

脂質代謝における大豆たん白質の栄養特性

NUTRITIONAL SPECIFICITY OF SOYPROTEIN DIET FOR LIPID METABOLISM IN RATS

丹羽真一・小田裕昭・吉田 昭（名古屋大学農学部）

Sinichi NIWA, Hiroaki ODA and Akira YOSHIDA

School of Agricultural Science, Nagoya University, Nagoya 464

ABSTRACT

We demonstrated previously that soyprotein had a hypocholesterolemic effect in rats as compared with either casein or rice protein although fecal excretion of steroids was stimulated by either soyprotein or riceprotein. We concluded that the soyprotein diet decreased the serum level of cholesterol partially decreasing the secretion of lipoproteins from the liver due to the insufficient synthesis of apolipoproteins. In the present paper, we investigated the effect of dietary protein on the LDL-receptor and LDL-receptor related protein (LRP) in the liver. Male rats of the Wistar strain were fed 15% protein diets. Dietary proteins were either casein, soyprotein isolate (SPI), or riceprotein concentrate. Experimental period was 1 or 7 days, and LDL-receptor and LRP in liver membrane fraction were estimated by Western blotting analyses. The results indicated that both LDL-receptor and LRP were not affected by the dietary proteins tested. HMG-CoA reductase activity and its mRNA in livers of rats fed either SPI or riceprotein diet were similarly higher than those of rats fed the casein diet. These results further suggest the importance of apolipoprotein syntheses and their secretion from the liver for controlling the serum level of cholesterol together with the fecal excretion of bile acids. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **13**, 97-100, 1992.

大豆たん白質の血清コレステロール濃度低下作用に関しては、これまで多くの場合、カゼインとの比較で研究されてきた。また、植物性たん白質は一般に動物性たん白質に比べて血清コレステロール濃度を低下させると考えられてきた^{1,2)}。著者らはさきに、カゼイン、大豆たん白質、米たん白質の3者についてラットを用いて実験し、米たん白質摂取ラットでは大豆たん白質の場合と異なり、糞中への胆汁酸の排泄は大豆たん白食の場合と同様に増加するにもかかわらず血清コレステロール濃度は大豆たん白食群のように低下しないことを報告した³⁾。また、大豆たん白群では血漿リポたん白質中のアポ A-I 濃度、肝アポ A-I mRNA が低下すること、大豆たん白食へのメチオニンの添加によって、これらが上昇するとともに血清コレステロール

濃度も上昇することから⁴⁾、大豆たん白食による血清コレステロールの低下はメチオニン含量の少ないことによるアポたん白質の合成能の低下、それによるリポたん白質の肝よりの放出低下が一つの要因になっているものと推定した。一方、大豆たん白質摂取による血清コレステロール濃度低下作用としてリポたん白質の取り込みの増加によるものとする考え方もある^{5,6)}。これまでのわれわれの実験でも短期間では VLDL, HDL というアポ E に富んだ画分でのコレステロールも低下していたので、大豆たん白摂取1日および7日後での E リセプターであると考えられる LDL リセプター、LDL リセプター関連たん白質 (LRP) の肝臓での量を測定した。また、HMG-CoA レダクターゼ mRNA と食餌たん白質との関連についても調べた。

実 験

実験動物には100 g 前後の Wistar 系雄ラットを使用した。実験飼料は十分量のビタミン、ミネラルを含む15%たん白質飼料で、たん白源としてカゼイン、分離大豆たん白質（フジプロ-R, SPI）を用いた。血清リポたん白質の分画は超遠心法により行った。VLDL ($d < 1.006$ g/mL), LDL ($d = 1.006 - 1.045$ g/mL), HDL₁ ($d = 1.045 - 1.080$ g/mL), HDL₂ ($d = 1.080 - 1.210$ g/mL) に分離し、コレステロールを測定した。また、各リポたん白質の脂質を除去し、SDS-PAGEにより、アポリポたん白質を分画定量した。肝臓の膜画分⁷⁾の一定量を非還元状態でゲル濃度5%の SDS-PAGE により分離し、ニトロセルロースフィルターに移した。抗体には、ペルオキシダーゼ標識された抗ヒト C9 抗体を用い、LDL-リセプター、LDL-リセプタ

ー関連たん白質 (LRP) を検出し⁸⁾、デンストメーターにより定量した。

HMG-CoA レダクターゼ mRNA は肝 RNA 抽出物について、ハムスター HMG-CoA レダクターゼ cDNA をプローブとしてブロッティング解析を行った。

結 果 と 考 察

試験飼料摂取1日後の血清リポたん白中のコレステロールの分布をみると、VLDL, HDL₁, 分画において、SPI 群では有意に低く HDL₂ でも低下していた (Fig. 1)。また、リポたん白分画中のアポたん白量とカゼイン群を100として、相対量で示したのが Fig. 2 である。アポ B, A-IV, E, A-I, C の何れのアポたん白質も SPI 群で低下し、特定のアポたん白質のみが低下するわけではなく、恐らく肝でのアポたん白質の合成が全体と

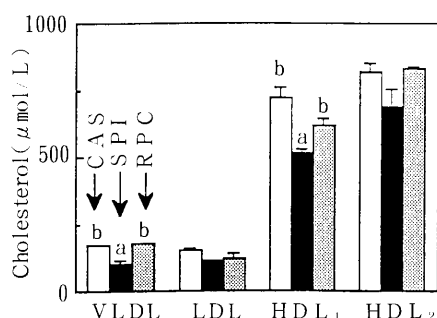


Fig. 1. Distribution of cholesterol in the fraction of lipoprotein of serum in rats fed 15% CAS, SPI or RPC for 1 day. Values are means $\pm$ SEM based on 3 pools of 3 rats per pool. Means not followed by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

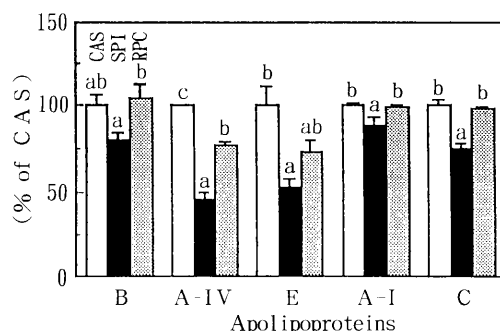


Fig. 2. Serum levels of apolipoproteins in rats fed diets containing 15% CAS, SPI or RPC for 1 day. Values are means $\pm$ SE based on 3 pools of 3 rats per pool. Means not followed by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

Table 1. Liver lipoprotein-receptors of rats fed diets containing the different types of protein for 1 day

	15% CAS	15% SPI	15% RPC
LDL receptor-related protein			
(-/g liver)	100 $\pm$ 9 ¹	112 $\pm$ 12	119 $\pm$ 12 ¹
(-/liver/100 g body wt)	100 $\pm$ 10	95 $\pm$ 11	109 $\pm$ 11
(-/mg protein)	100 $\pm$ 11	117 $\pm$ 11	106 $\pm$ 9
LDL receptor			
(-/g liver)	100 $\pm$ 19	132 $\pm$ 24	137 $\pm$ 30
(-/liver/100 g body wt)	100 $\pm$ 19	113 $\pm$ 21	127 $\pm$ 27
(-/mg protein)	100 $\pm$ 20	139 $\pm$ 24	125 $\pm$ 28

¹Means $\pm$ SEM of 5 rats in CAS and SPI groups and of 6 rats in RPC group.

して低下しているか、肝からの放出が低下しているものと考えられた。

しかし、組織でのリポたん白質レセプターの量的あるいは機能的変動によって血清リポたん白質量が低下する可能性も考えられる。そこで、これまでに比較的良好に研究されている LDL-レセプター、および近年注目されている LDL-レセプター関連たん白質 (LRP) の量的変動を肝臓についてウェスタンブロット解析を行った。試験飼料摂取 1 日後の結果を Fig. 3 および Table 1 に示す。LDL-レセプターも LRP の何れについても、食餌たん白質の違いによる変化は認められなかった。試験飼料を 7 日間与えた場合も同様の結果がえられた (Table 2)。

リポたん白質そのものを標識して、レセプターとの結合を観察することも必要であり。結論的なことはい

えないが、これまでの実験結果の範囲では、レセプターに大きな変化はなく、大豆たん白食による血清コレステロール濃度の低下には、胆汁酸の排泄促進と同時に、アポたん白合成の低下によるリポたん白質の肝からの放出低下が重要な要因になるものと考えられた。

カゼイン食群に比し、SPI 食群、米たん白食群では、肝でのコレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA レダクターゼ活性はむしろ増加していることは前にも報告した。この点をさらに mRNA 量の変動の面から確かめようとした。

試験飼料摂取 1 日後に米たん白食群ではすでに HMG-CoA レダクターゼ mRNA の上昇が観察されたが、SPI 群では変化が認められなかった (Fig. 4)。しかし、7 日後においては、SPI 食群、米たん白食群の何れもが、カゼイン群に比し mRNA の有意な上昇

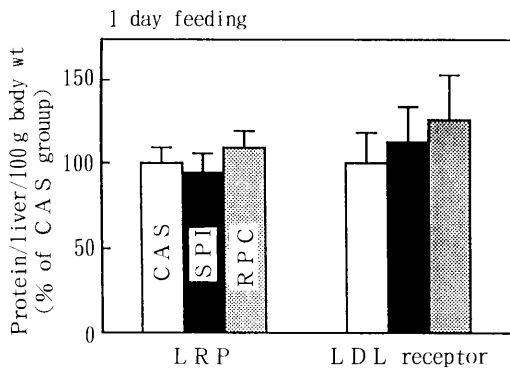


Fig. 3. Liver lipoprotein-receptor of rats fed diets containing the different types of protein for 1 day.

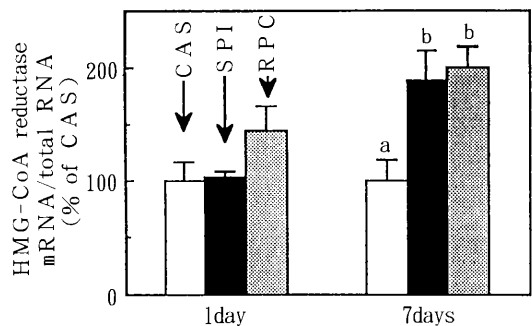


Fig. 4. Liver mRNA of HMG-CoA reductase in rats fed diets containing 15% CAS, SPI or RPC for 1 day or 7 days. Values are means $\pm$ SEM of 6 rats. Means not followed by the same letter are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2. Liver lipoprotein-receptors of rats fed diets containing the different types of protein for 7 days

	15% CAS	15% SPI	15% RPC
LDL receptor-related protein			
(-/g liver)	100 $\pm$ 17 ¹	94 $\pm$ 11	99 $\pm$ 15
(-/liver/100 g body wt)	100 $\pm$ 16	75 $\pm$ 8	98 $\pm$ 17
(-/mg protein)	100 $\pm$ 12	96 $\pm$ 14	106 $\pm$ 13
LDL receptor			
(-/g liver)	100 $\pm$ 26	92 $\pm$ 25	82 $\pm$ 11
(-/liver/100 g body wt)	100 $\pm$ 25	77 $\pm$ 22	81 $\pm$ 10
(-/mg protein)	100 $\pm$ 28	95 $\pm$ 27	85 $\pm$ 12

¹Means $\pm$ SEM of 3 rats for LDL receptor-related protein and of 5 rats for LDL receptor.

がみられ、HMG-CoA レダクターゼ活性の上昇が mRNA の増加によって裏付けられた。

これらの実験から、コレステロール合成系が上昇していても、アポリポたん白質の合成の抑制が血清コレステロール濃度に大きく影響する場合のあることが示された。

カゼイン食でも、低たん白条件にすると、アポリポたん白質の合成が低下することが考えられるので、その場合の血清コレステロール、血清アポ A-I、肝アポ A-I mRNA の関連を調べた。飼料中のたん白レベルは 40% (高たん白群) と 5% (低たん白群) とした。5% カゼイン食では体重がほぼ維持される程度で、殆ど成長はみられなかった。血清コレステロール濃度は試験飼料摂取後 1 日ですでに差がみられ、5% カゼイン群では、40% カゼイン群に比し、明らかに低い値を示した。このような差は 3 日後、7 日後にもみられた。血清アポ A-I 濃度で肝でのアポ A-I mRNA もほぼ同様の変化を示し、血清コレステロール濃度と、アポ A-I 濃度、肝アポ A-I mRNA の 3 者の間には相関性のあることが示された。これらの結果からもアポリポたん白質の合成や分泌が血清コレステロール濃度を支配する要因の一部であることが推定された。

文 献

- 1) Nagata Y, Ishiwaki N and Sugano M (1982): Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixture in relation to casein counterparts in rats. *J Nutr*, **112**, 1614-1625.
- 2) Sugano M (1983): Hypercholesterolemic effect of plant protein in relation to animal protein: Mechanism of action, in "Animal and Vegetable Proteins in Lipid Metabolism and Atherosclerosis", ed. by Kritchevsky D and Gibney MJ, Alan R Liss, Inc, New York, pp. 41-84.
- 3) 吉田 昭, 奥村佳史 (1987): コレステロールの代謝における分離大豆たん白質の栄養特性. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **8**, 83-88.
- 4) 丹羽真一, 小田裕昭, 吉田 昭 (1991): 大豆たん白質へのメチオニン添加による血清コレステロール、肝アポ A-I mRNA の変動. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **12**, 63-66.
- 5) Samman S, Khosla P and Carroll KK (1989): Effects of dietary casein and soy protein on metabolism of radiolabelled low density apolipoprotein B in rabbits. *Lipids*, **24**, 169-172.
- 6) Sirtori CR, Galli G, Lavati MR, Carrara P, Bosisio E and Kienle MG (1984): Effects of dietary proteins on the regulation of liver lipoprotein receptors in rats. *J Nutr*, **114**, 1493-1500.
- 7) Kovanen PT, Brown MS and Goldstein JL (1979): Increased binding of low density lipoprotein to liver membranes from rats treated with 17 α -ethinyl estradiol. *J Biol Chem*, **254**, 11367-11373.
- 8) Lund H, Takahashi K, Hamilton RL and Havel RJ (1989): Lipoprotein binding and endosomal itinerary of the low density lipoprotein receptor-related protein in rat liver. *Proc Natl Acad Sci, USA*, **86**, 9318-9322.