報 文

白ネズミのキリンサイによる外因性 コレステロールの上昇抑制作用

石 井 静 江, 長谷川 忠 男, 鈴 木 隆 雄
東京農業大学農芸化学科

Repressive Effects of Kirinsai on Increase of the External Cause Cholesterol in Rat

Shizue ISHII, Tadao HASEGAWA, Takao SUZUKI
*Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University
of Agriculture, Setagaya-ku, Tokyo*

The hypocholesterolemic effects of kirinsai and its viscous material on rats fed the hypercholesterolemic diets containing 1% cholesterol and 0.25% bile salts were examined.

1. The cholesterol depressing activity of kirinsai and its viscous material were confirmed in serum and liver of rats fed hypercholesterolemic diet.

2. When fed the hypercholesterolemic diets supplemented with kirinsai, the high level of cholesterol in serum and liver of rats was decreased.

The reduction rates of cholesterol level were tended to decrease by teeding with the cholesterol-free diet contained 5% kirinsai.

(Received December 27, 1979)

近年、食餌に由来する血清や肝臓コレステロールの上昇がコンニャク精粉、ペクチン等¹⁾の非栄養的多糖類の同時摂取によって有意に阻害されるという報告が注目を浴びている。これらの多糖類²⁾は親水性のコロイド状となり一般に粘度が大きく生物界に広く存在している。この粘質性多糖類は種類も多く、形状、性質等の相違によっても脱コレステロール作用への影響は異なるものと思われる。1971年福場ら³⁾はワカメの芽株中に存在する粘質物がラットの血中コレステロールを低下させることを認めた。海藻型多糖類のカラギーナンやアルギン酸⁴⁾は脱コレステロール作用を有する成分としてすでに知られている。われわれは以上の知見から海藻中に存在する粘質多糖類に着目し、試料に紅藻類ミリン科の海藻であるキリンサイ⁵⁾を用いてラットの血清および肝臓コレステロールにおよぼす影響について検討した。

実 験 方 法

実験 1. 血清、肝臓コレステロールにおよぼすキリンサイ粉末投与の影響

体重約 100 g の SD 系雄ラット (日本クレア⁶⁾) を実験動物とした。各群 10 匹とし、Table 1 に示すような飼料をラットに投与して 10 日間飼育した。高コレステロール飼料は基本飼料に 1% コレステロールと 0.25% 胆汁酸塩を添加した。試験飼料は高コレステロール飼料に 5% キリンサイ粉末を添加した。また他の海藻と比較するためにワカメ粉末を用い、飼料に 5% 添加してラットに投与した。飼料、飲料水は自由に摂取させ体重、飼料摂取量は 2 日ごとに測定した。実験終了後ネブタール麻酔下で心臓穿刺により採血しただちに肝臓を摘出し重量を測定して分析まで凍結保存した。血清コレステロールは Sobel らの方法⁷⁾で、肝臓コレステロールは Sperry-Webb 法⁸⁾によりジギトニドを形成した後血清

Table 1. Composition of diets (%).

Constituents	Standard diet	Cholesterol diet	Test diet
Casein	22	22	22
Lard	10	10	10
Soybean oil ^a	1	1	1
Salt mixture ^b	4	4	4
Vitamin mixture ^b	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15
Cholesterol	0	1	1
Bile salts ^c	0	0.25	0.25
Test substance ^d	—	—	2-5
Sucrose	62	60.75	to make 100

^a Mixed with vitamin A (3,000 IU), vitamin D (300 IU) and tocopherol (100 mg)/kg diet.

^b These were identical with Harper's mixture.

^c Bacto-oxygall prepared at Difco Laboratories.

^d Kirinsai was added to the diet at the 5% level, viscous material addition was 2-5% level.

と同様に比色定量した。

実験 2. 血清、肝臓コレステロールにおよぼすキリンサイ粘質物粉末投与における影響

実験 1 と同条件下でキリンサイ粘質物粉末の脱コレステロール作用を調べた。粘質物は福場らの方法⁹⁾に準じ、Fig. 1 の方法で抽出し凍結乾燥後粉末とした。粘質物粉末は 2% および 5% のレベルで飼料に添加しラットに投与した。また同時にベクチン 2% 添加飼料をラットに投与して比較検討を行なった。血清および肝臓コレステロールの定量は前述の方法で行なった。

kirinsai flour
 |
 added with 80% EtOH
 |
 heated for 1 hr. at 100°C
 |
 filtrated
 |
 residue
 |
 washed with ether: EtOH (1: 1)
 |
 added to water 4 times
 |
 shaken for 4 hr.
 |
 centrifuged at 700×g for 15 min
 |
 supernatant
 |
 condensed in about one fourth
 |
 dropped into EtOH of condensed solution
 |
 freeze dried
 |
 viscous material

Fig. 1. Extraction of the viscous material from the dried kirinsai.

実験 3. 高コレステロール血症ラットにおけるキリンサイ粉末投与の影響

体重約 100 g の SD 系雄ラットに Table 1 の高コレステロール飼料を 10 日間水とともに自由摂取させた後、無作為に 5 匹を選んで解剖し、血清および肝臓コレステロールを定量した。残り 20 匹を無作為に 10 匹ずつ 2 群にわけ各群を Table 1 の基本飼料と、基本飼料のショ糖 5% をキリンサイ粉末で置換した飼料に切り換えて飼育し、経目的に 2 日、4 日、6 日、8 日、10 日後の血清および肝臓コレステロール値を前述の定量法を用いて測定した。

実験結果

実験 1

キリンサイ粉末につきコレステロール低下作用を調べるとともに、ワカメ粉末 5% 添加飼料を用いて比較検討したときの結果を Table 2 および 3 に示した。体重増加飼料摂取量、体重 100 g 当たりの肝臓重量は各群間で有意差は認められなかった。しかし高コレステロール群はキリンサイ群に比べて飼料摂取量および肝臓重量が増加の傾向を示し、肝臓の白色化が明らかであったが、キリンサイ群では軽減される傾向にあった。血清コレステロール値は高コレステロール群が無コレステロール群に比べて約 4 倍前後の高値を示したがキリンサイ投与によって約 40% の低下が認められ、ワカメ群よりも強い低下作用を認めた。肝臓コレステロール値においては各群間に有意差はみられなかったが、キリンサイ投与によって低下の傾向がみられた。また摂取コレステロールの肝臓中へのみかけの蓄積比を比較するとキリンサイ投与

Table 2. Effects of kirinsai or wakame addition on food intake, body weight gain and weight of liver (Exp. 1^a).

Group	Food intake (g/day)	Body wt. gain (g/day)	Liver wt. (% of body wt.)
Standard	16.0±2.8 ^b	6.1±1.6	4.9±0.9
Cholesterol	14.4±2.9	6.4±2.0	5.3±0.5
Kirinsai	14.8±1.2	5.6±1.1	5.1±0.4
Wakame	12.0±4.0	7.3±2.5	5.4±0.6

^a Male rats, the average initial body weight, 104 g.^b Mean ± standard error of rats.Table 3. Effects of kirinsai or wakame addition on serum and liver cholesterol levels (Exp. 1^a).

Group	Ingested	Serum	Liver cholesterol			Total liver cholesterol
	cholesterol	cholesterol	Free	Total		Ingested cholesterol (%)
	(mg/10 days)	(mg/100 ml)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/liver)	
Standard	0	85±23 ^b	1.6±1.2* ^d	2.4±0.5*	28.7± 5.4*	—
Cholesterol	2,009±28	420±34	4.7±1.5	41.5±3.5	352.5±36.8	16.6±2.3
Kirinsai	2,131±14	244±40*	4.5±1.7	39.1±7.0	320.8±46.4	14.2±2.5
Wakame	1,749±38	344±60*	4.0±2.0	35.7±5.0	318.2±37.6	16.6±2.0

^{a, b} See footnotes of Table 2.^c The apparent accumulation ratio of total liver cholesterol to ingested cholesterol was calculated by correction of subtracting the total liver cholesterol in the standard group receiving no dietary cholesterol.^d Significantly different from the cholesterol group, $p < 0.05$.Table 4. Effects of viscous material or pectin addition on food intake, body weight gain and weight of organs (Exp. 2^a).

Group	Food intake (g/day)	Body wt. gain (g/day)	Liver wt. (% of body wt.)	Caecum wt. ^d (g)
Standard	16.3±1.2 ^b	7.4±3.9	6.2±2.0	1.2±0.2
Cholesterol	18.2±1.8	8.6±1.2	7.5±3.6	1.5±0.4
2% VM ^c	17.4±2.5	8.7±3.3	6.3±2.5	1.8±0.4
5% VM	18.1±2.4	8.8±2.9	6.9±2.3	2.0±0.2
2% Pectin	15.6±1.2	5.1±2.3	4.5±3.5	1.0±0.2

^a Male rats, the average initial body weight, 114 g.^b Mean ± standard error 10 rats.^c VM: Viscous material.^d Caecum weight includes its contents.

によって減少する傾向が認められた。

実験 2

キリンサイ粘質物粉末につきコレステロール低下作用を調べると同時にペクチン2% 添加飼料を用いて比較検

討した結果を Table 4 および 5 に示した。飼料摂取量、体重増加量、肝臓重量については実験 1 と同様な結果であった。血清コレステロール値はキリンサイ粘質物粉末2% および5% 添加飼料群の2群とも高コレステロール

Table 5. Effects of viscous material or pectin addition on serum and liver cholesterol levels (Exp. 2*).

Group	Ingested	Serum	Liver cholesterol			Total liver cholesterol ^o
	cholesterol	cholesterol	Free	Total		Ingested cholesterol (%)
	(mg/10 days)	(mg/100 ml)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/liver)	
Standard	0	89±13 ^b	2.0±1.5* ^d	2.5±1.2*	28.9± 3.6*	0
Cholesterol	2,185±35	429±46	3.5±1.3	28.9±5.0	341.2±45.7	15.6±1.8
2% VM	1,895±52	254±53*	3.3±1.5	25.5±6.6*	312.9±36.3*	15.0±2.0
5% VM	1,970±50	182±37*	3.0±2.0	19.2±4.3*	229.0±42.5*	10.2±1.2*
2% Pectin	1,556±13	188±49*	3.1±1.0	18.0±3.2*	140.5±25.0*	7.2±1.3*

^{a, b} See footnotes of Table 4.

^c The apparent accumulation ratio of total liver cholesterol to ingested cholesterol was calculated by correction subtracting the total liver cholesterol in the standard group receiving no dietary cholesterol.

^d Significantly different from the cholesterol group, $p < 0.05$.

群に比較して有意に低下した。とくに5%添加群では同時に行なったベクチン2%添加飼料群と同レベルまでの低下がみられた。肝臓コレステロール値においても同様な傾向がみられ、2%、5%の両群ともに有意な低下が認められた。摂取コレステロールの肝臓中へのみかけの蓄積比は5%添加群が有意に減少し、キリンサイ粘質物粉末

の強い脱コレステロール効果が認められた。

実験 3

高コレステロール血症になったラットの血清および肝臓コレステロール値が、飼料切り換え後減少する経過をFig. 2およびFig. 3に示した。高コレステロール血症をひきおこす飼料を投与した10日間および無コレステロール飼料に切り換えた10日間のラットの体重増加量は各群間に差は認められなかった。血清コレステロール、肝臓コレステロールはともにキリンサイ添加群のほうが早く低下する傾向を示した。

Fig. 2. The time-dependent change in the serum cholesterol level of rats fed a basal diet added 5% level kirinsai diet.

□, basal diet; ●, basal diet+5% kirinsai.

Fig. 3. The time-dependent change in the liver cholesterol level of rats fed a basal diet added 5% level kirinsai diet.

□, basal diet; ●, basal diet+5% kirinsai.

考 察

飼料中にキリンサイ粉末を5%のレベルで、またキリンサイ粘質物粉末を2%および5%のレベルで添加したときラットの成長は他の群と比較して促進される傾向にあったが有意差は認められなかった。したがってキリンサイには成長を阻害するような成分は含まれていないと思われる。飼料中にコレステロールと胆汁酸を添加して実験動物に投与すると、肝臓中にコレステロールや中性脂肪が蓄積され、肝臓の肥大や白色化が認められる。これは明らかに脂肪肝となった症状であるが、キリンサイ粉末および粘質物粉末を投与すると肝臓重量は軽減される。このような現象はベクチン、アルギン酸ナトリウム、グアーガム、キシラン等の多糖類にも認められるが、キリンサイにおいても難消化性多糖類に共通した作用を有するものと推察される。標準飼料にコレステロールと胆汁酸を加えたコレステロール飼料をラットに与えると著しい高コレステロール血症を起こした。このコレステロールの上昇はキリンサイ粉末および粘質物粉末の投与によって抑制されることが認められた。この効果はベクチン、コンニャク精粉、グアーガムと同様に多糖類¹⁾としての作用を発揮したものと思われる。1963年阿部ら⁹⁾はアサクサノリの脱コレステロール有効成分が海藻水抽出物中80%エタノール濃度で沈でんする区分に存在することを明らかにした。アサクサノリと同様にキリンサイ粉末水抽出物中エタノール沈でん物質をラットに投与したところ、ラットの血清および肝臓中のコレステロールは高コレステロール群に比べて有意に減少した。またキリンサイ投与量とコレステロール低下作用の程度に量的相関関係があることを推定し、粘質物の添加量を2%と5%の2群を用いて調べたところ、粘質物が多いほど血清、肝臓ともに顕著なコレステロール低下量を示した。以上の結果からキリンサイ粘質物に脱コレステロール作用を認めるとともにその有効成分が粘質多糖類によるものと考えられる。この粘質物の化学構造等の詳細は不明であるが紅藻類粘質物の一般的な化学構造は多糖類の硫酸エステルとの報告¹⁰⁾がある。したがってコレステロール低下作用には海藻の化学的、物理的性質や形態あるいは分子量や構成糖比等が大きく関与しているものと思われる。さらに高コレステロール血症ラットに対してキリンサイ粉末投与時のコレステロール低下量と低下速度を調べた。その結果血清および肝臓コレステロール

はキリンサイ粉末投与により低下速度が促進される傾向を示した。これはキリンサイ粉末の影響によるものと思われるが、さらに投与量や飼育条件を変えることによって、よりいっそうの効果が期待されるものと思われる。

要 約

ラットに高コレステロール血症をおこさせキリンサイ粉末および粘質物粉末を投与してコレステロール代謝におよぼす影響を調べた。

1) キリンサイ粉末投与時における血清コレステロール値は高コレステロール群に対して約40%の減少を示したが、肝臓コレステロール値に顕著な変動が認められなかった。

2) キリンサイ粘質物粉末を2%および5%のレベルで投与したところ、粘質物が多いほど血清、肝臓コレステロールは低下し、とくに5%レベルでは、ベクチン2%飼料群と同レベルまで抑制されていた。

3) キリンサイ粉末投与時におけるコレステロール低下速度について検討したところ基本飼料投与時と比較して低下速度は早い傾向を示した。

以上の結果、キリンサイには外因性コレステロールの上昇を抑制する作用を有することが認められ、その有効成分は粘質画分に存在することが判明した。またその低下速度についてみると脱コレステロール効果はキリンサイ投与によりいっそう促進される傾向が認められた。

文 献

- 1) 辻 悦子, 辻 啓介, 鈴木慎次郎: 栄養学雑誌, 33, 273 (1975)
- 2) 長谷川忠男, 相澤孝亮, 片岡栄子: 食品酵素高分子学概論(上), 地人書館 (1975)
- 3) 福場博保, 五十嵐脩, 石井博子: 栄養と食糧, 24, 150 (1971)
- 4) 辻 啓介, 辻 悦子, 鈴木慎次郎: 栄養と食糧, 31, 485 (1978)
- 5) 中村武彦: 日本誌, 24, 288 (1958)
- 6) Sobel, C. and Fernandez, A.: *Clin. Chem.*, 12, 739 (1966)
- 7) Sperry, W.M. and Webb, M.: *Biol. Chem.*, 187, 97 (1950)
- 8) Igarashi, O., Iwaki, E. and Fukuba, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 35, 1836 (1971)
- 9) 阿部重信, 金田尚志: 日本誌, 33, 361 (1967)
- 10) 中村武彦: 日本誌, 20, 502 (1954)

(昭和54年12月27日受理)