

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 (IX) : 血清コレステロール濃度, リノール酸の不飽和化およびプロスタグランジン産生に及ぼす影響

HYPOCHOLESTEROLEMIC EFFECT OF SOY PROTEIN ISOLATE IN RATS: EFFECTS ON SERUM CHOLESTEROL, LINOLEATE DESATURATION AND EICOSANOID PRODUCTION

菅野道廣・古場一哲 (九州大学農学部)

Michihiro SUGANO and Kazunori Koba

Kyushu University School of Agriculture, Fukuoka 812

ABSTRACT

The interactions of dietary protein (soy protein or casein) and fat (palm olein or mold oil) on various lipid parameters were studied in rats. The fatty acid composition of the dietary fats was comparable except for the proportions of polyunsaturated fatty acids: mold oil contributed γ -linolenic acid (GLA) at the expense of a portion of the linoleic acid in palm olein. When rats were fed casein rather than soy protein, serum cholesterol levels were higher irrespective of the fat source. Mold oil reduced a cholesterolemic potential of casein. Soy protein increased fecal steroid excretion. The ratio of arachidonate to linoleate in phosphatidylcholine from serum and liver was markedly higher in the casein than in the soy protein groups, whereas mold oil predictably improved the protein-dependent reduction. However, the aortic production of prostacyclin was not influenced largely by dietary protein type and was stimulated by GLA. No protein-fat interaction was observed on the concentration of plasma thromboxane A_2 . The physiological significance of reduced linoleate desaturation by soy protein is not clear, since the protein did not disturb the balance of eicosanoids. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 9, 77-81, 1988.

食餌たん白質は血清コレステロール (CHOL) の強力なレギュレーターである。種々の動物実験で、大豆たん白質はカゼインと比べ明確な降 CHOL 作用を発揮する。しかし、その作用機作については必ずしも十分には理解されていない。一方、食餌たん白質は CHOL 代謝を変動させるだけでなく、リノール酸のアラキドン酸への転換にも影響し、大豆たん白質とカゼインとの間で転換効率にかなりの違いがある^{1,2)}。今回は、たん白質効果をより総合的視野からとらえるため、血清 CHOL への影響だけでなく、リノール酸の代謝ひいては種々のプロスタグランジンの産生に及ぼす大

豆たん白質の効果を明らかにし、同時に食餌脂肪の影響についてカゼインと比較検討した。

実験方法

4週齢の Sprague-Dawley 系雄ラット (体重平均 94 g) に AIN の推奨³⁾に準拠した組成の純化飼料を30日間自由摂食させた。この実験はそれぞれ2種類の食餌たん白質と脂肪を組み合わせた4群よりなっている。食餌たん白質源として分離大豆たん白質 (フジプロ-R) およびカゼインを用い (20%レベル)、脂肪源としてはパームオレインと糸状菌 (*Mortierella ramman-*

niana var *anguliospora* IFO 8187) の産生する油脂⁴⁾を10%レベルで添加した。両油脂の脂肪酸組成は Table 1 に示すように、多価不飽和脂肪酸の総量は同じであるが、糸状菌油はパームオレイン (サフラワー油を2%添加) のリノール酸の約30%を γ -リノレン酸で置き換えた組成を持っている。また、両油脂の植物ステロール含量を等しくするため、パームオレインに β -シトステロール (ICN Pharmaceuticals) を0.084% 添加した (総植物ステロール量は 88 mg/100 g 飼料)。飼育期間中、一週間毎に尾静脈から採血し、酵素法で血清 CHOL を測定した。飼育終了日、8時間 (午前2時~10時) 絶食させ、エーテル麻酔下で腹部大動脈からクエン酸3ナトリウムおよびインドメタシンを含むシリンジで採血し、血漿中のトロンボキサン A_2 (TXA₂) 濃度を TXB₂ としてラジオイムノアッセイ法で測定した⁵⁾。また、胸部大動脈によるプロスタサイクリン (PGI₂) の産生を 6-keto-PGF_{1 α} としてラジオイムノアッセイ法で測定した⁵⁾。血漿、肝臓の脂質および脂肪酸組成は先に報告した方法で測定した⁶⁾。また、1および4週後の2日間採糞し GLC でステロイド排泄量を調べた⁶⁾。結果は二元配置分散分析を行った後、*t*-test で有意差を検定した。

Table 1. Fatty acid compositions of dietary fats

Fatty acids	Weight (%)	
	Mold oil	Palm olein*
16:0	31.4	30.6
16:1	1.9	—
18:0	4.1	3.1
18:1	44.3	48.6
18:2(ω 6)	10.1	15.7
18:3(ω 3)	—	0.5
18:3(ω 6)	5.9	—

* Contains 2 g safflower oil per 100 g palm olein.

Table 2. Dietary protein and fat interaction on plasma and liver lipids

Groups (protein-fat)	Plasma lipids (mg/100 ml)		Liver lipids (mg/g)	
	Cholesterol	Triglyceride	Cholesterol	Triglyceride
CAS-MO	77.6 $\pm$ 7.6	134 $\pm$ 18	3.23 $\pm$ 0.14	43.4 $\pm$ 2.6
CAS-PO	87.9 $\pm$ 3.4	123 $\pm$ 18	4.91 $\pm$ 0.52 ^a	95.8 $\pm$ 16.0 ^a
SOY-MO	58.8 $\pm$ 3.6 ^a	110 $\pm$ 8	2.99 $\pm$ 0.09	23.4 $\pm$ 3.4 ^a
SOY-PO	61.9 $\pm$ 5.1 ^b	191 $\pm$ 15 ^c	3.03 $\pm$ 0.14 ^b	25.1 $\pm$ 3.3 ^b

Mean $\pm$ SE of 8 rats. CAS: casein, SOY: soy protein, MO: mold oil, PO: palm olein. ^aSignificantly different from CAS-MO group ($p<0.05$). ^bSignificantly different from CAS-PO group ($p<0.05$). ^cSignificantly different from SOY-MO group ($p<0.05$).

結果と考察

各群のラットの摂食量と体重増加量には差はなかったが、肝臓重量は大豆たん白質を摂取した群で対応するカゼイン群より有意 ($p<0.05$) に低かった (g/100 g 体重単位でカゼイン-パームオレイン群 4.11 $\pm$ 0.11, 大豆たん白質-パームオレイン群 3.69 $\pm$ 0.09, カゼイン-糸状菌油群 4.25 $\pm$ 0.13, および大豆たん白質-糸状菌油群 3.90 $\pm$ 0.10)。

血清コレステロール濃度

血清 CHOL 濃度の経時的変化を Fig. 1 に示す。これまでの成績と一致し、食餌脂肪の種類にかかわらず大豆たん白質群でカゼイン群より血清 CHOL は低く、とくにパームオレイン食でその差は明確であった。しかし糸状菌油を摂取した場合、たん白質間の差は4週後に初めて有意となることから、GLA はかなり効果的

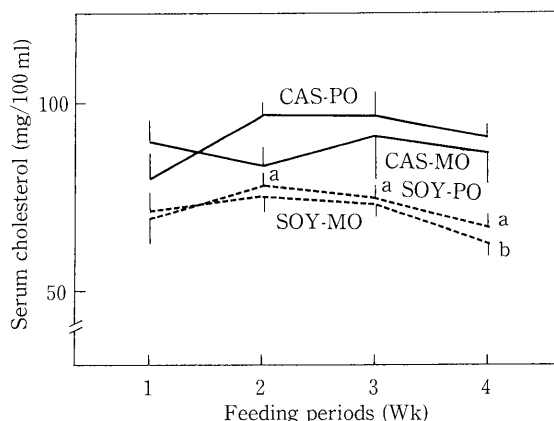


Fig. 1. Time course of serum cholesterol levels in rats fed different proteins and fats. Mean $\pm$ SE of 8 rats. ^aSignificantly different from CAS-PO group ($p<0.05$). ^bSignificantly different from CAS-MO group ($p<0.05$).

な血漿 CHOL 上昇抑制作用があることがうかがえる。いずれにしても、たん白質の効果はリノール酸やそれよりはるかに降 CHOL 作用が強い GLA の効果^{4,7,8)}を凌駕するものである。

30日飼育後の血漿および肝臓の各種脂質の濃度を Table 2 にまとめている。大豆たん白質は血漿 CHOL だけでなく肝臓の CHOL やトリグリセリドも低下させ、とくに後者については脂肪の種類にかかわらずきわめて顕著な低下作用を示した。

リン脂質の脂肪酸組成

Table 3 に血漿および肝臓のホスファチジルコリンの脂肪酸組成を示す。同一脂肪群ではリノール酸(18:2 ω 6)の割合はたん白質源が大豆たん白質のときカゼインより有意に高かった。また、パームオレインで糸状菌油の場合より高かった。アラキドン酸(20:4 ω 6)の割合はカゼインの場合に高い傾向にあったが、食餌脂肪の影響は著しくなかった。しかし大豆たん白質群では GLA の摂取によるアラキドン酸の上昇が認められた。ドコサペンタエン酸(22:5 ω 6)もカゼイン群で大豆たん白質群より明らかに高く、同一たん白質食では糸状菌油の摂取により有意に高値を示した。これに対し、ドコサヘキサエン酸(22:6 ω 3)の割合はいずれのたん白質においてもパームオレインの摂取で高かった。このような応答の結果、20:4/18:2比は食餌脂肪の種類に無関係にカゼインで大豆たん白質より、また同じたん白質では糸状菌油でパームオレインより

いずれも高値であった。

このように、食餌たん白質はリノール酸の不飽和化に大きな影響力を示したが¹⁾、大豆たん白質が干渉するのか、あるいはカゼインが亢進するのかは明かではない。アラキドン酸/リノール酸比はリノール酸代謝系の律速段階である $\Delta 6$ -不飽和化酵素反応の進行具合の一指標と考えられているが、この比が大豆たん白質摂取で低値を示すことの生理的意義は明かでない。大豆たん白質はカゼインによるプロスタグランジンの過剰生産を制御するのか、あるいは生産不足を来すのか不明である。このたん白質依存性の差異の発現に対して、グルカゴンとインスリンのバランスの影響が一因として推測される⁹⁾。

プロスタグランジンの産生

大動脈による PGI₂の産生は Fig. 2 に示すように、カゼイン群で大豆たん白質群よりいくらか高い傾向にあるが、むしろ食餌脂肪の影響が大きく、GLA 油脂でリノール酸油脂より有意に高かった。一方、血漿の TXA₂濃度には食餌のたん白質も脂肪もほとんど影響しないようであった。この結果、PGI₂/TXA₂比はたん白質の種類にかかわらず糸状菌油の摂取でもっとも高くなり、カゼイン-パームオレインがこれに次ぎ、大豆たん白質-パームオレインの組合せで最低であった。

このように、 $\Delta 6$ -不飽和化反応の産物である GLA は大豆たん白質の摂取によるこの反応の低下を完全に補い得、少なくとも PGI₂の産生をカゼインレベルにまで

Table 3. Dietary protein and fat interaction on polyunsaturated fatty acid compositions of plasma and liver phosphatidylcholine

Groups (protein-fat)	Fatty acids (weight %)					
	18:2 (ω 6)	20:3 (ω 6)	20:4 (ω 6)	22:5 (ω 6)	22:6 (ω 3)	20:4/18:2
Plasma						
CAS-MO	4.3	1.0	30.3	6.4	1.6	7.4
CAS-PO	7.1 ^a	1.1	30.2	4.8 ^a	2.9 ^a	4.3 ^a
SOY-MO	7.3 ^a	1.7 ^a	29.1	4.4 ^a	1.9	4.0 ^a
SOY-PO	12.0 ^{bc}	1.7 ^b	24.2 ^{bc}	2.7 ^{bc}	3.9 ^c	2.1 ^c
Liver						
CAS-MO	2.6	0.8	35.1	6.6	2.0	13.8
CAS-PO	4.3 ^a	0.7	33.8	4.8 ^a	3.3 ^a	7.9 ^a
SOY-MO	4.4 ^a	1.5 ^a	35.3	4.2 ^a	2.2	8.2 ^a
SOY-PO	7.7 ^{bc}	1.6 ^b	31.1 ^{bc}	2.6 ^{bc}	3.6 ^b	4.1 ^{bc}

Mean of 7 to 8 rats. ^aSignificantly different from CAS-MO group ($p < 0.05$). ^bSignificantly different from CAS-PO group ($p < 0.05$). ^cSignificantly different from SOY-MO group ($p < 0.05$).

著増させた。しかも TXA_2 濃度にはほとんど影響しなかったもので、血栓形成抑制効果に優れていると考えられた。したがって、例えば大豆たん白質の摂取によってプロスタグランジンのバランスに支障をきたすとしても、適切な食餌脂肪の選択によって事実上回避できるわけである。

糞便へのステロイド排泄

糞便中へのステロイド排泄の結果を Fig. 3 にまと

めている。1 週後および 4 週後のいずれにおいても、中性および酸性ステロイドの排泄は大豆たん白質食群ラットで高い傾向にあった。増加の程度は酸性ステロイドでより顕著であった。このような観察はこれまでの結果とよく一致した¹⁰⁾。なお、GLA は中性ステロイドの排泄を促進するようであり、このことがこの脂肪酸の降 CHOL 作用と関連する可能性がある⁸⁾。

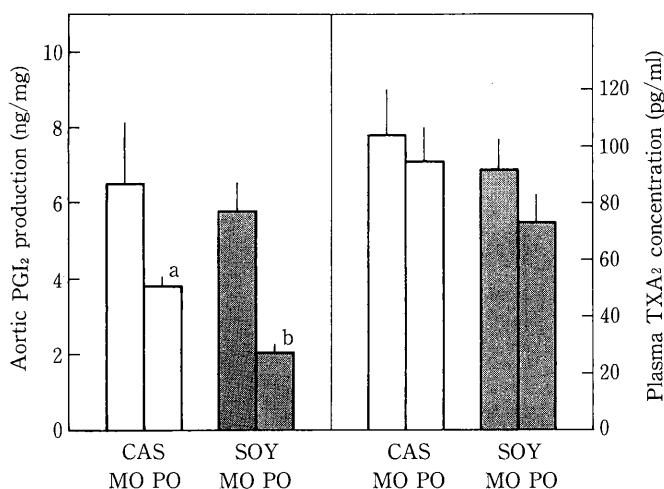


Fig. 2 Dietary protein and fat interaction on aortic production of PGI₂ and plasma concentration of TXA₂. Mean $\pm$ SE of 6 to 8 rats. ^aSignificantly different from CAS-MO group ($p < 0.05$). ^bSignificantly different from SOY-MO group ($p < 0.05$).

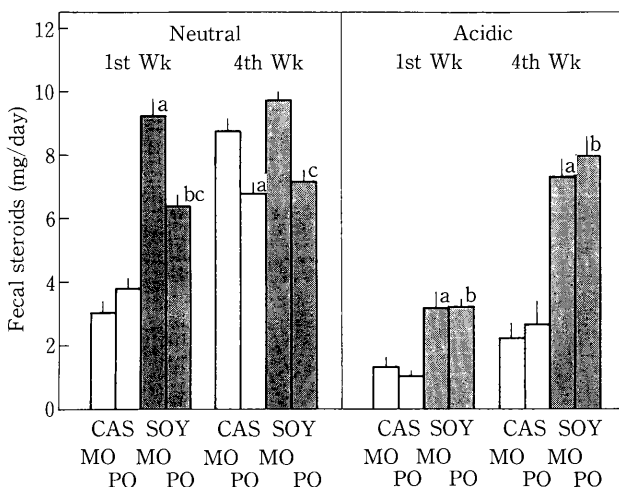


Fig. 3. Dietary protein and fat interaction on fecal steroid excretion. Mean $\pm$ SE of 6 rats. ^aSignificantly different from CAS-MO group ($p < 0.05$). ^bSignificantly different from CAS-PO group ($p < 0.05$). ^cSignificantly different from SOY-MO group ($p < 0.05$).

文 献

- 1) Huang, Y. S., Cunnane, S. C. and Horrobin, D. F. (1986) : Effect of different dietary proteins on plasma and liver fatty acid compositions in growing rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **181**, 399-403.
- 2) Sugano, M., Ishida, T. and Koba, K. (1988) : Protein-fat interaction on serum cholesterol level, fatty acid desaturation and eicosanoid production in rats. *J. Nutr.*, **118**, 548-554.
- 3) American Institute of Nutrition (1977) : Report of the AIN *Ad Hoc* Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340-1348.
- 4) Sugano, M., Ishida, T., Yoshida, K., Tanaka, K., Niwa, M., Arima, M. and Morita, A. (1986) : Effects of mold oil containing γ -linolenic acid on blood cholesterol and eicosanoid levels in rats. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2483-2491.
- 5) Sugano, M., Ishida, T. and Yoshida, K. (1986) : Effects of various polyunsaturated fatty acids on blood cholesterol and eicosanoids in rats. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2335-2340.
- 6) 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.
- 7) Horrobin, D. F. and Manku, M. S. (1983) : How do polyunsaturated fatty acids lower plasma cholesterol levels? *Lipids*, **18**, 558-562.
- 8) Sugano, M., Ide, T., Ishida, T. and Yoshida, K. (1986) : Hypocholesterolemic effect of gamma-linolenic acid as evening primrose oil in rats. *Ann. Nutr. Metab.*, **30**, 289-299.
- 9) Sugano, M., Ishiwaki, N. and Nakashima, K. (1984) : Dietary protein-dependent modification of serum cholesterol level in rats : Significance of the arginine/lysine ratio. *Ann. Nutr. Metab.*, **28**, 192-199.
- 10) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M. (1982) : Studies on the mechanism of anti-hypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixture in relation to the casein counterparts in rats. *J. Nutr.*, **112**, 1614-1625.