ダイズ油不ケン化物のシロネズミ血漿コレステロールに およぼす影響 (I)

The Effect of Unsaponifiable Matter of Soybean Oil on Plasma Cholesterol Levels in Rats (I)

(昭和 41 年 11 月 24 日 受理)

金 田 尚 志 徳 田 節 子 渋 川 尚 武
(Takashi Kaneda) (Setsuko Tokuda) (Naotake Shibukawa)

It is a well-known fact that phytosterols can reduce plasma cholesterol levels in rats. The authors carried out the feeding experiments with low sterols containing unsaponifiable matter separated from soybean oil. The results indicated that the unsaponifiable matter itself did not show any reducing effects against plasma cholesterol. However, rats fed the same unsaponifiable matter with soy-sterols had the plasma cholesterol lower than that of rats fed soy-sterols alone (Table IV). From these results the unsaponifiable matter seems to promote an effect of phytosterols to lower the plasma cholesterol. The effective substance is presumably tocopherol in the unsaponifiable matter.

β -シトステロール, スティグマステロールなどの植物ステロールがシロネズミの血清コレステロールを減少させる作用があることは Peterson ら¹⁾の報告以来よく知られた事実である。またビタミンEはアテローム性動脈硬化症(以下硬化症という)に対し有効とされ、とくにビタミンAとの併用は硬化症を防止するという²⁾。

動脈硬化症に対しビタミンEが有効だとする説の裏付けとしては、硬化症をおこした動脈の脂質には過酸化物質が見出され³⁾、動脈脂質パーオキシド量の増加につれ硬化症はひどくなるという⁴⁾。また福住ら⁵⁾は硬化症患者の胸部大動脈血管から脂質を分離し、トランス・トランス共役ジエン・ヒドロパーオキシドが存在することを認めている。そこで、ビタミンEを注射するとヒドロパーオキシドの生成が抑制され、したがって動脈硬化症は防止されるという⁶⁾。

筆者らはダイズ油不ケン化物をネズミに与え、血漿コレステロールに対する効果を検討したところ、ダイズ油不ケン化物にふくまれる植物ステロールと α 、 δ -トコフェロールが相乗効果を有するに思われたのでその結果を報告する。

実験方法および結果

実験 I 供試品：

ダイズ油不ケン化物：常法により製したもので、その組成はステロール類 50.1%，トコフェロール 34.9%，

その他の不ケン化物 15.0%である。(トコフェロールの定量は Emeric-Engel 法⁷⁾によった。)

ダイズ油ステロール：ステロール 20%をふくむダイズ油脱臭留出物を等量の *n*-ヘキサンに溶解後、50%メタノール 1/10 量を加え攪拌し、ステロールを析出せしめた後 65°C まで加温しステロールを溶解し 20°C まで冷却し、再び析出するステロールをロ別し、熱エタノールを用いて 3 回再結したもの⁸⁾。 β -シトステロール、スティグマステロールを主とする。

動物試験法：ウィスター系の雄のシロネズミを各群 8 匹宛用い、1 か月間 Table I のごとき飼料を自由に摂取させたのち、心臓から血液を取り、ヘパリンを用いて凝固を防ぎ、遠沈後、血漿に対しエタノール・アセトン等量混液 14 倍量を加え遠沈し試料とした。コレステロールの定量は Niefert & Deuel 法⁹⁾によった。血漿コレステロール値は Table II のごとくである。本結果によるとダイズ油ステロールは従来から知られているようにかなりシロネズミの血漿コレステロールを減少せしめた。またダイズ油不ケン化物はダイズ油ステロール以上の効果が認められた。このことはダイズ油不ケン化物中に植物ステロール以外の有効物質が存在するか、あるいは植物ステロールの効果を助長ないし相乗効果を有するものが存在するように思われた。そこで、可及的ダイズ油不ケン化物からステロールを除いたものをつくり、つぎの試験を行なった。

栄 養 と 食 糧

Table I. Diet composition (%) in experiment I
飼 料 組 成 (実験 I)

Dietary constituents		Rat groups	I	II	III	IV
Sucrose	蔗 糖		65.26	64.01	61.01	61.01
Casein	カ ゼ イ ン		22	22	22	22
Cellflour	ロ 紙 粉 末		3	3	3	3
Salt mixture	マ 氏 塩		4	4	4	4
Choline chloride	塩 化 コ リ ン		0.24	0.24	0.24	0.24
Vitamin mixture*	ビ タ ミ ン 類		0.5	0.5	0.5	0.5
Cholesterol	コ レ ス テ ロ ール		—	1	1	1
Bile salts	胆 汁 酸 塩		—	0.25	0.25	0.25
Cottonseed oil	綿 実 油		5	5	5	5
Soy-sterols	大豆ステロール				3	
Unsap. matter of soybean oil	大豆不ケン化物					3

* The vitamin mixture had the following composition: casein 44 g, *p*-aminobenzoic acid 1 g, Ca-pantothenate 400 mg, inositol 1 g, tocopherol acetate 1 g, ascorbic acid 1 g, thiamine 500 mg, niacin 400mg, vitamin B₁₂ 0.3mg, riboflavin 200 mg, pyridoxine 100 mg, vitamin A 20000 I. U., vitamin D 2000 I. U., folic acid 200 mg, menadione 50 mg, biotin 10 mg.

Table II. Plasma cholesterol levels and percentage of liver weight to body weight in experiment I
血漿コレステロール量および肝の体重に対する割合 (実験 I)

Group No. 区 分	Plasma cholesterol 血漿コレステロール			Percentage of liver wt. to body wt. 肝重量/体重
	Total* 総	Free* 遊 離 型	% Free 遊 離 型 %	
I. Cholesterol-free basal 無コレステロール (対照)	161±1 mg%	45.0±1.2 mg%	28	3.71 %
II. 1 % Cholesterol 含コレステロール (対照)	352±2	95.0±1.3	26	4.91
III. Soy-sterols 大豆ステロール	222±2	65.6±1.0	30	4.71
IV. Unsap. matter of soybean oil 大豆油不ケン化物	201±2	63.1±1.3	31	5.18

* Including standard error of the mean.

Table III. Diet composition (%) in experiment II
飼 料 組 成 (実験 II)

Dietary constituents		Rat groups	II	III	V	VI
Sucrose	蔗 糖		64.01	61.01	61.01	62.51
Casein	カ ゼ イ ン		22	22	22	22
Cellflour	ロ 紙 粉 末		3	3	3	3
Salt mixture	マ 氏 塩		4	4	4	4
Choline chloride	塩 化 コ リ ン		0.24	0.24	0.24	0.24
Vitamin mixture	ビ タ ミ ン 類		0.5	0.5	0.5	0.5
Cholesterol	コ レ ス テ ロ ール		1	1	1	1
Bile salts	胆 汁 酸 塩		0.25	0.25	0.25	0.25
Cottonseed oil	綿 実 油		5	5	5	5
Soy-sterols	大豆ステロール			3	1.5	
Unsap. matter of soybean oil (low sterols)	ステロールの少ない大豆油不ケン化物				1.5	1.5

Table IV. Plasma cholesterol levels and percentage of liver weight to body weight in experiment II

血漿コレステロール量および肝の体重に対する割合 (実験II)

Group No. 区 分	Plasma cholesterol 血漿コレステロール			Percentage of liver wt. to body wt. 肝重量/体重
	Total* 総	Free* 遊離型	% Free 遊離型%	
II. 1% Cholesterol 含コレステロール (対照)	mg% 170±1	mg% 38.3±0.5	23	5.4 %
III. Soy-sterols 大豆ステロール	124±1	30.2±0.7	24	4.0
V. Soy-sterols + Unsap. m. of soybean oil (low sterols) 大豆ステロール+ステロールの少ない大豆油不ケン化物	123±1	30.1±0.8	25	4.6
VI. Unsap. matter of soybean oil (low sterols) ステロールの少ない大豆油不ケン化物	175±2	38.0±1.1	22	5.1

* Including standard error of the mean.

実験II 供試品

ステロール含量の少ないダイズ油不ケン化物：ダイズ油不ケン化物に *n*-ヘキサンおよび50%メタノールを加え加温溶解しステロールを析出せしめ、ロ液はプロピルエーテル、メタノール、水混液を用いて液-液抽出しできるだけステロールを除いたもの。(S. V. 24.0, ステロール 10.3%, トコフェロール 73.6%)

ダイズ油ステロール：前試験と同様のもの。

動物試験法：南カリフォルニア大学系の雄のシロネズミを各群8匹宛用い、31日間、Table III のごとき飼料を与え、以下前試験同様に処理した。血漿コレステロール値は Table IV のごとくである。

考 察

以上の結果から考察するに、ダイズ油不ケン化物中のトコフェロール (うち70%は α -トコフェロール、他は δ) はダイズ油ステロールのシロネズミ血漿コレステロール減少効果を助長するといえよう。すなわち、実験Iにおいて、ダイズ油不ケン化物給与区 (IV区) のダイズ油ステロール給与量はダイズ油ステロールのみを与えた群 (III区) のちょうど1/2であり、飼料に含まれるダイズ油ステロール量は1.5%となる。しかるに、その効果はダイズ油ステロールのみを与えたIII区以上である。このことはダイズ油不ケン化物中のステロール以外の成分 (トコフェロール、炭化水素、アルコールなど) がダイズ油ステロール以上の効果を有したか、あるいはダイズ油ステロールの効果を助長したと考えざるを得ない。ところが、実験IIの結果から、ステロールを除いたダイズ油不ケン化物は、それ自体では効果を有していないことがわかる。すなわち、VI区はまったく血漿コレステロール値が低下していない。

VI区の不ケン化物にはなお10%程度のステロールが

ふくまれているが、この量は基本飼料中0.15%となる。Peterson ら⁹⁾ によれば、植物ステロールが血清コレステロールを減少させるためには、同時に与えたコレステロールの2~3倍におよぶ植物ステロールを給与せねば血清コレステロールは低下しないとしており、他にも同様な結果を示す報告が多い。ただし、道ら¹⁰⁾ は飼料中0.2%のダイズ油ステロール給与で有効だったと述べている。

実験IIの結果は Peterson らの結果と同様であり、飼料中0.15%のダイズ油ステロールをふくむVI区には植物ステロールの効果はまったく認められない。一方、実験IIにおける飼料Vは、ダイズ油ステロールのみを与えたIII区にくらべ、飼料中のダイズ油ステロール量はおおよそ1/2である。ところが、トコフェロールをふくむ不ケン化物を与えることにより、血漿コレステロール値は同程度まで下っている。このことはトコフェロールそのものは血漿コレステロールを下げる働きをもたぬが、植物ステロールとともに与えることにより植物ステロールの効果を高める働きがあるといえよう。なお、同不ケン化物中には炭化水素、アルコールなどもふくまれており、トコフェロールのみによる効果と断ずるにはなお疑問が残る。またトコフェロールに相乗効果があった場合、植物ステロールとトコフェロールの比をどれくらいにしたときもっとも有効かという点も今後に残された問題である。(実験I, IIは使用したネズミの系統が異なるため血漿コレステロール値もちがいが、値をそのまま比較しない。)

なお、緒言でも述べたごとく、ビタミンEの給与は動脈壁におけるヒドロパーオキシドの生成を防止することにより硬化症を生じ難くするといわれている。また Tappel ら¹¹⁾ が認めたように、パーオキシラジカルその他のフリーラジカルの生成をビタミンEは防止するよう

な働きをするとも考えられる。しかし、こうした考え方では植物ステロールに対するトコフェロールの効果は説明できず、どのような作用機構でトコフェロールがこうした効果を示すかということは今後の研究にまたねばならない。

総 括

できるだけステロールを除いたダイズ油不ケン化物をシロネズミに与え、血漿コレステロール低下におよぼす影響を検討したところ、本不ケン化物それ自体はなんらの効果を示さなかった。

植物ステロールが血漿コレステロールを減少させる作用があることはよく知られた事実だが、ダイズ油から分離したステロールをネズミに与えた際、上記ダイズ油不ケン化物を共に与えるとダイズ油ステロールの効果は一層強められた。この作用はおそらく不ケン化物中のトコフェロールによると思われる。

本研究を行なうにあたり、試料ステロール、ダイズ油不ケン化物を製造され、味の素株式会社中央研究所太田静行氏、動物実験に協力された長谷川ツヤ子、大川邦子の両氏に深謝する。

文 献

- 1) D. W. Peterson et al.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **78**, 143 (1951); *J. Nutrition*, **47**, 57 (1952); **50**, 191 (1953)
- 2) G. Weitzel: *Atti del terzo congresso internazionale, Venezia, Edizioni Valdonega Verona, Italy* p. 352 (1956)
- 3) K. E. Jessen, J. Glavind, S. Hartman & H. Dam: *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **29**, 73 (1951)
- 4) J. Glavind, S. Hartmann, J. Clemmensen, K. E. Jessen & H. Dam: *ibid.*, **30**, 1 (1952)
- 5) 福住ら: 油化学, **10**, 659 (1961), **12**, 93 (1963)
- 6) 岩上: *Nagoya J. Med. Sci.*, **28**, 56 (1965)
- 7) A. Emmeric & C. Engel: *Res. trav. chim.*, **57**, 1351 (1938)
- 8) 下田, 佐山: 特許公報 17599 (1965)
- 9) M. L. Niefert & H. H. Deuel, Jr.: *J. Biol. Chem.*, **177**, 143 (1949)
- 10) 道, 中山, 江沢: 本誌, **18**, 436 (1966)
- 11) A. L. Tappel et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **80**, 326 (1959), **88**, 113 (1960)

(東北大学農学部食糧化学科)

低電圧汚紙電気泳動法によるシスチンの定量法

一時に多数の試料のシスチンを定量できる方法を研究した。シスチンは酸化してシステイン酸として定量する。定量方法は次のとおり。I. 過ギ酸によるシスチンの酸化。II. 6 N 塩酸, 18時間還流による加水分解。III. 汚紙電気泳動 (緩衝液; ギ酸: 氷酢酸: 水=30:120:850, 電圧 350 ボルト)。IV. ニンヒドリン溶液による発色。V. メタノールによる溶出。VI. 505m μ における吸光度の測定。シスチンの酸化は Moor による Schram 法の改良法を用いた。電気泳動の緩衝液は上の組成のものが、分離にくいホモシステイン酸をも含めた他のア

ミノ酸からシステイン酸をよく分離する。電気泳動セル 2 個を用いれば 12 点の試料を同時に処理できる。この方法は各種の食品に適用でき、正確かつ再現性も良好である。

Determination of Cystine as Cysteic Acid after Low Voltage Paper Electrophoresis.

by Pelletier, O.:

J. Agr. Food Chem., **14**, 496~498 (1966)

(剣持)