高血圧自然発症ラットにおける小麦フスマ ヘミセルロースの血圧上昇抑制効果

児 玉 俊 明*, 椎 葉 究**, 辻 啓 介***

* 日清製粉株式会社医薬部

** 日清製粉株式会社つくば研究所

*** 国立健康・栄養研究所

Suppressive Effect of Wheat-bran Hemicellulose on Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats

Toshiaki KODAMA,* Kiwamu SHIIBA** and Keisuke TSUJI***

* Department of Pharmacy, Nisshin Flour Milling Co. Ltd., Chuo-ku, Tokyo 103

** Tsukuba Research Center, Nisshin Flour Milling Co. Ltd., Tsukuba 300-33

*** National Institute of Health and Nutrition, Shinjuku-ku, Tokyo 162

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 49, 101~105 (1996)

It has been reported that wheat water-soluble hemicellulose (WSH) has a suppressive effect on blood pressure, and also reported that WSH consists of two arabinoxylans (AX-1 and AX-2) that differ in their characteristics and structure. In order to clarify the hemicellulose component responsible for this effect, each of the arabinoxylans was separated and purified from WSH, and their suppressive effect on blood pressure in SHR (spontaneously hypertensive rats) was investigated. AX-1, characterized as an arabinoxylan consisting of a main chain of 1,4-linked- β -D-xylopyranose residues having only a few L-arabinofuranosyl branches and few uronic acid moieties, which was separated by 50% ethanol precipitation from WSH, had no suppressive effect on blood pressure. On the other hand, AX-2, an arabinoxylan consisting of a main chain with many arabinofuranosyl branches, some uronic acid moieties and a proteinaceous portion, which was prepared by ultrafiltration following enzymatic treatment with cellulase Onozuka, was found to suppress blood pressure. Compared with control SHR fed no hemicellulose, SHR fed AX-2 showed increased excretion of sodium in their feces, while SHR fed AX-1 showed no difference from the control. It is suggested that only AX-2 in WSH is the component responsible for the suppressive effect on blood pressure, due probably to its unique structure and ion-exchange ability through its uronic acid and/or proteinaceous portion.

Key Words wheat bran, hemicellulose, arabinoxylan, hypertension, blood pressure.

(Received September 25, 1995)

小麦フスマは、難消化性多糖類を約50%含有している。そのうちヘミセルロース成分は3分の2程度あり、高粘性のリグニンは少なく(5%以下)、きわめて有効な食物繊維供給源である。一方、ある種の食物繊維に血圧上昇抑制効果のあることが報告され^{1)~6)}、その作用は、過剰のナトリウムを吸着して排泄することによるものと推定されている⁵⁾⁶⁾。小麦フスマについても高血圧自然発症ラット(SHR)の血圧に対して抑制的に作用するが、その作用は、小麦フスマ中に含まれる水溶性ヘミセルロー

スおよびカリウムイオンに起因するものと推定されてきた⁷⁾⁸⁾。しかしながら、小麦ヘミセルロースは、構造の異なるアラビノキシラン成分から構成されており、血圧上昇抑制効果を有するアラビノキシランの構造およびその性状については、研究がなされていなかった。小麦フスマヘミセルロース中、水溶性のヘミセルロース(WSH)は、構造の異なる少なくとも2種類のアラビノキシラン成分(AX-1, AX-2)から構成されていることが報告されている⁹⁾。ここでは、WSHから、AX-1, X-2を分離調製した後、それぞれの成分の血圧上昇抑制効果を測定し、血圧上昇抑制効果を有するヘミセルロース成分の構造およびその性質について研究を行った。

* 〒103 東京都中央区日本橋小網町 19-12

** 〒300-33 つくば市大久保 13

*** 〒162 東京都新宿区戸山 1-23-1

実験方法

1. 小麦フスマ由来水溶性ヘミセルロース (WSH) の調製

小麦フスマから、WSH を分離精製する方法は、既報¹⁰⁾と同様の方法に従った。

2. WSH からアラビノキシランの分離

WSH の成分は、イオン交換能の違いにより大きく2種類に分離することができる。既報⁹⁾では、陰イオン交換体 DEAE-Sepharose CL-6B カラムを用いてその分離を行ったが、生理効果を測定する場合、多量の調製が必要であるため、以下のような方法を用いてその分離を行った。

1) AX-1 の調製 WSH の 10% 冷水溶液に対して、冷エタノールを濃度 50% (v/v) まで、少量ずつ添加・攪拌した。しばらく攪拌、放置して沈澱物を生成後、上清をデカンテーションにより除去した。さらに、遠心分離 (6,000×g, 10 min) により沈澱物を得た。沈澱物は、凍結乾燥後、粉碎した (粉碎物を FA とした)。

2) AX-2 の調製 AX-2 は、その構造上、セルラーゼオノズカの酵素活性に対して耐性であり分解されない⁹⁾。一方、AX-1 は、この酵素により分解され分子量 1 万以下のオリゴ糖、単糖まで分解されることは、すでに報告した⁹⁾¹¹⁾。セルラーゼオノズカに対するこのような性状の違いを利用して、AX-1 を酵素分解、限外濾過膜で分解物を除去後、AX-2 を分離・調製した。

50 mM 酢酸バッファー (pH 5.5) に WSH を 3% 濃度になるように溶解後、セルラーゼオノズカ RS (ヤクルト社製) を溶液に対して 0.1% (w/v) 添加した。酵素添加後、45°C、20 分間インキュベーションした後、5 分間煮沸して酵素失活させた。酵素反応溶液 10 l は、限外濾過膜処理を行った。限外濾過膜システムは、日東電工製 RUW-2 を使用し、限外濾過膜は、排除限界分子量 2 万の日東電工製 UF-3520 (モデル P-18, 0.76 m², 内径 11.5 mm) を使用した。流速は 13 l/min, 圧力は、8 kg/

cm² であった。このシステムにより、3 時間濾過および 30 分間濃縮を行い、処理液約 2 l を得た。処理液は、さらに陽イオン交換樹脂 (オルガノ社製モデル IR-120B) および陰イオン交換樹脂 (オルガノ社製モデル IRA-93) のベッド容量 500 ml カラムに流速 125 ml/min で透過させ、脱塩処理した。透過溶液は、凍結乾燥後、粉碎した (粉碎物を FB とした)。

3. HPLC によるヘミセルロースの分析

ヘミセルロースの DEAE-Sepharose のガラス分離カラム (オープンタイプ) による分離については、すでに報告した²⁾。ここでは、HPLC (日立 655A システム) を用いてヘミセルロースを分離した。

調製された 3 種のヘミセルロースは、それぞれ 20 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8.5) に溶解して 1% 濃度のサンプル液とした。サンプル液 20 μ l は、同緩衝液で平衡化した DEAE-825 カラム (Shodex, 3×200) に注入した後、10 分間同緩衝液で溶出した。その後、同緩衝液で、0~0.4 M NaCl 濃度の濃度勾配を 20 分間行い、溶出させた。その後、さらに、10 分間、0.4 M NaCl 同緩衝液で溶出させた。溶出速度は、1 ml/min, カラム温度は、50°C に設定した。溶出液は、0.5 ml/min の速度で、フラクションコレクターにより集め、フェノール-硫酸法により全糖量を測定した¹²⁾。

4. 調製ヘミセルロースの構成糖の定量

調製したヘミセルロース (WSH, FA, FB) の構成糖は、既報⁹⁾に従って加水分解後、定量した。

5. 調製ヘミセルロース中に含有する構成糖以外の成分の分析

調製したヘミセルロース中に含まれるタンパク質は、ケルダール分解法 ($N \times 5.7$) により測定した。

同成分中に含まれるウロン酸の測定は、グルクロン酸を標準物質としてメタフェニール-フェノール法により、測定した¹³⁾。また、フィチン酸の定量は、Tangendjaja らの方法により測定した¹⁴⁾。

Table 1. Composition of diet (%).

	Control	WSH	FA	FB
Casein	20	20	20	20
L-Methionin	0.3	0.3	0.3	0.3
Sucrose	63.7	60.1	59.8	60.1
Lard	10	10	10	10
Mineral-Mix.*	4	4	4	4
Vitamin-Mix.*	1	1	1	1
NaCl	1	1	1	1
Arabinoxylan	—	3.6**	3.9**	3.6**

* Purchased from Oriental Yeast, ** values are calculated from pentose content (arabinose and xylose) shown in Table 2.

6. 高血圧自然発生ラット (SHR) の血圧測定

9週齢の雄性 SHR (星野試験動物飼育所から入手) に Table 1 に示すように 1%食塩および 3種のヘミセルロースをアラビノキシラン量で 3%となるように配合した飼料を 2週間給与した。対照として無食物繊維で 1%食塩含有する飼料を用いた。飼料摂取および飲水は、自由摂取とした。1群 6匹とし、非観血的にラット尾動脈圧測定装置 PS-100 (理研開発製) により、0日目、1週間後、2週間後測定した。

7. SHR 糞便およびナトリウム量の測定

20週齢の雄性 SHR (1群 5匹) に上記同様の飼料 (Table 1) を 10日間給与し、4日目より 7日間採糞糞中ナトリウムを測定した。対照として無食物繊維および 3%セルロース飼料を用いた。飼料摂取および飲水は自由摂食とした。採取した糞便は、60°C で 24時間乾燥し、乾燥糞便量を測定した。また、糞便中のナトリウム量は、原子吸光法で測定した。

結果および考察

1. 調製したヘミセルロースの分析

調製した 3種ヘミセルロースの HPLC 用 DEAE カラムによる溶出パターンを、Fig. 1 に示した。

WSH は、カラム非吸着区分 (AX-1) および吸着区分 (AX-2) を、糖質量比で、40:60 の割合で含有していた。これに対し、FA は、95%以上の AX-1 成分から構成され、一方、FB も、AX-1 成分を若干 (約 7%) 含有しているものの、AX-2 成分が 90%以上であった。

Table 2 に示したように、今回調製した 3種のヘミセルロース構成糖成分として、アラビノース、キシロース、グルコース、ウロン酸が測定された。WSH の構成するキシロースに対するアラビノース比 (A/X) は、0.82 であったが、FA、FB の A/X 比は、それぞれ 0.46、1.08 であり、このことは、既報⁹⁾ で DEAE-Sepharose CL-6B で両成分を分離した AX-1 および AX-2 の成分分析結果と類似していた。また、AX-2 は、ウロン酸、タンパク質の含有が高いことが特徴であり、DEAE カラムへの吸着は、それら成分が陽イオン交換作用を有するためと考えられるが、今回調製した FB も、FA と比較してその含有

Fig. 1. Elution profile of hemicellulose contents (WSH, FA and FB).

Separation was carried out by HPLC using DEAE-825 column at a flow rate 1 ml/min and 20 mM tris-HCl buffer (pH 8.5) with a linear gradient of 0-0.4 M NaCl as the eluting buffer. Eluent was collected in 0.5 ml fractions. □, carbohydrates of FA; △, carbohydrates of FB; ●, carbohydrates of WSH. Arabinoxylan fraction are denoted as AX-1 and AX-2.

量が高いことが示された。また、両区分から、フィチン酸は検出されなかった。

以上のことから、今回調製した FA は、分岐アラビノース側鎖の少ないアラビノキシラン AX-1 に、また FB は、分岐アラビノース側鎖が多い AX-2 に相当することが示唆された。

2. 小麦ヘミセルロースの SHR に対する血圧上昇抑制効果

試験食 4 種を用いて飼育させた SHR の飼料摂取量お

Table 2. Composition of hemicellulose fractions.

	Sugar composition				Crude protein (%)
	Xylose (%)	Arabinose (%)	Glucose (%)	Uronic acid (%)	
WSH	46.2	38.1	8.3	3.9	5.3
FA	52.2	24.0	17.2	0.2	2.5
FB	40.3	43.5	3.4	4.6	5.0

Values are the average of two replications. All duplicates were within $\pm 5\%$ of the mean.

Table 3. Effects of hemicellulose contents on food intake and body weight gain in SHR.

	Control	WSH	FA	FB
Food intake (g/day)	17.9±0.95*	17.5±1.26	18.7±1.52	18.1±0.72
Body weight				
Initial (g)	288±7.6	278±9.5	287±15.7	281±13.0
Final (g)	299±13.3	292±10.3	308±15.5	292±13.7
Gain (g/day)	0.8±0.2	1.0±0.2	1.5±0.4	0.8±0.3

*Mean±standard error of 6 male SHR. The feeding periods, 14 days.

よび体重の変化について、Table 3 に示した。飼料摂取量は、ヘミセルロース無摂食区（コントロール）と比較して、試験区でやや低くなるものの有意差はなかった。また、体重の変化についても、コントロールと比較して、有意差はなかった。

次に、試験食 4 種を用いて飼育させた SHR の 1 週間後および 2 週間後の血圧を測定した結果を Table 4 に示した。摂食開始時の血圧は全区で約 140 mmHg であったが、1 週間後 WSH および FB 摂食区でやや血圧上昇が抑えられる傾向になり、2 週間後では、ヘミセルロース無摂食区（コントロール区）で 170 mmHg 前後まで血圧が上昇したのに対し、WSH、FB 摂食した試験区では 160 mmHg より低くなり、有意に血圧上昇の抑制効果が認められた。しかしながら、FA を摂食した試験区では、コントロール区と有意差がなく血圧上昇抑制効果は認められなかった。このことから、水溶性小麦ヘミセルロース（WSH）の血圧上昇抑制効果は、AX-2 に依存している可能性が高いことが示された。

次に、SHR の糞便量および糞便中に含まれるナトリウム含有量を測定した（Table 5）。コントロールに比べ

て、WSH、FA、FB いずれの水溶性ヘミセルロース成分を摂食した区でも、糞便量が増加したが、FA の摂食区では、糞便中に含まれるナトリウム量が少なく、ナトリウムの排泄促進傾向はほとんど認められなかった。それに対し、FB の摂食区では、高い比率でナトリウムの排泄が認められ、WSH の摂食区では、その中間の値であり、WSH 中に含まれる AX-2 の重量比率と相関があった。このことから、水溶性ヘミセルロースのうち AX-2 にとくにナトリウム排泄促進効果を有することが示唆された。

さらには、各種食物繊維を用いて SHR に対する糞便中のナトリウムイオン排泄促進効果と血圧の上昇抑制効果の相関性を測定した結果、カルボキシル基を有する酸性多糖類、フィチン酸に両効果が認められ、両者に相関性があることを報告している⁵⁾⁶⁾。

以上から、小麦フスマの血圧上昇抑制効果は、ヘミセルロースのうちとくにアラビノキシラン AX-2 に由来し、その作用としては、AX-2 に含まれるウロン酸および/またはタンパク質の陽イオン交換作用による腸管内でのナトリウムイオンとの吸着とアラビノース側鎖の多

Table 4. Effects of hemicellulose contents on blood pressure levels in SHR.

	Control	WSH	FA	FB
Blood pressure (mmHg)				
Initial	141±7.5*	140±8.5	141±6.6	140±9.6
1 week after	153±4.0	147±4.6	152±4.3	146±19.2
2 weeks after	170±7.6 ^a	160±5.8 ^b	167±6.0 ^a	158±5.3 ^b
Difference of blood pressure (mmHg/14 days)	29±5.4 ^a	20±4.3 ^b	26±5.1 ^a	18±2.8 ^b

* Mean±standard error of 6 male SHR. The feeding periods, 14 days. The same alphabetical letter on each line showed no significantly different ($p < 0.05$).

Table 5. Effects of hemicellulose contents on fecal excretion of sodium in SHR.

	Control	WSH	FA	FB
Feces dry wt. (g/day/rat)	0.51±0.043**	0.74±0.128 ^b	0.89±0.068 ^b	0.79±0.055 ^b
Fecal sodium content (%)	0.48±0.060 ^a	0.52±0.088 ^a	0.32±0.070 ^b	0.60±0.063 ^b
Fecal sodium excretion (mg/day/rat)	2.47±0.170 ^a	3.81±0.682 ^b	2.86±0.168 ^a	4.64±0.250 ^c

* Mean±standard error of 5 male SHR. The same alphabetical letter on each line showed no significantly different ($p < 0.05$).

いアラビノキシラン構造をもつ難消化性多糖類による排泄促進効果による複合的作用であると考えられた。

要 約

小麦フスマ水溶性ヘミセルロース (WSH) から、構造の異なる2種のアラビノキシラン (FA, FB) を分離調製した後、それぞれの成分の血圧上昇抑制効果を自然発症高血圧ラット (SHR) を用いて測定し、血圧上昇抑制効果を有するヘミセルロース成分の構造およびその性質について検討した。FA は、WSH 溶液の50%エタノール沈殿物として得られた。一方、FB は、WSH をセルラーゼオノズカによる酵素処理後、限外濾過膜分離して、その高分子成分として得られた。陰イオン交換体 DEAE カラムにより、FA はアラビノース側鎖の少ないアラビノキシラン AX-1 に、また、FB は、アラビノース側鎖が多く、タンパク質やウロン酸を含む陽イオン交換体を有するアラビノキシラン AX-2 に相当することがわかった。これら WSH, FA, FB をアラビノキシラン量で3%になるように試験食に配合した飼料を SHR に与えた。その結果、とくに FB 配合試験区で、FA 摂食試験区やコントロール区 (ヘミセルロース無配合区) に比べて、有意に血圧上昇抑制効果が認められた。また、それぞれの試験食で飼育した SHR の糞便量は、コントロール区と比較して全ヘミセルロース試験区で増加したが、糞便中のナトリウム量は、FB 摂食区で最も高く、FA 摂食区ではコントロールと差がなかった。また、WSH 摂食区では、その中間の値を示したことから、WSH 中に含まれる AX-2 の量に比例してナトリウムが、排泄される傾向にあり、血圧上昇抑制効果との因果性が示唆された。以上の結果から、WSH 中、AX-2 成分に血圧上昇抑制効

果があり、それは、AX-2 のナトリウム排泄促進効果によることが示唆された。また、その理由として、AX-2 に含まれるウロン酸および/またはタンパク質の陽イオン交換作用による腸管内でのナトリウムイオン吸着と、アラビノース側鎖の多い構造をもつ難分解性食物繊維による排泄促進効果による複合的作用が考えられた。

文 献

- 1) Anderson, J.W. : *Ann. Int. Med.*, 98, 842 (1983)
- 2) Hallfrisch, J., Tobin, J., Muller, D.C. and Andres, R. : *J. Gerontol.*, 43, 64 (1988)
- 3) Sawata, S., Hidaka, H., Yasuda, H., Tomomatsu, K., Sato, R. and Oka, H. : *Jpn. Heart J.*, 29, 11 (1988)
- 4) 伊藤和枝, 川崎晃一, 上園慶子 : *栄食誌*, 43, 233 (1990)
- 5) 辻 啓介, 辻 悦子, 中川靖枝, 鈴木慎次郎 : *家政誌*, 39, 187 (1988)
- 6) 辻 啓介, 中川靖枝, 市川富夫 : *家政誌*, 44, 3 (1993)
- 7) 河村雅子, 中川靖枝, 辻 啓介, 市川富夫 : 第37回日本家政学会要旨集, 11 (1985)
- 8) 中川靖枝, 河村雅子, 辻 啓介, 市川富夫, 児玉俊明, 椎葉 究 : 第43回日本栄養・食糧学会講演要旨集, 150 (1989)
- 9) Shiiba, K., Yamada, H., Hara, H., Okada, K. and Nagao, S. : *Cereal Chem.*, 70, 209 (1993)
- 10) 椎葉 究, 井実孝則, 原 博嘉, 岡田憲三 : *日食工誌*, 39, 1147 (1992)
- 11) Shiiba, K., Yamada, H., Hara, H. and Okada, K. : *Cereal Chem.*, 71, 279 (1994)
- 12) Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. : *Anal. Chem.*, 38, 350 (1956)
- 13) Blumenkranz, N. and Asboe-Hansen, G. : *Anal. Chem.*, 54, 484 (1973)
- 14) Tangendjaja, B., Buckle, K.A. and Wootton, M. : *J. Chromatogr.*, 197, 274 (1980)

(1995年9月25日受理)