sterol without any changes in fecal weight. These data suggest that the increased excretion of fecal neutral sterol may in part account for the hypocholesterolemic effect of soy protein. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 93-97, 1987.

牛乳の代わりに大豆乳を乳児に与えると、乳児の血漿中コレステロール濃度が低下し、これは、大豆乳中の多価不飽和脂肪酸、あるいは植物性コレステロールが、胆汁酸や中性ステロールの糞中排泄を増加させることによっていると報告されている¹⁾。最近、大豆たん白質にも、中性および酸性ステロールの体外排泄を促進させる作用があり、これがカゼインのような動物性たん白質に比較し、血清中コレステロール濃度を低下させる一要因ではないかということがウサギ²⁾、シロネズミ^{3,4)}、ブタ⁵⁾などの成績より指摘されている。

そこで、健康な成人についても同様なことが認められるかどうかについて検討した。健康な成人では大豆たん白質を摂取するとカゼイン摂取時に比較し、血清

中 LDL-コレステロール濃度が減少し、一方 HDL-コレステロール濃度が上昇し、atherogenic index をわずかに改善するが、血清総コレステロール濃度にはほとんど影響しないことが報告され⁶⁾、大豆たん白質の血清コレステロール濃度低下作用は、高コレステロール血症を示す患者のみで観察される⁷⁾。そこで卵黄を大量に投与して、高コレステロール食とし分離大豆たん白質 (SPI) のステロール排泄および血漿コレステロール濃度におよぼす影響を検討した。

実験方法

健康な男子学生10名を被検者とした。被検者の年齢、身長、体重を Table 1 に示した。

コレステロールを含まない食事では、Table 2, Table 3 に示すように、摂取エネルギーは 35 kcal/kg たん白質は 0.6 g/kg とし、すべて SPI (フジプロ R) (SPI paste⁸⁾として 244 g/60 kg B.W.)を用い、5 人の被検者に11日間投与した。最後の4日間の糞を採取した。

高コレステロール食では、摂取エネルギーは 43 kcal/kg、たん白質は 0.8 g/kg とし、たん白質の 1/6 を米 (118 g/60 kg B. W.)、2/6 を卵黄 (104 g/60 kg B. W.)、3/6 をスキムミルク (71 g/60 kg B. W.) (スキムミルク食)、あるいは SPI (SPI paste として 150 g/60 kg B. W.) (SPI 食)で投与した。スキムミルク食を2週間投与後、6 日間は被検者の自由な食事とし、その後引き続いて SPI 食を2週間投与した。各週の最後の4日間の糞を採取した。

脂質源は、コレステロールを含まない食事ではおもにショートニングを用いた。高コレステロール食では、脂質の 75%を動物性 (卵黄、バター)としたので多価不飽和脂肪酸 (P)と飽和脂肪酸 (S)の比は約 0.5 となった。両食事とも脂質エネルギー比は 25%とした。食材料を実測した結果、コレステロールの1日当りの摂取量は 1390 mg/60 kg B. W. であり、これは日本人の平均的な摂取量⁹⁾の約 3 倍に相当している。

各ミネラルの摂取量は各食事で等しくなるようにした。ビタミンは充分量与えた。血液は早朝空腹時に肘静脈よりヘパリンを加えた試験管に採取し、遠心により血漿を得た。総コレステロール濃度は酵素法、HDL-コレステロールはヘパリン、マンナンで分画後酵素法で測定し、LDL-コレステロールは Friedewald ら¹⁰⁾の式により算出した。 β -リポプロテインの測定には免疫沈降法、トリグリセリド、リン脂質濃度は酵素法で測定した。いずれも和光純薬のキットを用いた。糞の一定量は凍結乾燥し、脂質は Folch 法で抽出した。

Miettinen¹¹⁾の方法に準じ、抽出後、中性ステロールは塩化第 2 鉄呈色法¹²⁾、コレステロールは島津 GC-8APF で定量した。

Table 1. Characteristics of male subjects

	Cholesterol free	Cholesterol rich
No. of subjects	5	5
Age (years)	20 $\pm$ 1 ¹	20 $\pm$ 1
Height (cm)	171 $\pm$ 7	172 $\pm$ 4
Weight (kg)	62.9 $\pm$ 10.6	63.2 $\pm$ 7.6

¹ Values show means $\pm$ SD.

Table 2. Composition of experimental diet (g/60 kg B. W.)

	Cholesterol free	Cholesterol rich	
	SPI	Skim milk	SPI
Rice	0	118	118
Egg yolk	0	104	104
Skim milk	0	71	0
SPI paste	244	0	150
Butter	0	26	26
Corn oil	7	0	0
Soy bean oil	0	16	9
Shortening	50	0	0
Corn starch	160	93	114
Sugar	61	25	48
Dextmaltose	134	200	191
Agar	3	5	5
Vitamin mix. (tab.)	3	2	2
Mineral mix.	9.1	2	8
Soy sauce	6.7	10	10
NaCl	2.0	0	0

Table 3. Intake of energy and nutrients

	(/60 kg B. W.)		
	Cholesterol free	Cholesterol rich	
	SPI	Skim milk	SPI
Energy (kcal/day)	2155	2580	2577
(kcal/kg)	34	43	43
Carbohydrate (g)	321	426	434
Protein (g)	36	49	49
(g/kg)	0.6	0.8	0.8
Fat (g)	58	72	72
Fat energy (%)	25	25	25
Cholesterol (mg)	0	1390	1390

結果と考察

実験期間の最後の4日間における窒素出納値を Table 4 に示している。コレステロールを含まない SPI 食では、エネルギー摂取量は低かったが、ほぼ零出納を維持していた。高コレステロールのスキムミルク食、SPI 食とも零出納、あるいは、わずかに正の出納を示した。

コレステロールを含まない食事を摂取し、11日目の血漿総コレステロール、HDL-コレステロール濃度は、初日の値より低下の傾向を示したが、有意な差ではな

かった (Table 5)。高コレステロールのスキムミルク食を1日摂取後の血漿中総コレステロール濃度は、初日よりすでに高い傾向を示し、1週目、2週目には初日より有意に高値を示した。HDL-コレステロール濃度はスキムミルク食を摂取して、2週間の間変動を示さなかった。LDL-コレステロール濃度も総コレステロール濃度とほぼ同様に、1週目、2週目で初日より有意な増加を認めた。 β -リポプロテイン濃度も LDL-コレステロール濃度の変動とよく似ていた。

高コレステロールの SPI 食では、血漿中総コレステロール、HDL、LDL 画分、 β -リポプロテイン、いずれについても有意な変化を示さなかった。血漿中トリグリセリド、リン脂質、NEFA(成績は示していない)の濃度は、高コレステロールのスキムミルク食、SPI 食とも、摂取期間を通じて変動を示さなかった。

高コレステロールの SPI 食の糞重量は、スキムミルク食より高い傾向にあったが有意な差ではなかった (Table 6)。SPI 食の1週目の糞中排泄脂質量は、スキムミルク食より、有意に高い値を示し、2週目では高い傾向を示した。見かけの脂質の消化吸収率は94~96%であり、両食事間に有意な差を認めなかった。

コレステロールを含まない SPI 食の中性ステロールの排泄量は 0.95 ± 0.20 g/day であった。これは、この食事条件における内因性の排泄量を示し、これに酸性ステロイドの排泄量を加えれば、1日当りのコレステロールの生合成量を示すことになる。アメリカ、メキシコ、バプアニューギニア人について、コレステロールを含まない食事を投与したときの中性ステロールの排泄量は約 8 mg/kg/日、酸性ステロイドの排泄量は 3~6 mg/kg/日であり、コレステロールの生合成量は 10~14 mg/kg/日と報告されている³⁾。今回の成績では、コレステロールを含まない食事における内因性の中性ステロールの排泄量は 15 mg/kg/日であり、文献値¹³⁾に比較し高値であった。P/S 比が高い食事を摂取すると中性ステロール、酸性ステロイドの糞中排泄量が増加するといわれている¹⁴⁾。この食事における P/S 比は実測していないが、かなり高いと推定される。このことが内因性中性ステロール排泄量が高値であった理由かもしれない。

高コレステロールの SPI 食における中性ステロール排泄量は、コレステロールの摂取量よりも多く、ス

Table 4. Nitrogen balance (mg/kg/day)

	Cholesterol free	Cholesterol rich	
	SPI	Skim milk	SPI
N intake	99.5 $\pm$ 0.3 ¹	123.8 $\pm$ 1.1	127.9 $\pm$ 1.0
Fecal N	14.7 $\pm$ 2.0	20.5 $\pm$ 5.8	18.1 $\pm$ 2.0
Urinary N	88.5 $\pm$ 8.8	100.8 $\pm$ 7.0	99.6 $\pm$ 6.4
N balance	-3.6 $\pm$ 8.8	+2.6 $\pm$ 10.5	+10.1 $\pm$ 6.1

¹ Values show means $\pm$ SD.

Table 5. Plasma lipids and β -lipoprotein (mg/100 ml)

	Cholesterol			β -Lipoprotein	Triglyceride	Phospholipid
	Total	HDL	LDL ¹			
Cholesterol free diet, SPI						
Day 0	173±20 ²	48±8			89±32	
Day 11	160±8	43±7			80±21	
Cholesterol rich diet						
Skim milk						
Day 0	140±17	50±8	66±13	259±35	115±20	192±28
Day 1	158±12	51±5	85±11	472±130* ³	112±23	197±39
Week 1	171±24*	47±8	106±20*	402±177	88±19	157±19
Week 2	180±14*	50±6	108±15*	404±45*	108±12	183±14
SPI						
Day 0	156±17	52±8	85±15	375±101	97±33	200±35
Day 1	165±16	52±12	92±9	322±62	105±18	201±21
Week 1	169±16	51±8	97±11	363±98	110±10	175±16
Week 2	169±23	52±11	92±17	355±91	121±22	227±45

¹ LDL cholesterol = total - 1/5 triglyceride.

² Values show means $\pm$ SD.

³ * p < 0.01 vs day 0.

Table 6. Fecal weight and lipid

(g/day)

	Dry weight	Lipid	Neutral sterol	Cholesterol
Cholesterol free diet, SPI				
	21.1±1.9 ¹	2.15±0.52	0.95±0.20	0.67±0.28
Cholesterol rich diet				
Skim milk				
Week 1	26.1±2.1	3.01±0.43	1.29±0.21	0.62±0.36
Week 2	26.5±4.8	3.32±0.85	1.26±0.26	0.99±0.32
SPI				
Week 1	29.5±3.4	4.68±0.43 ^{*2}	1.60±0.18 [*]	0.83±0.23
Week 2	27.3±2.8	3.96±0.58	1.81±0.24 ^{**}	1.38±0.18 [*]

¹ Values show means ± SD.² *p<0.05, **p<0.01 vs skim milk.

キムミルク食に比較し、1週目2週目とも有意に増加した。コレステロールの排泄量も高コレステロールのSPI食の2週目で、スキムミルク食より有意に増加した。前述¹³⁾のアメリカ人やメキシコ人に卵黄由来のコレステロールを約1000 mg/日含む食事を投与したとき、コレステロールの吸収率はアメリカ人で49%、メキシコ人で28%で、コレステロールを含まない食事を摂取したときとほとんど差がなく、コレステロールを大量に摂取したときには、吸収量が多くなった分だけ体内の合成量を減少させ、内因性の中性ステロールや酸性ステロイドの排泄量は変化を示さないことが報告されている¹³⁾。

動物実験では、分離大豆たん白質を摂取すると、体外へのステロール排泄を増加させ、血漿中コレステロール濃度を低下させているという可能性が指摘されている²⁻⁶⁾。しかしヒトでは不明である。Grundy と Abrams¹⁵⁾は14人の正常、あるいは高脂血症の患者に、カゼインを分離大豆たん白質に代えて1カ月間投与しても、血漿中コレステロール濃度や、体内のコレステロール合成量、体外へのステロール排泄量に影響をおよぼさないことを報告している。Fumagalli ら⁷⁾もコレステロールを含まない SPI 食を高コレステロール血症の患者に投与し、血清コレステロール濃度は顕著に低下したが、中性、酸性ステロイド排泄量は変化しないことを示した。

本研究の被検者におけるコレステロールの吸収率や酸性ステロイドの排泄量を測定していないので、コレステロールの生合成量やステロールのバランスを算出することはできない。しかし今回の成績では、日常の約3倍に相当するコレステロールを摂取するとき、同時に分離大豆たん白質を摂取する方が、スキムミルク

の場合より、コレステロールや中性ステロールの排泄を促進し、血漿中コレステロール濃度の上昇を抑制していると推測される。

文 献

- 1) Potter, J. M. and Nestel, P. J. (1976): Greater bile acid excretion with soy bean than with cow milk in infants. *Am. J. Clin Nutr.*, **29**, 546-551.
- 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) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M. (1982): Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. *J. Nutr.*, **112**, 1614-1625.
- 4) Park, M. S. C., Kudchodkar, B. J. and Liepa, G. U. (1987): Effects of dietary animal and plant proteins on the cholesterol metabolism in immature and mature rats. *J. Nutr.*, **117**, 30-35.
- 5) Diersen-Schade, D. A., Richard, M. J., Beitz, D. C. and Jacobson, N. L. (1986): Plasma, tissue and fecal cholesterol of young pigs fed restricted or liberal amounts of beef, soy or conventional diets. *J. Nutr.*, **116**, 2086-2095.
- 6) Raaij, J. M. A. van., Katan, M. B., Hautuvast, J. G. A. J. and Hermus, R. J. J. (1981): Effects of casein versus soy protein diets on serum

- cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 1261-1271.
- 7) Fumagalli, R., Soleri, L., Farina, R., Musanti, R., Mantero, O., Nosedà, G., Gatti, E. and Sirtori, C. R. (1982): Fecal cholesterol excretion studies in type II hypercholesterolemic patients treated with the soybean protein diet. *Atherosclerosis*, **43**, 341-353.
 - 8) 小石秀夫, 奥田豊子, 三好弘子 (1984): 成人男子における分離大豆たん白質への L-メチオニン補足効果. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **5**, 99-103.
 - 9) 上島弘嗣, 朝倉新太郎 (1984): 国民の脂質摂取の推移 (昭和31-55年) — コレステロール, 多価不飽和脂肪酸, 飽和脂肪酸の摂取量と P/S 比, Keys の食事因子 ϕ 量 —. 日本公衆衛生学雑誌, **31**, 325-330.
 - 10) Friedewald, W. T., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. (1972): Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.*, **18**, 499-502.
 - 11) Miettinen, T. A., Ahrens, E. H. 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.
 - 12) 藤野安彦 (1978): 脂質分析法入門, 学会出版センター, pp. 141-143.
 - 13) McMurry, M. P., Connor, W. E., Lin, D. S., Cerqueira, M. T. and Connor, S. L. (1985): The absorption of cholesterol and the sterol balance in the Tarahumara Indians of Mexico fed cholesterol-free and high cholesterol diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**, 1289-1298.
 - 14) Bosaeus, I. G. and Andersson, H. B. (1987): Short-term effect of two cholesterol-lowering diets on sterol excretion in ileostomy patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**, 54-59.
 - 15) Grundy, S. M. and Abrams, J. J. (1983): Comparison of actions of soy protein and casein on metabolism of plasma lipoproteins and cholesterol in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 245-252.