

# 大豆たん白質による肝コレステロール濃度の調節機構

## LIVER CHOLESTEROL-LOWERING ACTIVITY OF SOYBEAN PROTEIN ISOLATE IN RATS

佐伯 茂・金内 理・細谷恵理・桐山修八（北海道大学農学部）

Shigeru SAEKI, Osamu KANAUCHI, Eri HOSOYA and Shuhachi KIRIYAMA

Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060

### ABSTRACT

In rats fed a cholesterol-free purified diet, soybean protein isolate (SPI) showed a cholesterol-lowering activity not only in plasma, but also in the liver when compared with that of casein. The differences of rate of sterol synthesis between groups were not responsible for the responses of the liver and plasma cholesterol concentration to dietary proteins: the rates of sterol synthesis *in vivo* in the liver and the small intestine were significantly higher in SPI-fed rats. The casein-induced higher level of plasma cholesterol was mainly due to the increase in HDL-cholesterol. The liver cholesterol level rapidly responded to the change in dietary protein, which was highly correlated with the changes of HDL-cholesterol and LCAT activity. However, the addition of Met to the SPI diet increased HDL-cholesterol to the casein-induced level, but the liver cholesterol remained at a low level. Furthermore, although the plasma cholesterol level was significantly higher in rats fed a diet containing the casein-type amino acid mixture than in rats fed a diet containing the SPI-type amino acid mixture, there was no significant difference in the liver cholesterol levels between these groups. These results would imply that the regulatory mechanism for the liver cholesterol level differs from that for plasma cholesterol level. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 10, 53-57, 1989.

コレステロール (CHOL) を含まない飼料のたん白質源として分離大豆たん白質 (SPI) をラットに与えると、カゼイン (CAS) を与えた時に比べ、血漿 CHOL が低下する。著者らは、この血漿 CHOL 応答は迅速に発現し、飼料を与えた3日以内に各たん白質源に固有の定常レベルに到達することを見いだした<sup>1)</sup>。SPI の血漿 CHOL 低下作用に関して現在のところ支配的となっている説は、SPI を摂取すると、ステロイドの吸収阻害が起こるため血漿 CHOL 濃度が低下するというものである<sup>2,3)</sup>。しかし著者らは、飼料たん白質に対する血漿 CHOL 応答の相違は飼料群間でのステロイド吸収の違いによって生じるものではなく<sup>1,4-6)</sup>、両飼料たん白質が吸収された後の血漿アポリポたん白

の代謝応答の違いによって発現することを示唆した<sup>5,6)</sup>。ところで、飼料たん白質は、血漿 CHOL 濃度ばかりでなく、肝 CHOL 濃度にも影響を及ぼすことが知られており、その現象も非常に興味深い。そこで本研究では、飼料たん白質に対する肝 CHOL の応答機構を知る手がかりを得るために実験を行なった。

### 実験方法

実験動物には、SD 系雄ラット（初期体重150-200 g）を用いた。CHOL を添加しない実験飼料は、窒素源として実験1, 2ではCASまたはSPIを25%、実験3ではCASまたはSPIを20%、CAS類似アミノ酸混合物 (CAS A. A.) を19.7%、SPI類似アミノ酸混合物

(SPI A. A.) を17.2%含み、その他の栄養素は充分量含むように調製した。また実験3では、CAS 飼料とSPI 飼料のMet 含量が等しくなるようにSPI 飼料にMet を0.28%添加した飼料、およびSPI A. A. 飼料にcholestyramine を3%添加した飼料を用いた。血漿CHOL 濃度は久城らの方法<sup>7)</sup>、肝CHOL 濃度は久城らの方法<sup>7)</sup>またはPearson らの方法<sup>8)</sup>によって測定した。

実験1では、CAS またはSPI 飼料でラットを飼育してきた10日目の暗期に、血漿、肝CHOL 濃度を測定するとともに、Jeske と Dietschy の方法<sup>9)</sup>に従って肝、小腸CHOL 合成速度を測定した。

実験2では、CAS またはSPI 飼料でラットを飼育してきた10日目に飼料を交換し、飼料交換後0, 1, 2, 3, 10日目に、血漿、肝CHOL 濃度を測定した。血漿は超遠心法によってLDL+VLDL とHDL に分画し、各画分中CHOL を測定した。またLCAT 活性をNagasaki と Akanuma の方法<sup>10)</sup>に従って測定した。

実験3では、先に示した各実験飼料で9日間ラットを飼育した後、血漿、肝CHOL 濃度を測定した。またHDL-CHOL を沈澱法で測定し、血漿CHOL とHDL-CHOL の差を(LDL+VLDL)-CHOL とした。

## 結果と考察

### 実験1

血漿、肝CHOL 濃度はSPI 飼料群で有意に低かったが、肝、小腸CHOL 合成速度は、SPI 飼料群が有意に高かった(Table 1)。従って、肝CHOL 濃度の変動に対して、CHOL 合成能はそれほど寄与していないものと考えられる。

### 実験2

10日間のCAS 飼料で飼育した群の肝CHOL 濃度は、SPI 飼料群よりも有意に高く、10日目からSPI 飼

料に切り替えると急速に低下した(Fig. 1)。逆に10日間SPI 飼料で飼育した群にCAS 飼料を与えると、肝CHOL 濃度は急速に上昇した(Fig. 1)。この時のHDL-CHOL とLCAT 活性は肝CHOL と似た挙動

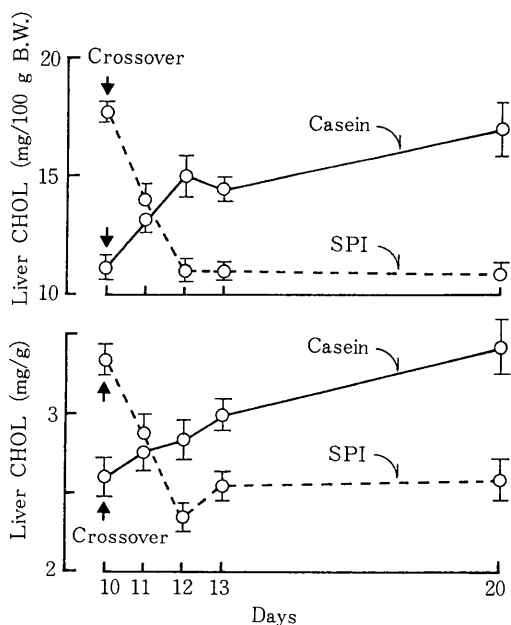


Fig. 1. Change in the liver cholesterol level on and after the diet crossover in experiment 2. After rats were fed the casein or SPI diet for 10 days, the diets were exchanged. Each point is the mean of 6 rats and vertical bars represent SEM. Values not sharing a common letter are significantly different between groups on the same day ( $p < 0.05$ ). Statistical comparisons were made with Student's t-test. ○—○, the casein diet; ○·····○, the SPI diet.

Table 1. Cholesterol levels in plasma and the liver and rates of sterol synthesis *in vivo* in the liver and the small intestine in casein- and SPI-fed rats in experiment 1<sup>1,2</sup>

Dietary group	Tissue cholesterol level		[ <sup>3</sup> H]water incorporation	
	Plasma	Liver	Liver	Small intestine
	mg/100 ml	mg/tissue	dpm/tissue	dpm/tissue
Casein	105.7 ± 4.5 <sup>a</sup>	43.6 ± 2.1 <sup>a</sup>	1683 ± 330 <sup>a</sup>	2147 ± 93 <sup>a</sup>
SPI	58.8 ± 4.0 <sup>b</sup>	28.9 ± 1.8 <sup>b</sup>	7170 ± 1266 <sup>b</sup>	3472 ± 409 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Values are means ± SEM. <sup>2</sup>Significant differences among the means were determined by Student's t-test. Means not sharing a common superscript letter within the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

を示し (Figs. 2, 3), 互いに肝 CHOL と高い相関を示した (Fig. 4)。このことは、肝 CHOL 変動に対して、HDL アポリポたん白質の代謝変動が寄与しているとも考えられる。結果を示していないが、HDL アポリポたん白濃度は CAS 飼料群で有意に高く、しかも飼料たん白質源に対して迅速に应答することを確認している。

### 実験 3

実験 2 において肝 CHOL と HDL-CHOL とが連動しているようにも思われたが、そうならない場合があることが明らかになった (Fig. 5)。つまり、SPI に

Met を添加すると HDL-CHOL が上昇し、血漿 CHOL 濃度は CAS 飼料群レベルに到達したが、肝 CHOL は低いまま維持された (Fig. 5)。また、CAS A. A. 飼料群の HDL-CHOL 濃度は、SPI A. A. 飼料群よりも有意に高かったが、肝 CHOL 濃度に有意差はなかった (Fig. 5)。血漿 CHOL 応答は飼料アミノ酸組成の違いから説明できるが、肝 CHOL 応答はそれでは説明できず、肝 CHOL と血漿 CHOL とはそれぞれ異なった機構で調節されていると考えられた。

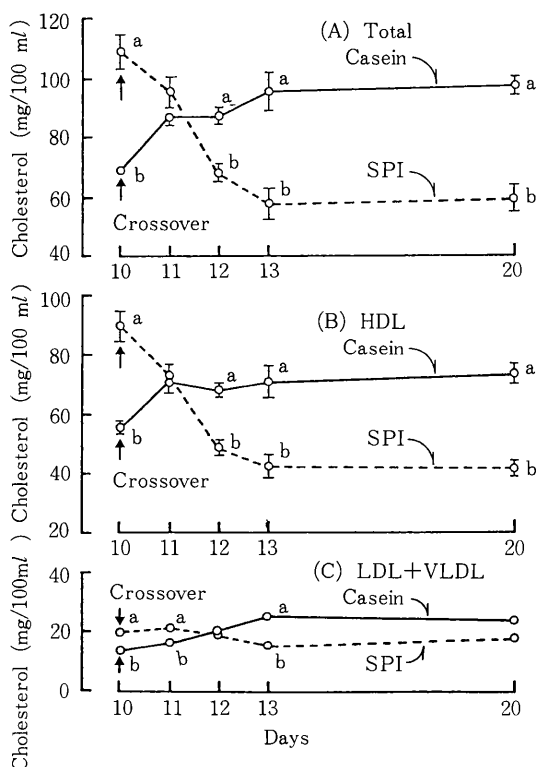


Fig. 2. Change in plasma total cholesterol (A), HDL-cholesterol (B) and (LDL+VLDL)-cholesterol (C) on and after the diet crossover in experiment 2. After rats were fed the casein or SPI diet for 10 days, the diets were exchanged. Each point is the mean of 6 rats and vertical bars represent SEM. Values not sharing a common letter are significantly different between groups on the same day ( $p < 0.05$ ). Statistical comparisons were made with Student's t-test. ○—○, the casein diet; ○····○, the SPI diet.

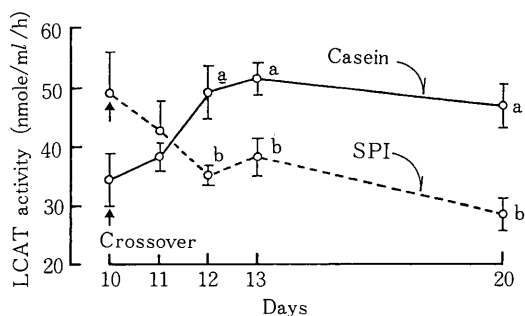


Fig. 3. Change in LCAT activity on and after the diet crossover in experiment 2. After rats were fed the casein or SPI diet for 10 days, the diets were exchanged. Each point is the mean of 6 rats and vertical bars represent SEM. Values not sharing a common letter are significantly different between groups on the same day ( $p < 0.05$ ). Statistical comparisons were made with Student's t-test. ○—○, the casein diet; ○····○, the SPI diet.

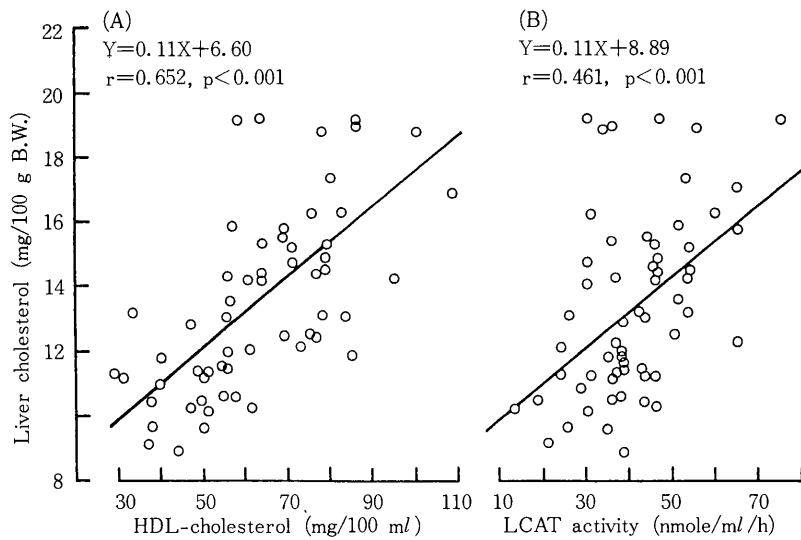


Fig. 4. Correlations between the liver cholesterol level and (A) HDL-cholesterol and (B) LCAT activity in experiment 2.

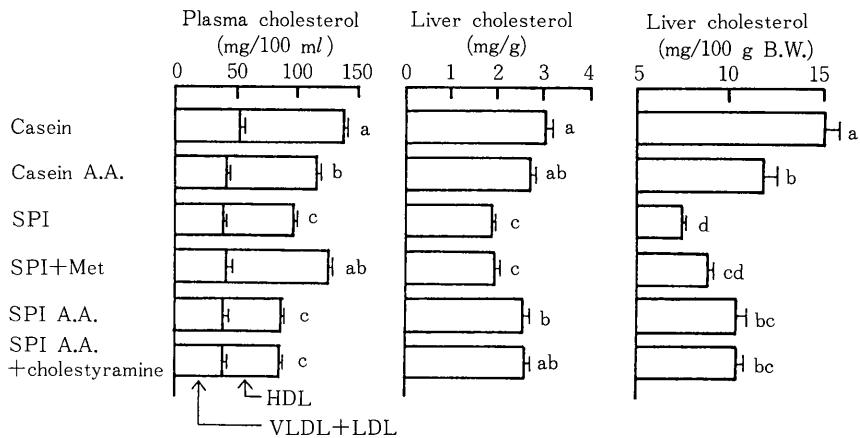


Fig. 5. Cholesterol levels in plasma and the liver in rats fed the respective diets in experiment 3. Each value is the mean of 6 rats and horizontal bars represent SEM. Values not sharing a common letter are significantly different between groups ( $p<0.05$ ). Statistical comparisons were made with Duncan's multiple-range test.

## 文 献

- 1) Saeki, S., Nishikawa, H. and Kiriyaama, S. (1987) : Effects of casein or soybean protein on plasma cholesterol level in jejunectomized or ileectomized rats. *J. Nutr.*, **117**, 1527-1531.
- 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 anti-hypercholesterolemic 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) Saeki, S., and Kiriyaama, S. (1988) : Conservation of hyper- and hypo-cholesterolemic activities of dietary casein and soybean protein isolate after the administration of cholestyramine in the rats. *Nutr. Rep. Int.*, **37**, 565-573.
- 5) Saeki, S. and Kiriyaama, S. (1989) : Effects of hypolipidemic drugs on plasma cholesterol levels characteristic of dietary casein and soybean protein in the rat. *Nutr. Rep. Int.*, **39**, 185-195.
- 6) Saeki, S. and Kiriyaama, S. (1989) : Some evidence excluding the possibility that plasma cholesterol is regulated by the modification of enterohepatic circulation of steroids. *Proc. on ISF-JOCS World Congress 1988*, **2**, 1227-1233.
- 7) Kushiro, H., Minakuchi, F. and Fukui, I. (1972) : Ultramicro determination methods of serum lipids. I. Cholesterol. *Jpn. J. Clin. Pathol.*, **20**, 573-576.
- 8) Pearson, S., Stern, S. and McGavack, T. H. (1953) : A rapid, accurate method for the determination of total cholesterol in serum. *Anal. Chem.*, **25**, 813-814.
- 9) Jeske, D. J. and Dietschy, J. M. (1980) : Regulation of rates of cholesterol synthesis in vivo in the liver and carcass of the rats measured using [ $^3\text{H}$ ] water. *J. Lipid Res.*, **21**, 364-373.
- 10) Nagasaki, T. and Akanuma, Y. (1977) : A new colorimetric method for the determinations of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase activity. *Clin. Chim. Acta*, **75**, 371-375.