

分離大豆たん白質のラット血清コレステロール濃度低下作用 (Ⅷ) : 大豆たん白質人工消化物の効果

HYPOCHOLESTEROLEMIC EFFECT OF SOY PROTEIN ISOLATE IN RATS (Ⅷ) : EFFECT OF PROTEIN DIGESTS ON SERUM CHOLESTEROL

菅野道廣・山田幸男・吉田克子 (九州大学農学部)

Michihiro SUGANO, Yukio YAMADA and Katsuko YOSHIDA

Kyushu University School of Agriculture, Fukuoka 812

ABSTRACT

Soy protein isolate was digested in vitro successively by two microbial proteases and the digest was separated by centrifugation into low molecular (soluble) and high molecular (insoluble) fractions. These fractions as well as total hydrolysate were fed to rats at the 20% level, either as a weight basis or a protein basis, of the cholesterol-enriched diet. The total hydrolysate was significantly hypocholesterolemic than the soluble fraction, although the efficacy was far less than that of intact protein. The hypocholesterolemic effect paralleled to the magnitude of fecal steroid excretion. The insoluble fraction exhibited a markedly greater hypocholesterolemic activity than the intact protein. The results suggest that the peptides produced during the gastrointestinal digestion are at least responsible for the cholesterol-lowering effect of soy protein. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 104-107, 1987.

大豆たん白質の血清コレステロール (CHOL) 低下作用のメカニズムは、依然議論的となっているが、たん白質の消化過程と体内での代謝的效果とに大別できよう^{1,2)}。前者は大豆たん白質の効果が極めて速やかに発現し、ステロイド排泄の増加を伴うことから、脂質 (ステロイド) 吸収阻害能を有するペプチドの生成に帰するものである。後者は大豆たん白質のアミノ酸組成の特異性に注目し、その CHOL 代謝への影響を介して発現するとみなすものである。

本研究では、消化過程の関与に関して、大豆たん白質人工消化物のラット血清 CHOL 濃度への影響を中心に検討した。

実験方法

Sprague-Dawley 系雄ラットに下記の飼料を自由摂食させた (重量%) : たん白質 20, ハイオレイックサフラワー油 10, ビタミン混合 1, ミネラル混合 4, 塩

化コリン 0.2, セルロース 2.0, CHOL 0.5, コール酸ナトリウム 0.125 (蔗糖で 100% とした)。窒素源としては分離大豆たん白質 (SOY), SOY を *Aspergillus* 並びに *Bacillus* 由来のプロテアーゼで加水分解したもの (TDF), さらに加水分解物を遠心分離して得た可溶性 (低分子 LMF) および不溶性 (高分子 HMF) 画分を用いた。これらはいずれも不二製油³⁾の製品で、たん白質含量 (N×6.25) は SOY 92.7%, TDF 83.7%, LMF 83.2% および HMF 70.8% であった。実験 1 では重量比で 20% になるように添加し、実験 2 では 20% SOY 食と同じ窒素含量になるように消化物を添加した。血清、肝臓の CHOL, 糞便中のステロイドは先に報告した方法で測定した³⁾。結果は一元配置分散分析により有意差を求めた。

結果

低分子画分 (LMF) の効果 (実験 1)

Table 1 に示すように、微生物プロテアーゼ消化物全体 (TDF) としては、摂食量、体重増加量とも、たん白質そのもの (SOY) におけると同じ結果を与えたが、

消化物の低分子画分 (LMF) では、これらの値は有意に低かった。これは LMF は吸湿性が高いため、給餌上の技術的問題とラットの慣れの点から、最初の数日

Table 1. Growth parameters and liver weight of rats fed different nitrogen sources

Exp. No. & groups*	Body weight (g)		Food intake (g/day)	Liver weight (g/100 g body wt)
	Initial	Gain		
Exp. 1				
SOY	131±9	114±4 ^a	22.8±0.6 ^a	5.15±0.11
TDF	131±10	110±3 ^{ab}	21.9±0.8 ^a	5.37±0.22
LMF	131±11	96±6 ^b	19.5±0.8 ^b	5.36±0.19
Exp. 2				
SOY	108±2	201±11 ^a	20.4±0.5 ^a	5.28±0.08 ^a
LMF	105±5	169±7 ^b	17.9±0.5 ^b	5.22±0.14 ^a
HMF	107±2	211±6 ^a	20.1±0.5 ^a	4.69±0.11 ^b

Values represent mean±SE of 6 rats (Exp. 1) or 8~9 rats (Exp. 2) per group. Feeding periods were 21 and 24 days in Exps. 1 and 2, respectively. *SOY: soybean protein, TDF: total digest fraction, LMF: low molecular weight fraction, HMF: high molecular weight fraction. In each experiment values in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

間は摂食量が少ないことが原因している。この時期を過ぎると、摂取量は増加し、体重も他群と同じ割合で増加した。なお、飼料効率 は全ての群で同じであった。肝臓重量は大豆たん白質群でいくらか低い傾向にあったが、その差は有意ではなかった。

血清 CHOL 濃度は大豆たん白質群で最も低く、次いで TDF, LMF の順であり、各群間の差はすべて有意であった (Table 2)。肝臓 CHOL 濃度も SOY 群で最低で、他群より有意に低かった。

Fig. 1 に糞便中へのステロイド排泄の経時的パターンを示した。中性ステロールの排泄量 (Fig. 1A) は、SOY 群で他の 2 群より有意に多く、LMF 群で最低であった。なお、腸内細菌による CHOL のコプロスタンールへの転換割合は、TDF 群で高く、SOY, LMF の順であった。とくに LMF を摂取したラットでは、2 週目以降はほとんど変化を受けず CHOL そのものとして排泄された。酸性ステロイドの排泄 (Fig. 1B) は、中性ステロールの場合と同じパターンを示し、SOY 群で最も高く、LMF 群で最低であった。胆汁酸の組成においても、LMF 群では、相対的にコール酸の占める割合が高く、デオキシコール酸、リソコール酸は 2 週目以降ほとんど検出されなかった。SOY 群では逆にコール酸の割合は低く、二次胆汁酸は高かった。TDF 群では中間的傾向を示した。これらの結果は、

LMF が腸内細菌叢に対し特別の影響を及ぼすことを示す。

Table 2. Serum and liver cholesterol levels of rats fed different nitrogen sources

Exp. No. & groups*	Serum cholesterol (mg/100 ml)	Liver cholesterol (mg/g)
Exp. 1		
SOY	246±8 ^a	55.0±2.9 ^a
TDF	400±40 ^b	63.3±2.7 ^b
LMF	504±12 ^c	68.9±1.4 ^b
Exp. 2		
SOY	340±22 ^a	68.5±2.7 ^a
LMF	523±50 ^b	77.1±4.1 ^a
HMF	99.4±6.6 ^c	7.70±0.97 ^b

Values represent mean±SE of 6 or 8~9 rats per group in Exps. 1 and 2, respectively. *See Table 1. In each experiment values in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

高分子画分 (HMF) の効果 (実験 2)

Table 1 に併記したように、LMF 群では実験 1 と

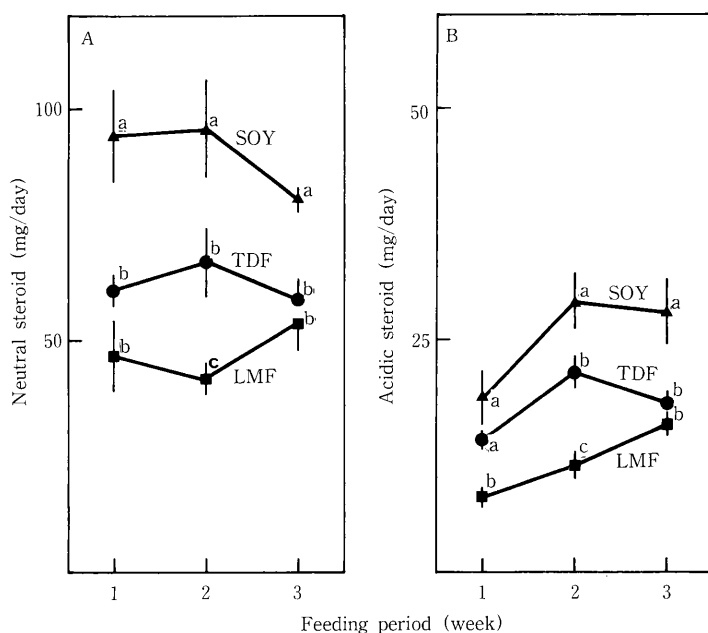


Fig. 1. Time course of fecal excretion of neutral (A) and acidic (B) steroids (Exp. 1). Each point represents means $\pm$ SE of 6 rats per group and values not sharing a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

同様、摂食量、体重増加量とも他群より少なく、その原因は先の実験の場合と同じであり、摂食量が回復してから成長率は他群と同等であった。飼料効率には3群間ではほとんど差はなかった。肝臓重量はHMFを摂取したラットで有意に低かった。

血清 CHOL 濃度は、HMF 群で非常に低い値を示し (Table 2)、大多数は無 CHOL 食時の上限に近かった。SOY 群がこれに次ぎ、LMF で最高であった。肝臓 CHOL 濃度も HMF 群で著しく低く、個体によっては無 CHOL 食時のレベル程度のものさえあった。

考 察

以上の結果は、大豆たん白質の血清 CHOL 濃度上昇抑制効果に対し、たん白質の消化過程で生成する難消化性で、ある大きさを持ったペプチド画分が重要な役割を果たすことを示している。この研究では、動物実験に必要な量のたん白質消化物の各分画を調製する技術上の問題点から、微生物プロテアーゼによる消化産物を用いたが、われわれは先にペプシン消化物でもこの点を支持する成績を得ている⁴⁾。これらの観察は、少なくとも大豆たん白質中には、CHOL 食による血清 CHOL 濃度の上昇を決定的に抑制するペプチドフラグメントが含まれることを示している⁵⁻⁸⁾。

HMF を用いた実験 2 は、現在進行中で、まだ一部の成績しか得られていないが、実験 1 のステロイド排泄量と血清 CHOL 濃度との間の並行関係から考えられるように、HMF はおそらく、大豆たん白質以上にステロイド排泄促進効果を示すものと予測される。肝臓への CHOL 沈着が著しく少ないことからこのことが支持される。

プロテアーゼ消化を受けない HMF が、極めて優れた血清 CHOL 濃度低下作用を発揮することは、大豆たん白質の降 CHOL 作用のメカニズム解明に役立つだけでなく、血清 CHOL 濃度改善のための有用な素材としてもその利用性は高いものと思われる。なお、用いた HMF には約 25% の糖質成分が含まれており、飼料中には約 6.5% 含まれることになる。大豆多糖は比較的效果的な降 CHOL 作用を示すようであるので⁹⁾、HMF の効果についてはこの点を含め総合的に解釈する必要もあろう。

文 献

- 1) Sugano, M. (1983): Hypocholesterolemic effect of plant protein in relation to animal protein; mechanism of action, in "Animal and Vegetable Proteins in Lipid Metabolism and Athero-

- sclerosis”, ed. by Gibney, M.J. and Kritchevsky, D., Alan R. Liss Inc., New York, pp. 51-84.
- 2) 菅野道廣 (1987) : コレステロール代謝の調節に関する栄養生化学的研究—食餌タンパク質の影響—。栄食誌, **40**, 93-102.
 - 3) Sugano, M., Ryu, K. and Ide, T. (1984) : Cholesterol dynamics in rats fed *cis*- and *trans*-octadecenoate in the form of triglyceride. *J. Lipid Res.*, **25**, 474-485.
 - 4) Yashiro, A., Oda, S. and Sugano, M. (1985) : Hypocholesterolemic effect of soybean protein in rats and mice after peptic digestion. *J. Nutr.*, **115**, 1325-1336.
 - 5) Woodward, C. J. H. and Carroll, K. K. (1985) : Digestibilities of casein and soya-bean protein in relation to their effects on serum cholesterol in rabbits. *Br. J. Nutr.*, **54**, 355-366.
 - 6) Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F. (1986) : Involvement of post-digestion ‘hydrophobic’ peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1217-1222.
 - 7) 伊吹文男, 岩見公和 (1986) : 食品たん白質(SPI, グルテン, オボアルブミン, カゼイン)及びその消化産物の胆汁酸再吸収に及ぼす影響。大豆たん白質栄養研究会会誌, **7**, 68-75.
 - 8) Jacques, H., Deshaies, Y. and Savoie, L. (1986) : Relationship between dietary proteins, their in vivo digestion products, and serum cholesterol in rats. *Atherosclerosis*, **61**, 89-98.
 - 9) Lo., G. S., Evans, R. H., Phillips, K. S.- Dahlgren, R. R. and Steinke, F. H. (1987) : Effect of soy fiber and soy protein on cholesterol metabolism and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, **64**, 47-54.