ラットの血漿および肝脂質におよぼす エリタデニン投与の影響

伊 東 牧 子, 川 田 澄 子, 山 本 信 子
遠 藤 仁 子, 萩 原 美 恵 子, 原 見 彩 子
大 村 京 生

日本女子大学家政学部食物学科

Effect of the Eritadenine Feeding on the Plasma and Liver Lipids in Rats

Makiko ITOH, Sumiko KAWADA, Nobuko YAMAMOTO,
Kimiko ENDO, Mieko HAGIWARA, Ayako HARAMI,
Takao OHMURA

Department of Food and Nutrition, Japan Woman's University, Bunkyo-ku, Tokyo

S.D. strain male rats were fed the basal diet containing 16% casein and 0.6% D, L-methionine and the effect of 5 mg% eritadenine, a hypocholesterolemic principle of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*), on the lipids components of plasma and liver was investigated under several feeding conditions.

The results obtained were as follows:

1. Eritadenine did not affect the growth rate, food efficiency and an apparent health condition of rats.
2. It lowered the total and free cholesterol and phospholipids levels in plasma.
3. It increased markedly the content of the liver triglycerides and produced fatty livers containing more than 19% total lipids.

(Received September 8, 1980)

しいたけまたはエリタデニンの、ラットの血漿コレステロールレベルを低下させる作用については、金田ら¹⁾によりはじめて報告されて以来、数多くの報告がなされているが、それに伴う脂肪肝の生成については結果がまちまちである。ことに三宅、伊藤らの二つの報告は、両実験の飼料組成はかなり似ているにもかかわらず、コレステロールを並食しないときの肝脂質の値はかなり違っている。すなわち、20%のカゼインを含む飼料を用いた1971年の報告²⁾では、肝の中性脂質が20%を越えているのに、カゼイン含量15%の飼料を用いた1973年の結果³⁾では、肝総脂質は最大でやっと10%を越えているにすぎない。Rokujo ら⁴⁾および Takashima ら⁵⁾の Clea 食による実験では、エリタデニンを投与しても肝総脂質は10%を越えておらず、われわれの前報⁶⁾でも、その飼料組成は三宅ら²⁾の組成に似ているが、コレ

ステロールを並食しなければ、5%しいたけ食による肝総脂質の増加は有意であるとはいえなかった。

本実験では、しいたけの代りに5 mg/100 gのエリタデニンを用い、また Wistar 系の代りに S.D. 系のラットを用いて、エリタデニン投与のラットの血漿および肝脂質に対する影響を調べた。

実験方法

実験1では雄のSD系ラット54匹に、表1に示すシヨ糖を含む基本食および水を自由に与え、24°Cの恒温室中、個別ケージで1週間飼育した。体重約200 gになったラットのうち6匹について、後述の方法により、血漿および肝脂質を定量した。残りの48匹は6匹ずつの8群にわけ、表1のシヨ糖を含む4種の飼料で、それぞれ6または12週間飼育した。飼料の組成はほぼ前報⁶⁾と同じであるが、カゼイン含量を18%に上げた(含水量約11%を補正すると16%になる)代りに、D, L-メ

表 1. 飼 料 組 成

	基 本 食 B	エリタデニン食 E	コレステロール食 C	エリタデニン コレステロール } 食 CE
シヨ糖または α デンプン ^{*1}	66.4%	66.4%	65.7%	65.7%
カゼイン ^{*2}	18	18	18	18
D, L-メチオニン	0.6	0.6	0.6	0.6
ビタミン混合 ^{*3}	1	1	1	1
塩混合 ^{*4}	4	4	4	4
大豆白絞油	5	5	5	5
セルロース粉末	5	5	5	5
コレステロール	0	0	0.5	0.5
コール酸ソーダ	0	0	0.2	0.2
エリタデニン	0	0.005	0	0.005

^{*1} 実験 1 ではシヨ糖, 実験 2, 3 では α デンプン

^{*2} 11%の水を含む

^{*3} オリエンタル混合

^{*4} ハーパー混合

チオニンを 0.6% 添加した (これはカゼインの含硫アミノ酸含量を低く評価してしまったため、実際には添加量の約 70% のメチオニンが過剰になった)。実験 2 では飼料の炭水化物としてシヨ糖の代りに α デンプンを用いた以外はまったく実験 1 と同様に操作した。実験 3 ではメチオニン添加量を 0.35% にさげ、 α デンプンを含む表 1 の基本食で 1 週間飼育して約 120 g になった同じラット 18 匹を 3 群にわけ、基本食およびそれに 2 または 5 mg/100 g のエリタデニンを添加した 3 種の飼料で、24 週間実験 1 と同様に飼育した。

エリタデニンは常田ら⁷⁾の方法を以下のように修正して乾燥しいたけから調製した。すなわち、カチオン交換樹脂の溶出液をアニオン交換樹脂で処理する代わりに、粒状活性炭 (Norit A) のカラムに吸着させ、エタノール:アンモニア:水 (5:1:4) で溶出し、濃縮後ふたたび常田らの操作にもとし、アンバーライト CG-1 型のカラムに吸着させ、0.3 N 酢酸で溶出し、ピーク II に相当する画分を集め、濃縮して結晶をとり再結した。乾燥しいたけ 1 kg から約 0.6 g の元素分析値が $C_5H_{11}O_4N_2$ に相当するわずかに黄色を帯びた結晶が得られた。

ラットはそれぞれ飼料除去後 16 時間目に、エーテル麻酔下、心臓穿刺によりヘパリン採血して後、開腹して肝を摘出した。血漿脂質は Folch ら⁸⁾の方法で抽出した。肝は 9 倍重量の無水硫酸ソーダを加えて乳鉢中で磨砕して均質化し、その一部をとって Folch ら⁸⁾の方法で脂質を抽出した。実験 3 では 4 週間おきにラットの尾部から毛細管により採血し、その総コレステロールを

中⁹⁾の方法で微量定量した。

肝総脂質 (L-TL) は乾物量により、血漿総コレステロール (P-TC) および遊離コレステロール (P-FC) は Zak ら¹⁰⁾の方法で、肝の総コレステロール (L-TC) および遊離コレステロール (L-FC) は Kates¹¹⁾の方法でそれぞれ定量した。血漿および肝のトリグリセリド (P-TG および L-TG) はそれぞれ松宮ら¹²⁾および van Hendel¹³⁾の方法によりトリパルミチンとして定量した。血漿および肝の磷脂質 (P-PL および L-PL) は Kates¹⁴⁾の方法で得られた P 量に 25 を乗じて算出した。

結 果

1) ラットにエリタデニンおよびコレステロールを投与した実験 1 (シヨ糖食) および 2 (α デンプン食) の結果を表 2 にまとめた。

① ラットの成長および健康状態について 実験 1, 2 ともにはじめの 6 週間で 1 日 5 g 内外の体重増が見られ、体重増、飼料効率およびみかけの健康状態について、飼料による差はまったく見られなかった。

② 血漿脂質について 定量した 4 成分のうち、TG を除く、TC, FC および PL の 3 成分は、イ) コレステロール並食の有無にかかわらず、ロ) シヨ糖食でも α デンプン食でも、ハ) 試験食摂取期間の長短にかかわらず、5 mg/100 g のエリタデニンの摂取により、いずれも有意に減少していた。この結果は前報⁹⁾のしいたけ食の場合よりもよりはっきりしている。しかし、TG の値は前報と同様に、エリタデニン食で有意に減少しているとはいえない場合もあった。

表 2. エリタデニンおよびコレステロール投与のラットの血漿および肝脂質におよぼす影響

	脂 料	ショ糖食 (実験 1)			α デンブ食 (実験 2)		
		摂取開始時	6 週 後	12 週 後	摂取開始時	6 週 後	12 週 後
ラ ッ ト 数	B		6	6		6	6
	E	6	6	6	6	6	6
	C		6	6		6	6
	C E		6	6		6	6
体 重 増 (g/日)	B		5.0 $\pm$ 0.24 ^{*1a*2}	3.9 $\pm$ 0.26 ^b		5.3 $\pm$ 0.18 ^a	3.7 $\pm$ 0.17 ^b
	E	—	4.8 $\pm$ 0.27 ^a	3.5 $\pm$ 0.18 ^b	—	5.1 $\pm$ 0.25 ^a	3.4 $\pm$ 0.16 ^b
	C		5.2 $\pm$ 0.23 ^a	3.9 $\pm$ 0.16 ^b		4.9 $\pm$ 0.26 ^a	3.6 $\pm$ 0.09 ^b
	C E		5.2 $\pm$ 0.30 ^a	3.8 $\pm$ 0.16 ^b		5.0 $\pm$ 0.44 ^a	3.7 $\pm$ 0.26 ^b
飼 料 効 率 (%)	B		23 $\pm$ 0.6 ^a	18 $\pm$ 0.5 ^b		27 $\pm$ 0.6 ^a	18 $\pm$ 0.5 ^b
	E	—	23 $\pm$ 1.0 ^a	17 $\pm$ 0.4 ^b	—	26 $\pm$ 0.4 ^a	18 $\pm$ 0.6 ^b
	C		23 $\pm$ 0.6 ^a	17 $\pm$ 0.4 ^b		26 $\pm$ 1.1 ^a	18 $\pm$ 0.5 ^b
	C E		24 $\pm$ 0.7 ^a	17 $\pm$ 0.5 ^b		26 $\pm$ 1.5 ^a	18 $\pm$ 0.9 ^b
総コレステ ロール P-TC	B		106 $\pm$ 14 ^{bc}	142 $\pm$ 12 ^{ab}		132 $\pm$ 8 ^{ab}	142 $\pm$ 5 ^a
	E	98 $\pm$ 7 ^c	52 $\pm$ 5 ^a	87 $\pm$ 11 ^{cd}	105 $\pm$ 5 ^{bc}	96 $\pm$ 8 ^{cd}	69 $\pm$ 2 ^d
	C		192 $\pm$ 31 ^a	244 $\pm$ 45 ^a		156 $\pm$ 13 ^a	156 $\pm$ 10 ^a
	C E		58 $\pm$ 9 ^{de}	72 $\pm$ 10 ^{cde}		85 $\pm$ 6 ^{cd}	71 $\pm$ 5 ^d
血 漿 遊離コレス テロール P-FC	B		26 $\pm$ 3.5 ^{cd}	35 $\pm$ 4.0 ^{bc}		24 $\pm$ 1.4 ^b	24 $\pm$ 1.4 ^b
	E	23 $\pm$ 0.6 ^d	10 $\pm$ 1.3 ^f	20 $\pm$ 2.6 ^{de}	19 $\pm$ 1.8 ^c	14 $\pm$ 1.6 ^d	14 $\pm$ 0.6 ^d
	C		44 $\pm$ 7.0 ^{ab}	57 $\pm$ 8.2 ^a		30 $\pm$ 2.9 ^{ab}	32 $\pm$ 0.9 ^a
	C E		14 $\pm$ 2.0 ^{ef}	22 $\pm$ 2.1 ^d		19 $\pm$ 1.1 ^c	17 $\pm$ 1.9 ^{cd}
脂 質 トリグリセ リド P-TG	B		131 $\pm$ 20 ^{bc}	241 $\pm$ 28 ^a		90 $\pm$ 18 ^{abc}	148 $\pm$ 21 ^a
	E	136 $\pm$ 28 ^{bed}	100 $\pm$ 12 ^{cd}	172 $\pm$ 9 ^b	115 $\pm$ 12 ^{ab}	72 $\pm$ 8 ^c	105 $\pm$ 9 ^{ab}
	C		133 $\pm$ 22 ^{bed}	166 $\pm$ 31 ^{ab}		82 $\pm$ 15 ^{bc}	123 $\pm$ 15 ^{ab}
	C E		80 $\pm$ 10 ^d	124 $\pm$ 37 ^{bed}		44 $\pm$ 5 ^d	39 $\pm$ 4 ^d
血 漿 脂 質 P-PL	B		158 $\pm$ 12 ^{bc}	212 $\pm$ 14 ^a		180 $\pm$ 7 ^a	196 $\pm$ 8 ^a
	E	136 $\pm$ 12 ^{cd}	91 $\pm$ 5 ^f	110 $\pm$ 6 ^{de}	207 $\pm$ 19 ^a	121 $\pm$ 5 ^b	115 $\pm$ 4 ^b
	C		181 $\pm$ 19 ^{cd}	206 $\pm$ 23 ^{ab}		186 $\pm$ 15 ^a	178 $\pm$ 8 ^a
	C E		99 $\pm$ 7 ^{ef}	132 $\pm$ 17 ^{cde}		128 $\pm$ 9 ^b	112 $\pm$ 9 ^b
肝 脂 質 L-TL	B		7.4 $\pm$ 1.0 ^e	7.6 $\pm$ 1.0 ^e		7.7 $\pm$ 0.5 ^{ef}	8.8 $\pm$ 0.5 ^e
	E	9.2 $\pm$ 1.6 ^e	21.6 $\pm$ 1.7 ^d	19.1 $\pm$ 2.0 ^d	7.0 $\pm$ 0.7 ^f	33.7 $\pm$ 0.9 ^{ab}	19.3 $\pm$ 1.3 ^d
	C		27.9 $\pm$ 1.8 ^c	29.3 $\pm$ 1.7 ^{bc}		26.6 $\pm$ 1.4 ^c	30.4 $\pm$ 1.8 ^{bc}
	C E		37.6 $\pm$ 1.6 ^a	33.5 $\pm$ 1.2 ^{ab}		39.2 $\pm$ 2.8 ^a	36.3 $\pm$ 1.2 ^a
脂 質 総コレステ ロール L-TC	B		0.7 $\pm$ 0.1 ^d	0.7 $\pm$ 0.1 ^d		0.7 $\pm$ 0.1 ^f	0.7 $\pm$ 0.0 ^f
	E	0.8 $\pm$ 0.1 ^d	1.6 $\pm$ 0.1 ^c	1.2 $\pm$ 0.2 ^e	0.7 $\pm$ 0.0 ^f	1.5 $\pm$ 0.1 ^d	0.9 $\pm$ 0.0 ^e
	C		9.0 $\pm$ 0.8 ^{ab}	10.0 $\pm$ 0.5 ^a		6.4 $\pm$ 0.2 ^b	7.9 $\pm$ 0.3 ^a
	C E		8.4 $\pm$ 0.4 ^b	9.4 $\pm$ 0.4 ^{ab}		4.7 $\pm$ 0.3 ^c	7.2 $\pm$ 0.4 ^{ab}
肝 脂 質 トリグリセ リド L-TG	B		1.1 $\pm$ 0.5 ^f	1.1 $\pm$ 0.4 ^f		1.4 $\pm$ 0.2 ^e	2.1 $\pm$ 0.3 ^e
	E	1.7 $\pm$ 0.1 ^{ef}	10.9 $\pm$ 1.5 ^b	8.1 $\pm$ 1.5 ^{bc}	0.8 $\pm$ 0.1 ^f	15.4 $\pm$ 0.6 ^a	8.4 $\pm$ 1.0 ^c
	C		5.5 $\pm$ 0.8 ^{cd}	4.2 $\pm$ 0.7 ^{de}		5.1 $\pm$ 0.5 ^d	4.8 $\pm$ 0.4 ^d
	C E		18.0 $\pm$ 1.1 ^a	11.0 $\pm$ 0.8 ^b		12.4 $\pm$ 1.0 ^b	8.8 $\pm$ 0.6 ^c

表 2. (つづき)

磷 脂 質 L-PL	B	3.7±0.1 ^a	3.5±0.2 ^{ab}	3.3±0.1 ^{bc}	3.8±0.2 ^a	3.6±0.1 ^{ab}
	E	3.3±0.2 ^b	3.3±0.2 ^{ab}		3.0±0.1 ^{cd}	3.4±0.1 ^{ab}
	C	3.1±0.1 ^b	2.5±0.1 ^c		2.7±0.1 ^{de}	2.7±0.1 ^{ef}
	C E	2.2±0.1 ^d	2.2±0.1 ^{cd}		2.2±0.1 ^f	2.5±0.1 ^f
肝重/体重 (%)	B	2.7±0.1 ^e	2.7±0.1 ^e	3.3±0.1 ^c	2.5±0.1 ^d	2.9±0.2 ^{cd}
	E	3.5±0.2 ^{cd}	3.1±0.1 ^d		3.6±0.1 ^b	2.6±0.1 ^d
	C	5.0±0.2 ^b	5.8±0.3 ^a		4.6±0.1 ^a	4.9±0.2 ^a
	C E	5.7±0.1 ^a	5.5±0.1 ^a		5.0±0.2 ^a	4.6±0.2 ^a

*1 平均値±標準誤差

*2 同一実験の同一項目の9(または8)個の平均値のうち共通の文字を含まない数値の間には $a > b > c > d \dots$ の順で危険率5%以下の有意差がある

表 3. エリタデニン食 24 週摂取の影響

		基 本 食 ^{*1} B	エ リ タ デ ニ ン 食 E2	E5
添加エリタデニン (mg/100 g)		0	2	5
ラット数		7	5	6
血漿 ^{*2} 総コレステロール (mg/dl)	摂取開始時	132±10 ^{*3}	133± 4	137±11
	4 週後	144± 9	123±10	117±10
	8 "	158± 8 ^{*4}	129± 9 ^b	106± 9 ^b
	12 "	159± 8 ^a	124± 8 ^b	111±10 ^b
	16 "	159± 7 ^a	111±17 ^b	79± 7 ^b
	20 "	152±13 ^a	96± 7 ^b	94± 6 ^b
24週後の分析値				
体重増加 g/24週		291±14	286±29	299± 8
飼料効率 %		10.5±0.33	10.7±0.35	10.8±0.14
血漿 脂質 (mg/dl)	総コレステロール P-TC	150±10 ^a	121±6 ^b	100±7 ^c
	遊離コレステロール P-FC	33±1.6 ^a	28±1.0 ^b	25±1.3 ^b
	トリグリセリド P-TG	80±12	68±7	58±5
	磷脂質 P-PL	178±10 ^a	165±15 ^{ab}	127±10 ^b
肝 脂 質 %	総脂質 L-TL	5.4±0.2 ^b	12.6±2.2 ^a	20.3±3.1 ^a
	総コレステロール L-TC	0.58±0.02 ^b	0.82±0.05 ^a	1.01±0.08 ^a
	トリグリセリド L-TG	1.3±0.14 ^b	8.2±1.5 ^a	13.4±2.5 ^a
	磷脂質 L-PL	4.4±0.19 ^a	3.7±0.18 ^b	3.4±0.12 ^b

*1 表1の基本食の添加メチオニン量を0.35%に減らした

*2 中⁹⁾の微量法で定量した

*3 平均値±標準誤差

*4 表2の *2 参照

③ 肝脂質について 前報のしいたけ食では、TL、TC および TG が有意に増大するのはコレステロールを並食した場合に限られていたのに、このエリタデニン食による実験では、コレステロールを並食しない場合でも、

TC および TG の2成分は有意に増大した。ことに TG 値の増大は著しく、TL 値は 19% を越え、かなりの脂肪肝になっていた。肝の剖面も E 食では C または CE 食と同様にかなり白みを帯びていた。

2) 表2の肝のTGおよびTL値は6週から12週にかけて減少の傾向を示していた。メチオニン添加量を0.35%にさげた α デンプン食に、コレステロール添加なしに、エリタデニンを2または5mg/100g添加して、24週飼育した実験3の結果を表3に示す。P-TC値は8週以後、E2およびE5の双方で有意に減少しているが、24週後の肝のTGおよびTL値は、それぞれE₂で8および12%、E5で13および20%と高値を示し、長期飼育(または添加メチオニン量をさげたこと)による脂肪肝の軽減は見られなかった。しかし、これらのラットの体重増や24週後のみかけの健康状態は基本食群とまったく変わっていなかった。

考 察

四塩化炭素やエチオニンやオロト酸などの投与による脂肪肝の生成⁽⁴⁾はラットの成長や健康状態に著しい影響を与えている。また各種アミノ酸のインバランスによる脂肪肝でも、たとえばNodaらの報告⁽⁵⁾で例示されるように、成長その他のラットの健康状態にかなりの変化を伴っている。本報のエリタデニン摂取により生成した脂肪肝は、ラットの成長に影響をおよぼさず、また長期間の摂取でもラットの健康について少なくとも外観上では悪い影響を与えないという点でこれらの脂肪肝とは異なっている。しかし、本報のエリタデニン摂取による血漿脂質レベルの低下がつねにこのような肝脂質の増大を伴うという結果は、この血漿脂質の減少はエリタデニンによる肝脂質の血中への放出の阻害に起因している可能性を示し、エリタデニン投与の好ましくない副作用を暗示している。本報のこの結果とRokujoら⁽⁶⁾その他の“エリタデニンの投与は肝脂質の増大なしに血漿コレステロールを低下させる”，という結果との相違の理由を解明することが、血漿コレステロール低下剤として、エリタデニンを利用するために不可欠であると考えられる。

要 約

0.6%のD,L-メチオニンを添加した16%カゼイン食に5mg/100gのエリタデニンを投与すると、イ)炭水化物源がショ糖であっても α デンプンであっても、ロ)コレステロール+コラー酸ソーダの並食の有無にかかわらず、ハ)飼育期間の長短にかかわらず、ラットの血漿脂質(総および遊離コレステロール、磷脂質)が有意に低下したが、同時に肝グリセリドが著しく増大し、19%を超える脂肪肝の生成が見られた。

文 献

- 1) 金田尚志, 荒井君枝, 徳田節子: 栄養と食糧, 16, 466 (1964)
- 2) 天野 稔, 三宅義雄, 伊藤敏子: 栄養と食糧, 24, 423 (1971)
- 3) 三宅義雄, 伊藤敏子: 栄養と食糧, 26, 65 (1973)
- 4) Rokujo, T., Kikuchi, H., Tensho, A., Tsukitani, Y., Takenawa, T., Yoshida, K. and Kamiya, T.: *Life Sci.*, 9, 379 (1970)
- 5) Takashima, K., Izumi, K., Iwai, H. and Takeyama, S.: *Atherosclerosis*, 17, 491 (1973)
- 6) 木本万里, 吉沢節子, 越智尚子, 鶴木富紀子, 大村京生, 道喜美代: 栄養と食糧, 29, 275 (1976)
- 7) 常田文彦, 渋谷尚武, 安元 健, 金田尚志: 栄養と食糧, 24, 92 (1971)
- 8) Folch, J., Lees, M. and Sloan-Stanley, G.A.: *J. Biol. Chem.*, 226, 497 (1957)
- 9) 中 甫: 臨床病理, 20, 291 (1971)
- 10) Zak, B., Dickerman, R.C., White, E.G., Burnette, H. and Cherney, P.J.: *Am. J. Pathol.*, 24, 1307 (1954)
- 11) Kates, M.: *Techniques of Lipidology*, pp. 355, 360 (1972), American Elsevier (New York)
- 12) 松宮和人, 荒尾雅代, 中村雅一, 置塩達郎, 大森清彦: 臨床病理, 18, 383 (1970)
- 13) van Handel, E.: *J. Clin. Chem.*, 7, 249 (1961)
- 14) Farber, E.: *Adv. Lipid Res.*, 5, 119 (1967)
- 15) Noda, K. and Okita, T.: *J. Nutr.*, 110, 505 (1980)

(昭和55年9月8日受理)