食用キノコ類のシロネズミコレステロール代謝におよぼす影響 (V)

Effect of Mushrooms on Cholesterol Metabolism in Rats (V)

シイタケ中の血漿コレステロール減少効果物質の分別 (その 3)

Separation of the plasma cholesterol-reducing substances from mushroom (3)

(昭和 42 年 5 月 23 日 受 理)

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

In a previous paper*, 80 per cent ethanol-soluble fraction of a condensed water-soluble fraction of mushroom markedly reduced plasma cholesterol in rats.

To determine the nature of the substances responsible for the effect, the fraction above mentioned of mushroom, *Lentinus edodes*, Donko, was fractionated by the ion-exchange column chromatography using Amberlite IR-120(H). After feeding experiments with each fraction, the results indicated that the fraction eluted from column with 2 % ammonium hydroxide was effective in lowering the plasma cholesterol. The fraction which did not adsorb was ineffective. As shown in Table 3, the effective fraction still contained several substances, such as amino acids, amino sugar, sugars, organic bases and nucleosides.

The results of feeding experiments of nucleotides contained in mushroom did not show any lowering effect against plasma cholesterol. Some basic substances other than those connected with nucleotides must be effective.

* This Journal, 19, 373 (1967)

筆者らは本研究の第 IV 報¹⁾において、シイタケ中にふくまれるシロネズミ血漿コレステロールを低下させる有効成分は水溶性であり、しかも 80% エタノールに可溶なことを報告した。そこで、イオン交換樹脂を用いて有効成分の分別を行ったのでその結果を報告する。

方法および結果

実験 I

1. 試料の調整: Fig. 1 に示すごとくシイタケ (ドンコ) 粉末 500 g に 5 倍量の水を加え、室温に一夜放置し水溶性区分を抽出すること 2 回、さらに 70°C で 2 時間加温抽出を行った。抽出液はフラッシュエバポレーターを用いて濃縮し、エーテル可溶物を除き、エーテルを除去したのち、無水エタノールを加え、エタノール濃度を 80% とし、生ずる沈澱をロ別し、ロ液はさらにロータリーエバポレーターを用いて濃縮した。本濃縮液はアンバーライト IR-120H⁺ 型カラムを通し、吸着部は 2 % アンモニア水を用いて溶出せしめた。原試料に対し吸着

部の収量は 7.6 %, 流出部は 16.5 % であった。

2. 動物試験法: 前報と同様の方法によった。すなわち、Table 1 に示す組成の基本飼料に吸着部および流出部をそれぞれシイタケとして 10% 添加した。ウィスター系雄のシロネズミを各群 8 匹宛用い、30 日間自由に飼料を摂取せしめた。血漿の調整、コレステロール定量法は第 III 報²⁾と同様である。

3. 結果: 各給与区の血漿コレステロール値は Table 2 のごとくである。すなわち、アンバーライト IR-120 H⁺ 型カラムに吸着される区分は顕著な効果を示したが流出区にはほとんど効果が認められなかった。

実験 II

筆者らはシイタケ水抽出物中 80% エタノール可溶区分を酢酸鉛、塩基性酢酸鉛を用いて分別を行うと、酢酸鉛溶液によって有効成分はほとんど沈澱しないが、塩基性酢酸鉛水溶液により沈澱することを認めている³⁾。そこでシイタケ (ドンコ) の柄を Fig. 2 に示すごとく前処理を行ったのち、塩基性酢酸鉛添加により生じた鉛塩を

Fig. 1. Diagrammatic representation of the fractionation of mushroom

シイタケ成分の分別

Table 1. Composition of diets (%) 飼料組成

Dietary constituents 成 分	Cholesterol free 無コレステロール	Cholesterol added 含コレステロール	I	II
Sucrose 蔗糖	65.26	64.01	63.14	63.63
Casein カゼイン	22	22	22	22
Cellflour ロ紙粉	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* ビタミン混合	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
Effluent 流出区			0.87	
Eluent 溶出区				0.38

* The vitamin mixture had the following composition : casein 44g, *p*-aminobenzoic acid 1g, Ca-pantothenate 400mg, inositol 1g, tocopheryl acetate 1g, ascorbic acid 1g, niacin 400mg, vitamin B₁₂ 0.3mg, riboflavin 200mg, pyridoxine 100mg, vitamin A 20000 I. U., vitamin D 2000 I. U., folic acid 20mg, menadione 50mg, biotin 10mg.

水洗後、硫化水素を通じて脱鉛したものをアンバーライ
ト IR-120H⁺ 型カラムを通し、吸着部を2%アンモ
ニア水を用いて溶出せしめた。本液はかなり着色していた
ため活性炭を用いて脱色したのち、減圧のもとに濃縮し
た。本試料について各種定性試験を行った結果は Table
3 のごとくである。Table 3 に示すごとく、試料は顕著
なニンヒドリン反応を示した。そこで、アミノ酸自動分

析計を用いてアミノ酸を調べたところ、Asp. Glu. Ala.
Val. Ileu. などを含み、このほか各種アミノ酸が
微量ながら検出された。またドラーゲンドルフ試薬で発
色し、ライネッケ塩により微量の沈澱を生ずることによ
り、有機塩基の存在が推定された。このほかエルソン-モ
ルガン試薬によりアミノ糖が、モーリッシュ試験により
その他の糖が認められた。また 10% H₂SO₄ 溶液を用い

Table 2. Plasma cholesterol levels 血漿コレステロール値

Group	Total* mg/100ml	Free* mg/100ml	% Free %
Cholesterol free (control) 無コレステロール (対照)	157±1	56.9±0	36.2
Cholesterol added (control) 含コレステロール (対照)	339±3	88.7±1.4	26.2
I Effluent 流出区	300±2	67.1±0.8	22.4
II Eluent 溶出区	133±2	32.8±0.3	24.7

* Including standard error of the mean.

Fig. 2. Diagrammatic representation of the fractionation of mushroom
シイタケ成分の分別

Table 3. Qualitative tests of effective substance 有効成分の定性試験

Ninhydrin reaction ニンヒドリン反応	+	Asp. Glu. Ala.Val. Ileu.
Dragendorff reaction ドラーゲンドルフ反応	+	} Organic base 有機塩基
Reinecke salt reagent ライネッケ塩試薬	+	
Elson-Morgan reagent エルソン-モルガン試薬	+	Aminosugar アミノ糖
Molish test モーリッシュテスト	+	Sugars 糖類
Reducing sugar after hydrolysis 加水分解後の還元糖	+	Relative compounds of nucleotides or glycosides 核酸関連物質, 配糖体
U. V. absorption U. V. 吸収		260mμ (pH7)
Organic base (nucleoside) 有機塩基	+	Cytosine, uracil, guanine, adenine
Phosphomolybdic acid reagent リンモリブデン酸試薬	—	} Alkaloid アルカロイド
Mayer reagent マイヤー試薬	—	
Iodine, potassium iodide reagent ヨウ素・ヨウ化カリ試薬	—	
Mercuric chloride 塩化第二水銀溶液	—	
Fröhde reagent フレーデ試薬	—	} Steroid ステロイド
Carr-price reaction カール-プライス反応	—	

Table 4. Plasma cholesterol levels 血漿コレステロール値

Group	Total* mg/100ml	Free* mg/100ml	% Free %
Cholesterol free (control) 無コレステロール (対照)	122±1	44.7±1.0	36.6
Cholesterol added (control) 含コレステロール (対照)	158±1	42.3±0.3	26.8
Mushroom シイタケ	103±1	45.1±1.0	43.8
I 5'-AMP	159±1	31.9±1.0	20.1
II 5'-GMP	175±2	48.8±0.5	29.7
III 5'-UMP	181±1	53.6±0	29.6
IV 5'-CMP	180±2	55.6±0.8	30.9

*Including standard error of the mean.

3時間還流加熱したところ、還元糖を生成したが、これは配糖体ないし核酸関連物質の加水分解により生成したものではないかと思われた。

このように本濃縮物はなお各種成分を含有していたが、アルカロイド、ステロイドなどはふくまれていなかった。なお紫外外部吸収をみると、pH 7 で 260m μ に吸収極大を有する性質が存在した。

シイタケ中には 5'-AMP, 5'-GMP, 5'-UMP, 5'-CMP などの核酸関連物質の存在が知られているが、これらの分解により生ずるアデニン、グアニン、ウラシル、シトシンなどの塩基およびこうした塩基をふくむヌクレオチドが存在するように思われたので、Dowex 1-X 8 Cl⁻型カラムを用い、N. R. Jones の方法⁴⁾により分別を行ったところ、上記塩基、あるいは上記塩基をふくむヌクレオチドの存在を認めた。そこでこれらの塩基またはヌクレオチドは、シイタケ中ではヌクレオチドの形で存在するところから、原型であるヌクレオチドの生物的效果を検討することが第一と考え、これらを飼料中に添加し動物試験を行った。乾燥シイタケ中のこれらのヌクレオチドはおよそ 150mg% 前後含まれているため、いずれも基本飼料に対しシイタケとして10%程度となるように基本飼料100g 当り 15mg を添加した。用いたネズミは南加大系の雄を各群 9 匹宛である。血漿コレステロール値は Table 4 のごとくで、これらヌクレオチドはいずれもまったく効果を認めなかった。

考 察

以上の結果を考察するに、シイタケ中にふくまれるシロネズミ血漿コレステロールを減少せしめる効果を有する物質は塩基性であり、アンバーライト IR-120H⁺型の樹脂に吸着され、2%アンモニアで溶出する部分にあるといえる。本吸着物について各種定性試験を行なった結果、なお数種のアミノ酸、有機塩基、糖、アミノ糖、ヌクレオチドなどの存在が推定された。またシイタケにふ

くまれるヌクレオチドについて動物試験を行った結果、これらはまったく効果を有しないことを認めた。アミノ酸、糖、アミノ糖などはこの程度の給与では効果を有するとは考え難い。そのため核酸関連物質に由来する塩基以外の塩基がもっとも効果を有するように思われた。

摘 要

シイタケ中にふくまれるシロネズミ血漿コレステロールを減少せしめる成分の検索を行い、つぎの結果を得た。

(1) シイタケ水抽出物より80%エタノール可溶区分を分ち、アンバーライト IR-120H⁺型カラムを用いカラムクロマトを行ったところ、有効成分は本樹脂に吸着し2%アンモニア水により溶出した。

(2) 有効成分を含む区分にはアルカロイド、ステロイドなどは存在しなかったが、有機塩基、各種アミノ酸、糖、アミノ糖、核酸関連物質または配糖体らしきものが存在した。

(3) シイタケ中の既知ヌクレオチドについて、その効果の有無を検討したが、いずれも無効であった。

(4) 現在までのところ核酸関連物質以外の有機塩基らしいものが有効なように思われる。

本研究を行うにあたり、試料シイタケを提供された日本椎草振興会、森食用菌菌研究所、動物実験に協力された長谷川ツヤ子、大川邦子の両氏に厚く謝意を表する。

文 献

- 1) 洪川尚武, 徳田節子, 金田尚志: 栄養と食糧, **19**, 373 (1967)
- 2) 徳田節子, 金田尚志: 同上, **19**, 222 (1966)
- 3) 徳田節子, 金田尚志: 未発表
- 4) N. R. Jones: *Analyst*, **85**, 111 (1960)

(東北大学農学部食糧化学科)
(経 費 著 者 負 担)