

高コレステロール血症 (ExHC) ラットの動脈硬化病変に及ぼす食事大豆たん白質の影響

Effect of Dietary Soybean Protein on Arterial Lesions in Hypercholesterolemic (ExHC) Rats

今泉勝己・福山俊彦・窄野昌信(九州大学農学部)

Katsumi IMAIZUMI, Toshihiko FUKUYAMA and Masanobu SAKONO

Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-81

ABSTRACT

Atherosclerotic lesions of the aorta were induced in ExHC (exogenous hypercholesterolemic) rats treated with 2×10^5 IU of vitamin D₂/kg body weight for the initial 4 days and subsequently fed a purified diet supplemented with cholesterol and cholic acid for an experimental period of 72-180 days. Dietary soybean protein, as compared with casein, fed for as long as 180 days significantly decreased the degree of atherosclerotic changes in the aorta. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **16**, 32-35, 1995.

日本人の食生活の欧米化に伴い、動脈硬化性疾患が多くなってきた。各種疾患の発生に及ぼす食事の影響を検討するのにラットは有用であるが、高コレステロール食で飼育してもラットは弱い動脈硬化病変しか示さない。そこで本研究では、食事性高コレステロール血症を発症しやすい遺伝的素因をもつExHC (exogenously hypercholesterolemic) ラット^{1,2)}に過剰のビタミンD₂を投与することによって、動脈硬化病変を発症する実験動物モデルを作成することを試みた。ついで、このモデル動物を用い、カゼインを対照たん白質として、大豆たん白質の動脈硬化の進展に及ぼす影響について検討した。

実験方法

予備実験

実験動物には、10週齢、雄のExHCラットを用いた。コレステロールと胆汁酸を含まない純化食で飼育したラットに、オリーブ油に溶かしたビタミンD₂(20万IU/kg体重)を4日間、午前10時に毎日経口投与した³⁾。この投与量は、ビタミンD₂の35万IU、30万IU、25万IU/kg体重投与が致死量であったことから決定された。対

照ラットにはオリーブ油のみを同様に投与した。以後、Table 1に示す、10%食事脂肪、1%コレステロール、0.25%コール酸ナトリウムを添加したAIN-76組成に準じた純化食を72日間与え飼育した。たん白質源としてカゼインを用いた。ネンブタール麻酔下で採血・屠殺し、直ちに、生理食塩水、20%ホルマリン溶液で脱

Table 1. Composition of diets

Ingredients	CAS SOY	
	%	
Casein	20	0
Soybean protein	0	20
Olive oil	10	10
Cellulose	5	5
Mineral mix. (AIN-76)	3.5	3.5
Vitamin mix. (AIN-76)	1	1
DL-Methionine	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2
Cholesterol	1	1
Na-Cholate	0.25	0.25
Corn starch	15	15
Sucrose	43.75	43.75

血灌流後、心臓一大動脈を摘出した。組織をホルマリンで固定後、パラフィン切片を調製した。組織の全体像の観察にはヘマトキシリン・エオジン染色を、弾性繊維の観察にはエラスチカ・ヴァンギーソン染色を、カルシウム沈着の観察にはコッサ染色をそれぞれ用いた。

血清脂質と大動脈病変に及ぼすたん白質の影響

14週齢、雄のExHCラットを用いた。実験食のたん白質の種類に応じてカゼイン群(CAS群)、大豆たん白質群(SOY群)に分けた。上述のように、両群にオリーブ油に溶かしたビタミンD₂を20万IU/kg体重となるように4日間、午前10時に経口投与した。以後、Table 1に示す高コレステロール食で180日間飼育した。なお、

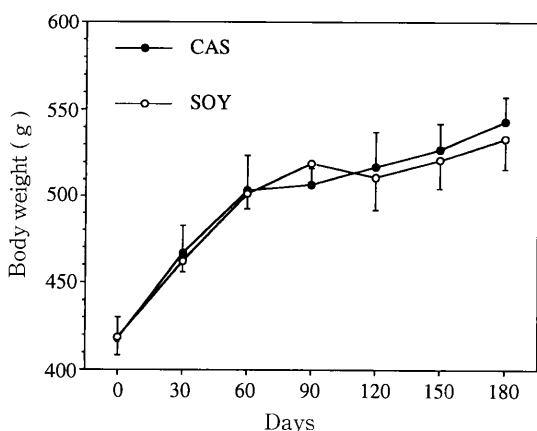


Fig. 1. Growth in rats fed casein and soybean protein. Values are means $\pm$ SE for 5 rats per group.

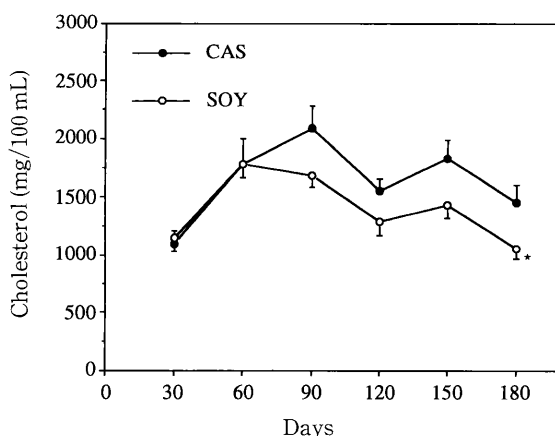


Fig. 2. Concentration of serum cholesterol in rats fed casein and soybean protein. Values are means $\pm$ SE for 5 rats per group. * Significance from casein group at $P < 0.06$.

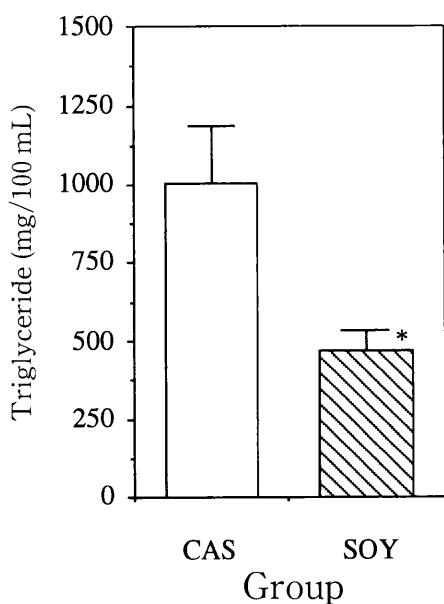


Fig. 3. Concentration of serum triglyceride and phospholipid in rats fed casein and soybean protein. Values are means $\pm$ SE for 5 rats per group. * Significantly different from casein group at $P < 0.05$.

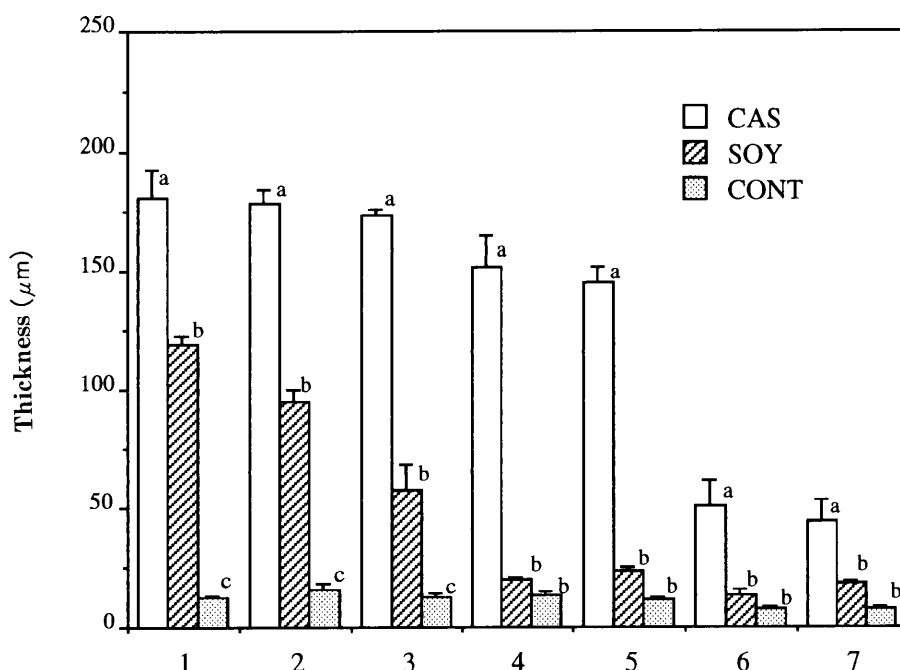


Fig. 4. Intimal thickness in rats fed casein and soybean protein. Values are means $\pm$ SE for 3 rats per group. ^{abc}Different letters show significant difference at $P < 0.05$.

対照として、市販の固形飼料で飼育したビタミンDを投与しない群も設けた。この間、30日ごとに尾静脈採血をした。上述のように採血・屠殺し、血清と組織切片を得た。ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡下で観察し、画像解析装置によって内膜の肥厚の程度を測定した。血清の脂質は市販のキットを用いて測定した。

結果と考察

予備実験の結果、72日間飼育ラット大動脈の中膜に強い石灰化、脂肪の浸潤、弾性繊維の断裂が認められた。内膜の肥厚も認められたが、それほど強いものではなかった。そこで、飼育期間をさらに延長し、食事たん白質の影響を検討した。

Fig. 1に示すように、6カ月間の飼育において体重の増加に両たん白質の影響は認められなかった。

Fig. 2に示すように、血清コレステロール濃度の顕著な増加が両群でみられ、60日目以降ではCAS群でSOY群に比べ高い傾向にあった。なお、コレステロール負荷前の血清コレステロール濃度は100 mg/100 mL以下であった。Fig. 3に示すように、180日目の血清ト

リグリセリド、リン脂質濃度はCAS群でSOY群に比べ有意に増加した。

Fig. 4に示すように、心臓に接した部位から7箇所の大動脈切片の内膜の肥厚の程度はいずれもCAS群でSOY群よりも顕著であった。SOY群でも内膜の肥厚は認められたが、その程度は部位5～7では弱く、対照のExHCラットのそれと比較して有意な差異が認められなかった。

本実験の結果は、大豆たん白質が血清のコレステロール低下作用を有するだけでなく、動脈硬化の進展も抑制できることを示した。動脈病変の程度にリポたん白質などの血清の成分が関与している可能性はあるが、本実験条件下では、大豆たん白質投与群の血清コレステロール濃度も著しく上昇しているため、特別な成分が抗動脈効果的に作用している可能性もある。

文 献

- 1) Imai Y and Matsumura H (1973): Genetic studies of induced and spontaneous hypercholesterolemia in rats. *Atherosclerosis*, **18**, 59-64.

- 2) Imaizumi K, Nagatomi A, Sato M, Tominaga A and Sugano M (1992): Cholesterol metabolism in ExHC (exogenous hypercholesterolemic) rats. *Biochim Biophys Acta*, **1123**, 101-109.
- 3) Bajwa G S, Morrison L M and Ershoff B H (1971): Induction of aortic and coronary atherosclerosis in rats fed a hypervitaminosis D, cholesterol-containing diet. *Proc Soc Exp Biol Med*, **138**, 975-982.