

マウスの血漿コレステロール濃度に対する食餌たん白質の効果

EFFECT OF DIETARY PROTEINS ON PLASMA CHOLESTEROL CONCENTRATION OF MICE

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 dietary proteins were examined on plasma cholesterol concentration of female ICR mice under various conditions. Half of them had been made hyperphagic by a treatment with goldthioglucose (GTG), which slightly elevated plasma cholesterol level. Marked elevation of plasma cholesterol level was brought about by feeding high-fat diets, while a basal low level was maintained by feeding low-fat diets or a laboratory chow. In GTG-treated mice fed either high-fat or low-fat diets for 3 weeks, no difference was observed in plasma cholesterol level between casein- and SPI-fed mice. In normal mice fed high-fat diets for 3 weeks, SPI rather showed a slight hypercholesterolemic effect compared with casein. In normal mice fed low-fat diets for 3 weeks, SPI showed a slight hypocholesterolemic effect. However, no such hypocholesterolemic effect of SPI was observed in normal mice fed low-fat diets for either 1 week or 13 weeks and in lean control mice fed similar diets for 6 weeks. A marked hypercholesterolemia of an identical degree was observed in genetically obese (ob/ob) mice fed either low-fat casein, low-fat SPI, or a laboratory chow. It was concluded that SPI did not exert a significant hypocholesterolemic effect in mice, in contrast to results with other species of animals like rabbits, pigs, and rats. Taken together with our last year's observation that SPI did not cause any stimulatory effect on fecal excretion of neutral sterols in mice, the present result suggests that the hypocholesterolemic effect of SPI observed in other species of animals is due to stimulation of fecal sterol excretions. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **9**, 82-85, 1988.

大豆たん白質の血漿コレステロール濃度低下作用の機序については諸説があるが、いまだに解明されていない。一般に同組成のアミノ酸混合物は効果が少ないことから、大豆たん白質の本作用は、消化管内で発揮される可能性が強い¹⁾。大豆たん白質をはじめとする植物たん白質には糞へのステロール排泄を増加させる作用があり、降コレステロール効果との関連性が注目されている²⁻⁴⁾。一方、コレステロール代謝には動物種差

が大きいことが知られているが、私共は昨年までの研究で、分離大豆たん白質(SPI)はカゼインに比し、ラットでは血漿コレステロール濃度を低下させるとともに糞へのステロール排泄を増加させるが、マウスではいずれの効果もほとんどみとめられないことを観察し、降コレステロール効果と糞へのステロール排泄促進効果との関連性を支持する結果として報告してきた^{5,6)}。今回は、マウスの血漿コレステロール濃度に対する

SPI の影響を種々の条件下でカゼインと対比してさらに検討した。

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系雌マウスを主として使用した。ゴールドチオグルコース (GTG) 投与による肥満マウスの作成には、4週齢の雌マウスに0.5 mg/g 体重のGTGを腹腔内注射した。正常、およびGTG投与マウスとも3日間オリエンタル酵母社製の固型飼料MFで飼育したのち、各種の実験飼料を一定期間自由に摂取させた。半合成実験飼料の組成はTable 1に示す。各成分の入手先およびマウスの飼育条件は前報⁶⁾に記述した通りであるが、飼育温度は今回は25±1℃を用いた。血漿コレステロール濃度は前報⁶⁾と同様の方法で測定した。有意差検定にはStudentのtテストを用いた。

結 果

種々の条件下で3週間飼育したICR系雌マウスの体重と血漿コレステロール濃度をまとめてTable 2に示す。半数のマウスにGTG処理を行ったのは、過食と肥満により高コレステロール血症を呈するため食餌たん白質の効果を観察するのに便利と考えたからである。同様の理由で半合成飼料として通常の低脂肪食 (LF)のほか、30% Crisco(水素添加植物油、各25%の飽和脂肪酸と多価不飽和脂肪酸を含有)を含む高脂肪食 (HF)を使用した。

Table 2 にみられるように、GTG 処理群は正常群に比し、とくに半合成飼料群でかなりの過体重を示し、過食・肥満の傾向がみられた。血漿コレステロール濃度も対応する正常群より若干高値を示したが、その差は比較的少なかった。一方、飼料の脂肪含量はマウスの血漿コレステロール濃度に顕著な影響を及ぼした。すなわち、GTG 処理の有無にかかわらず、高脂肪食 (HF) は低脂肪食 (LF) に比して高コレステロール血症を誘発した。ラットではこのような効果はみられず、このこともコレステロール代謝に関してみられるラットとマウスの間の種差のひとつであった。なお、飼料の脂肪含量はマウスの体重には影響しなかったことから、過食・肥満を介して血漿コレステロール濃度に影響する可能性は否定される。

飼料たん白質の血漿コレステロール濃度に対する効果をカゼインとSPIとの間で比較すると、GTG 処理群マウスでは高脂肪食、低脂肪食ともに、まったく差がなかった。一方、正常マウスでは、高脂肪食の場合には、SPI はむしろ僅かながら有意に血漿コレステロ

ール濃度を上昇させた(危険率5%)。逆に、低脂肪食の場合にはSPIの有意な降コレステロール効果がみられたが、変動巾が大きく(危険率5%)、効果の程度は小さかった。私共は昨年度の研究で、正常マウスを低脂肪食で飼育した場合にSPIがかなり有効な降コレステロール効果を示すことをみとめているが⁶⁾、その後の実験ではそのような効果を見とめなかったわけである。さらに、同じ条件で1週間の短期飼育、あるいは13週間の長期飼育を試みたが、これらの場合にもカゼインとSPIとの間に差がなかった (Table 3)。

一方、遺伝性肥満マウスでは高コレステロール血症を呈することが知られている。そこで、ob/ob 肥満マウスを用いて食餌たん白質の効果を検討した。Table 4 に示すように、低脂肪食、あるいは固型飼料であって

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

Table 2. Dietary effects on plasma cholesterol level of mice with or without goldthioglucoase (GTG) treatment

Diet	(n)	Body weight (g)	Plasma cholesterol (mg/100 ml)
(GTG-treated)			
HF-casein	(9)	34.3±1.3	134.3±5.7 ^a
HF-SPI	(11)	37.2±1.4	128.8±7.4 ^b
LF-casein	(6)	37.4±2.9	77.1±8.6 ^c
LF-SPI	(7)	32.7±1.7	81.5±8.6 ^d
Chow	(8)	28.5±1.4	72.0±4.7 ^e
(Normal)			
HF-casein	(14)	27.6±2.7	94.1±6.1 ^f
HF-SPI	(14)	26.3±2.4	113.9±5.2 ^g
LF-casein	(19)	28.9±0.8	74.8±5.0 ^h
LF-SPI	(18)	27.6±0.8	59.4±4.6 ⁱ
Chow	(14)	26.8±0.7	64.6±3.2 ^j

Experimental diets were fed for 3 weeks. Values are means±SE. Significant difference is present between *f* and *g* ($p<0.01$) and between *h* and *i* ($p<0.05$), but not between *a* and *b* or between *c*, *d*, and *e* ($p>0.1$).

Table 3. Dietary effects on plasma cholesterol level of normal mice after indicated periods of feeding

Diet	(n)	Body weight (g)	Plasma cholesterol (mg/100 ml)
(1 week)			
LF-casein	(10)	26.4±0.5	72.5±4.5
LF-SPI	(10)	25.6±1.6	65.6±4.7
(13 weeks)			
LF-casein	(6)	31.5±1.1	52.1±6.5
LF-SPI	(6)	33.7±1.3	59.3±4.6
Chow	(6)	27.7±1.0	58.2±3.3

Values are means±SE.

Table 4 Dietary effect on plasma cholesterol level of genetically obese (ob/ob) mice and their lean controls

Diet	(n)	Body weight (g)	Plasma cholesterol (mg/100 ml)
(Obese mice)			
LF-casein	(4)	50.2±1.4	207±24
LF-SPI	(3)	50.7±2.8	200±7
Chow	(3)	49.5±1.6	199±17
(Lean mice)			
LF-casein	(4)	31.8±0.5	74±7
LF-SPI	(5)	28.1±0.5	80±6
Chow	(7)	29.7±0.7	86±5

Diets were fed for 6 weeks starting at the age of 11 weeks. Values are means±SE.

も ob/ob マウスでは顕著な高コレステロール血症を呈したが、この場合にもカゼインと SPI との間には差がなかった。対照の非肥満群においては高コレステロール血症はみとめられず、この場合にもカゼインと SPI との間に差がなかった。

考 察

前回にひきつづき、今回の各種飼育実験の結果をまとめると、SPI はマウスにおいては有意な降コレステロール作用を呈しないと結論できる。前回は低脂肪食飼育の正常マウスに限って SPI の降コレステロール効果をみとめたが、その後の追試実験ではみとめられず、同じ条件で飼育期間を変えた場合や ob/ob 肥満系の対照非肥満マウスでも SPI とカゼインとの間に差がなかったからである。SPI の降コレステロール効果は低脂肪食飼育の GTG 肥満マウスでもみとめられず、高脂肪食飼育によって高コレステロール血症を呈した GTG 肥満あるいは正常マウス、さらに低脂肪食で高

度の高コレステロール血症を呈する ob/ob 肥満マウスにおいても同様であった。

文献的に検索すると、マウスにおける SPI の降コレステロール効果はこれのみとめないとする報告^{7,8)}、特定の週齢にのみみとめるとする報告⁹⁾、およびごく軽度のみとめるとする報告¹⁰⁾があるが、私共の今回の結論と大きい違いはないように思われる。いづれにしても、ウサギ^{1,2)}やラット^{4,5,7,9)}で SPI の降コレステロール効果が顕著にみとめられる事実と対比すると明らかな動物種差がみられるわけである。

私共は前回、ウサギ²⁾、ブタ³⁾、ラット^{4,5)}などでの観察と相違してマウスでは SPI の糞中性ステロール排泄促進作用がみられないことを報告した⁶⁾。このことは糞へのステロール排泄促進作用が SPI の降コレステロール効果の重要な機序である可能性を支持するものである。今後、糞の酸性ならびに中性ステロール解析法をより精緻化し、種々の条件下における血漿コレステロール濃度と糞ステロール排泄に対する食餌たん白質の効果について、各種動物を用いて検討をすすめたい。

文 献

- 1) Huff, M. W., Hamilton, R. M. G. and Carroll, K. K. (1977): Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol-free, semipurified diets: Effects of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acid mixture. *Atherosclerosis*, **28**, 187-195.
- 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) Kim, D. N., Lee, K. T., Reiner, J. M. and Thomas, W. A. (1980): Increased steroid excretion in swine fed high-fat, high-cholesterol diet with soy protein. *Exp. mol. Pathol.*, **33**, 25-35.
- 4) Nagata, Y., Tanaka, K. and Sugano, M. (1981): Further studies on the hypocholesterolaemic effect of soya-bean protein in rats. *Br. J. Nutr.*, **45**, 233-241.
- 5) 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.
- 6) 山下洵子, 上村美和子, 林 伸一 (1987): ステロール排泄に対する大豆たん白質の効果. 大豆た

ん白質栄養研究会会誌, 8, 89-92.

- 7) 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.
- 8) Weinaus, G.J.B. and Beynen, A.C. (1983): Plasma cholesterol concentrations in mice fed cholesterol-rich, semipurified diets containing casein or soybean protein. *Nutr. Rep. Int.*, **28**, 1017-1027.
- 9) 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.
- 10) Roy, D.M. and Schneeman, B.O. (1981): Effect of soy protein, casein and trypsin inhibitor on cholesterol, bile acids and pancreatic enzymes in mice. *J. Nutr.*, **111**, 878-885.