シイタケの血漿コレステロール低下機構について 食用キノコ類のシロネズミコレステロール代謝に及ぼす影響 (VII)

徳田 節子, 田切 明美, 鹿野 悦雄, 金田 尚志

東北大学農学部食糧化学科

Reducing Mechanism of Plasma Cholesterol by Mushroom Effect of Mushrooms on Cholesterol Metabolism in Rats (VII)

Setsuko Tokuda, Akemi Tagiri, Etsuo Kano, Takashi Kaneda

Department of Food Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University,
Sendai, Miyagi

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 24 (9), 477~480 (1971)

In a previous paper we reported that the diet containing 5% of ground dried mushroom (*Lentinus edodes*) and 1% cholesterol markedly reduced plasma cholesterol levels in rats.

To elucidate the reducing mechanism of plasma cholesterol by mushroom, neutral sterols and bile acids excreted into feces were determined. The results obtained were as follows.

(1) Neutral sterols in feces fed mushroom were increased, however, bile acids were not increased compared with control group (mushroom-free diet).

(2) Total amounts of cholesterol in whole body fed mushroom were less than that of control.

These results indicate that the reducing effect of mushroom is due to the increasing excretion of administered cholesterol.

(Received September 4, 1971)

筆者らはすでにシイタケ投与によるシロネズミ血漿コレステロールの減少を報告しているが¹⁾, シイタケがシロネズミのコレステロール代謝に対しどのような影響を与えるのか, 特にいかなる作用機構によりシロネズミの血漿コレステロール量を減少せしめるのかということについては全く不明である。

一般に血清コレステロールはつぎのような場合減少するとされている。すなわち, (1)コレステロール生合成の阻害, (2)コレステロールから胆汁酸などへの異化の促進 (3)ステロールの肝への再吸収の阻害などがあげられる。

そこでシイタケを与えるとなぜネズミの血漿コレステロールが減少するかを明らかにするための一手段としてシイタケ投与時の糞中に異化排泄されるステロールないし胆汁酸量およびシロネズミ体内に分布するコレステロール量などにつき検討したのでその結果を報告する。

実験方法

1. 糞中排泄ステロールと胆汁酸

予備実験において, ウィスター系雄シロネズミ各群 8

Table 1. Composition of diets (%)

Constituents	1%Cholesterol diet (control)	5% Mushroom and 1% Cholesterol diet
Sucrose	65.26	60.26
Casein	22	22
CellufLOUR	2	2
Salt mixture	4	4
Choline chloride	0.24	0.24
Vitamin mixture	0.5	0.5
Cottonseed oil	5	5
Cholesterol	1	1
Mushroom	—	5

The diets used for feeding experiments were not contained bile salts in a reason of determining bile acid (acidic sterol) excreted in feces.

Extraction and fractionation of fecal neutral sterols and bile acids (acidic sterols).

匹を用いて、Table 1 の飼料組成で1カ月間飼育し、最後の10日間は摂餌量を測り、糞を集め下記のような方法で糞を処理し、ガスクロマトグラフィーにより排泄ステロールと胆汁酸量の分離が可能なことを確かめた。本実験では同じ操作で各群2匹のシロネズミを用いて測定した。なお、動物試験終了後の血漿および肝臓中のコレステロール量の測定方法は前報¹⁾と同様である。

2. シロネズミ体内のコレステロール量について

シロネズミの体全体 (whole body) のコレステロール量を知るため、Table 1 の飼料で各群2匹を2週間飼育した後、(1)同様採血し肝臓を摘出した。消化管は内容物を除き付着物を生理的食塩水で洗滌した。血液、肝臓以

外の体各部は合し、30%NaOH 溶液 1 l で12時間還流加熱し、組織を分解させると共に脂質をケン化した。不ケン化物区分はエーテルで抽出し、水洗によりアルカリを除き一定容量とした後、試料とした。各試料のコレステロール量は Niefert and Deuel の方法¹⁾によった。

実験結果

(1) シロネズミの血漿、肝臓コレステロール量を Table 2 に示す。既報のように、5%シイタケ添加群は対照の無添加群に比べ明らかに血漿コレステロールの低下が認められた。ただし肝コレステロールについては血漿コレステロールほどの差異はなかった。糞中に排泄され

Table 2. Plasma and liver cholesterol

Group	Body-weight (g)	Wt. gain after 33 days (g)	Liver-weight (g)	Liver wt. /Body wt. (g)	Plasma Cholesterol (mg%)			Liver Cholesterol (mg/g)			
					Total- cholesterol	Free- cholesterol	% Free	Total- cholesterol	Free- cholesterol	% Free	
1%Cholesterol diet (control)	Rat I	237	140	15	6.3	216.8	66.0	30.4	57.5	6.3	10.9
	Rat II	243	162	18	7.4	211.2	64.6	30.4	47.8	5.3	11.1
	Average	240	151	16.5	6.8	214.4	65.3	30.4	52.7	5.8	11.0
5% Mushroom and 1% Cholesterol diet	Rat III	240	149	18	7.5	123.6	27.0	21.8	41.9	3.6	8.6
	Rat IV	260	161	20.5	7.9	127.2	31.2	24.5	46.8	6.1	13.0
	Average	250	155	19.3	7.7	125.4	29.1	23.2	44.4	4.9	10.8

Table 3. Gas chromatographical analysis of sterols and bile acids in rat feces

Group		Intake (mg/day/rat)		Excreted (mg/day/rat)		
		Cholesterol	Ergosterol (in mushroom)	Sterols (Ex/intake(%))	Bile acids	Total
1% Cholesterol diet	Rat I	169	—	16.3 (9.6)	15.8	32.1
	Rat II	180	—	18.0 (10.0)	19.3	37.3
	Average	175	—	17.1 (9.8)	17.6	34.7
5% Mushroom and 1% Cholesterol diet	Rat III	196	2.6	30.9 (15.7)	19.8	50.7
	Rat IV	202	2.6	26.2 (13.0)	21.9	49.1
	Average	199	2.6	28.5 (14.4)	20.9	49.9

たステロールと胆汁酸排泄量のガスクロマトグラフィーによる測定結果は Table 3 に示すとおりである。Fig.1 に排泄ステロールのガスクロマトグラムの一例を示す。各ステロールピーク面積（半値幅法）の総和より排泄量を求めた。ステロール区分は、保持時間より methostenol と思われるピークがかなりの量現われた。また排泄量と摂餌量の割合をみるとシイタケ投与群の方が約5%多く排泄している。

Fig. 1. Gas chromatographic separation of fecal neutral sterols after conversion of sterols to TMS ether derivatives.

胆汁酸排泄量はステロールほどはっきりした増加は認められなかった。なお Fig. 2 に排泄胆汁酸のガスクロマトグラムの一例を示す。このカラム充填剤 silicon OV-17 による胆汁酸の分離は鋭いピークが現われず、標品の cholic acid と Deoxy cholic acid は同じ位置に重なった。その位置に試料では大きなピークが現われ、また標品、Litho cholic acid のピークが現われた近辺にもかなりの量出現した。

(2) Fig. 3 に各群のシロネズミ体内のコレステロール量を示した。全血漿中に存在する全コレステロール量はつぎの式により求めた。

(体重×0.074/血液の比重)×0.6a, ただし [a は血漿 1 ml 中のコレステロール量(mg), 0.6 は血液の60%が血漿であるとして, 血液の比重は1.027 とした, なお0.074

Fig. 2. Gas chromatographic separation of fecal bile acids after conversion of bile acids to methyl ester-TMS ether derivatives.

Fig. 3. Distribution of cholesterol per 150g rat's body.

は体重当りの血液の割合]

Fig. 3 のようにシイタケ投与群のネズミ体内へのコレステロールの取り込みは対照群に比べわずかにおさえられると思われる。

考 察

シイタケがシロネズミの血漿コレステロール値を低下させることは本試験においても常に変わらなかったが、肝臓中のコレステロール量がシイタケ投与時には、対照

の含コレステロール群に比べ必ず増加するとは限らないようである。

ステロールの排泄に関しては腸内に排泄されたコレステロールは腸の細菌によりコレステロール以外のステロールに変わることはよく知られているが⁹⁾、さらに大腸内のコレステロールのかかなりの量が腸内細菌により消費され分解されるといわれる¹⁰⁾⁷⁾。シイタケ中に含まれるエルゴステロール(乾物中0.26%)がステロールの排泄に影響することも考えられたのでエルゴステロールの摂取量も求めたが、微量のため影響はないと思われた。

胆汁酸はコレステロールの主要な異化物質でネズミの場合 cholic acid が大部を占め、ついで chenodeoxy cholic acid が多いといわれている⁹⁾。今回 cholic acid またはこれより腸内細菌によりできた deoxy cholic acid に相当する個所に 8 割近く現われたものが多かった。

上記実験でシイタケ投与により排泄量が増加することを別の面から確かめるために体内に残存するコレステロール量の検討を行なった。シロネズミ体内に存在するステロールはジギトナイドとして沈殿するものとして計算すると全体としてシイタケ群に残存する量は少なくなっている。そのうちわけをみると血液、肝臓を除いた残りの組織中のコレステロール量は体重 150 g 当り 対 照 群 233.6mg シイタケ群 250.0mg でシイタケ群がわずかに多い。しかし全血漿中の量は対照群 11.4mg、シイタケ群 8.9mg、全肝臓中の量はそれぞれ 122.1, 93.8mg と対照群が高い。結局コレステロールの代謝の鍵はやはり肝臓—血液—各組織という動的な経路について調べる必要があると考える。

要 約

- (1) 5%シイタケを投与すると、シロネズミの血漿コ

レステロール量は常に著しく低下するが、肝臓コレステロール量は対照群より必ずしも多くなるとは限らない。

(2) シイタケ投与により糞中に排泄されるステロール量は対照群にくらべ増大したが、胆汁酸量はあまり差がなかった。

(3) シロネズミ体内に分布するコレステロール量はシイタケ投与群の方がいく分少なかった。そして肝臓—血液間の分布に差異があった。

以上の結果より、シイタケ投与によるシロネズミ血漿コレステロールの減少は、摂取コレステロールの排泄量の増大が一因と考えられた。

本研究を行なうにあたり、試料シイタケを提供された森食用菌研究所、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) 金田尚志, 荒井君枝, 徳田節子: 栄養と食糧, **16**, 106 (1964)
- 2) Wells, W.W. and Makita, M.: *Anal. Biochem.*, **4**, 204 (1962)
- 3) Makita, M. and Wells, W. W.: *Anal. Biochem.*, **5**, 523 (1963)
- 4) Elliott, W. H., Walsh, R. L. B., C. M., Mui, M. M., Thorne, M. A. and Siegfried, C. M.: *J. Chromatog.*, **44**, 452 (1969)
- 5) Coleman, D. L., Wells, W. W. and Baumann, C. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **60**, 412 (1956)
- 6) 安田守雄: 生化学講座 4 巻, p. 135 (昭和36年) 共立出版
- 7) Grundy, S. M., Ahrens, E. H. JR, and Salen, G.: *J. Lipid Res.*, **9**, 374 (1968)
- 8) 今井 陽, 坂上利夫: 脂質の生化学, p. 196 (昭和44年) 朝倉書店

(昭和46年 9 月 4 日受理)