大豆外皮由来水溶性ヘミセルロースのラット血清 コレステロール濃度低下作用と盲腸の関連性

永田 純一, 寺岡 聡

屋 宏典, 知念 功

琉球大学農学部生物資源科学科応用生物化学講座

Relationship between the Cecum and Cholesterol Metabolism in Rats Fed Soybean Hull Hemicellulose

Junichi NAGATA, Satoshi TERAOKA, Hirosuke OKU and Isao CHINEN

*Laboratory of Applied Biochemistry, Faculty of Agriculture, University of
the Ryukyus, Senbaru-1, Nishihara, Okinawa 903-0213*

J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci., **51**, 173~181 (1998)

We examined the relationship between soybean hull-derived water-soluble hemicellulose (SSH) and the role of the cecum in order to clarify the function of SSH in the regulation of serum cholesterol level. When rats were fed a semi-purified diet containing SSH, we observed a reduced serum cholesterol level ($p < 0.05$) and a notable increase ($p < 0.05$) of cecum weight in comparison with those in other groups, where no increase in the fecal sterol concentration was observed. Although the serum cholesterol level of cecectomized rats fed SSH was roughly comparable with that of rats given a sham operation, the cecum, when present, showed a different pattern of fecal steroid excretion. Lower excretion ($p < 0.05$) of fecal bile acids and neutral sterols was observed in the rats given a sham operation and fed SSH. These results indicate that the cecum plays an important role in the regulation of fecal steroid excretion, rather than having a hypocholesterolemic effect.

Key words soybean hull hemicellulose, cecum, serum cholesterol, cecectomy.

(Received November 4, 1997)

水溶性食物繊維の血清コレステロール (Chol) 濃度調節作用は、消化管内における食物繊維への脂質の取り込みとそれに伴う糞中ステロイド排泄量の増加により発揮されると考えられている¹⁾。また、糞中への胆汁酸排泄量の増加に伴い生体内の胆汁酸合成が亢進し Chol の異化が引き起こされることもこれまでの報告により知られている²⁾。

摂取された食物繊維は腸内細菌に資化され発酵作用により分解される³⁾。この際短鎖脂肪酸が産生し、生じた短鎖脂肪酸は腸粘膜でエネルギー源として利用されたり⁴⁾、腸内細菌叢の変化をもたらしたり⁵⁾、血清 Chol 濃度調節に関与する⁶⁾ ことなどが知られている。

このように水溶性食物繊維の血清 Chol 濃度調節機構は、消化管内で起こる食物繊維の物理的特性に起因する脂質の吸収阻害や糞中へのステロイド排泄亢進ならびに

生体内における Chol 異化酵素の活性亢進と盲腸における発酵作用等が相加的あるいは相乗的に作用し発揮されるものと考えられる。

われわれはこれまでサトウキビ搾汁残渣 (バガス) 由来の水溶性ヘミセルロース (WSH)⁷⁾ や大豆由来の高食物繊維素材⁸⁾ を用いた実験から必ずしも糞中ステロイドの排泄増加を示さない顕著な血清 Chol 濃度の低下作用を観察している。

今回われわれは WSH の糞中ステロイド排泄亢進を伴わない血清 Chol 濃度低下の作用機作を探るため、これまでの実験に加えさらに大豆外皮由来ヘミセルロースの血清 Chol 濃度に及ぼす影響について同様の検討を行った。

大豆外皮から調製された水溶性ヘミセルロースや他の穀物より調製されたヘミセルロースの血清 Chol 濃度に及ぼす影響に関してはこれまでいくつかの報告がなされているが⁹⁾、糞中ステロイド排泄と血清 Chol 濃度との関

連性は明らかでなく一定の見解は得られていない¹⁰⁾。

今回われわれが行った実験では実験開始7日目に大豆外皮水溶性ヘミセルロースを摂取した実験群で糞中ステロイド排泄亢進を伴わない血清 Chol 濃度の低下を観察した。また屠殺時の盲腸肥大が顕著であることから盲腸と血清 Chol 濃度調節の関連性にも着目し検討を加えた。

実験方法

1. 実験試料の調製

試料調製に用いた大豆外皮は水洗し粉碎後、0.84 mm の篩いにかけ粒子径を均一にした。大豆外皮の難水溶性ヘミセルロース (ISSH) および水溶性ヘミセルロース (SSH) の調製は、Fig. 1 に示す手順に従って調製を行った。すなわち、一夜流水洗浄を行った大豆外皮を8%水酸化ナトリウムでヘミセルロース抽出を行った。抽出液を酢酸で pH 4.5 に調整し、難水溶性画分 (ISSH) を回収した。一方その上清に等量のエタノールを添加し生じた沈澱物を水溶性画分 (SSH) とした。ISSH および SSH の糖組成、ならびに回収率は Table 1 に示した。また ISSH および SSH はいずれも凍結乾燥を行った後、粉碎し 0.84 mm の篩いを通して実験に供した。

Fig. 1. Scheme for the preparation of water-soluble and -insoluble hemicellulose from soybean hull.

ISSH denotes water-insoluble soybean hemicellulose. SSH denotes water-soluble soybean hemicellulose.

2. 実験動物および飼育方法

実験 1 は、生後 4 週齢のウィスター系雄ラット (日本エスエルシー社、静岡) に市販のマウス・ラット用飼育繁殖固形飼料 (CE-2; 日本クレア、東京) を 7 日間与え予備飼育を行い、その後 4 群 (5 匹/群) に分け、Table 2 に示す 0.5% の Chol とラードおよびコーン油を 9:1 (重量比) で含む高脂肪食に、実験試料としてセルロース (粉末; ナカライテスク、京都)、大豆外皮、ISSH および SSH をそれぞれ 3% 添加した半純化食を 2 週間与えた。実験期間中飼料および飲料水は自由に摂取させた。室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 時間のライトサイクル (明期; 0830-2030) 下でステンレスケージにて個別飼育を行った。

実験 2 は、予備の実験で開腹手術 (Sham-ope) を行った動物 (4 匹/群) と処置を行わない動物で体重増加量、肝臓重量ならびに脂質濃度に関して類似の応答性を示す

Table 1. Sugar component and recovery of test substrates from soybean.

	ISSH	SSH
Sugar component (weight %)		
Rhamnose	0.38	2.51
Mannose	0.29	10.56
Arabinose	1.92	36.43
Galactose	1.04	24.14
Xylose	93.97	21.14
Glucose	1.67	3.88
Recovery (%)	5.50 ± 0.46	6.60 ± 0.95

ISSH, insoluble soybean hemicellulose; SSH, soluble soybean hemicellulose.

Table 2. Diet composition (weight %).

Protein	
Casein	20
Fat	
Lard	9
Corn oil	1
Cholesterol	0.5
Mineral mixture ^a	4
Vitamin mixture ^b	1
Sodium cholate	0.125
Choline chloride	0.2
Test fiber ^c	3
Sucrose	To 100

^{a,b}, Vitamin and mineral mixture were used Harper mixture¹¹⁾ purchased from Oriental Yeast Co., Ltd.

^c, Test fiber consists of Cellulose (Cellulose powder; Nacalai Tesque, Kyoto), Soybean hull, Insoluble soybean hull hemicellulose, Soluble soybean hull hemicellulose.

ことを確認した後、本実験を行った。本実験は体重 150 g 前後のウィスター系雄ラットを予備飼育後開腹手術 (Sham-ope) のみを施行した対照群 (3 匹/群) と盲腸切除術を施行した実験群 (4 匹/群) を設け実験を行った。処置を行った動物が手術前の体重に回復した後、高脂肪食に大豆外皮および各フラクション凍結乾燥試料を 3% 添加した実験食を各実験動物に 2 週間自由摂食させた。実験 2 も実験 1 と同じ飼育条件で実験を行った。

実験 1 では 0, 7 日目に、実験 2 では 0, 4, 8 日目に尾静脈より、また屠殺時 (14 日目) には全採血を行い、経時的な血清 Chol 濃度の変化を調べた。さらに糞も経時的 (実験 1 ; 0, 7, 14 日目, 実験 2 ; 3, 7, 14 日目) に採取し糞中ステロイド排泄量を調べた。

3. 糖組成の分析

大豆外皮より調製された ISSH および SSH の糖組成は、液体高速クロマトグラフィー (HPLC) によるポストカラム法にて測定した¹²⁾。試料は分析に先立ち以下に示す前処理を行った。すなわち 72% 硫酸で試料を加水分解し、0.25 M Ba(OH)₂ で pH を 5.5 から 6.5 に調整した後、蒸留水で定容したものを 0.22 μ m のフィルターで濾過し分析に供した。分析は、移動相に 0.1 M から 0.4 M ホウ酸グラジエントバッファー (流量 : 0.6 mL/min) を用い、Shim-Pack ISA-07 (0.4 mm $\times$ 25 cm, 島津製作所, 京都) カラムで分画を行った。分画後 1% アルギニン溶液 (0.5 mL/min) と反応させ蛍光検出器で検出を行った。分画温度および反応温度はそれぞれ 65°C, 150°C であった。また検出波長は励起波長が 320 nm, 蛍光波長が 430 nm であった。

4. 血清、肝臓および盲腸内容物脂質の分析

血清中の総 Chol, トリグリセリド (TG) およびリン脂質 (PL) の各濃度を市販酵素試薬 (コレステロール E-Test Wako, トリグリセリド E-Test Wako, リン脂質 C-Test Wako, 和光純薬工業, 大阪) を用いて測定した。肝臓および盲腸内容物の脂質は、Folch らの方法¹³⁾ によ

り抽出を行い、肝臓および盲腸内容物 Chol 濃度は、Sperry & Webb 法¹⁴⁾ で、肝臓 TG および PL 濃度をそれぞれ Fletcher 法¹⁵⁾, Rouser 法¹⁶⁾ で定量した。また、盲腸内容物の胆汁酸濃度は、酵素法で分析を行った¹⁷⁾。

5. 糞中ステロイド濃度の測定

糞中の酸性および中性ステロールは、採取した糞を凍結乾燥後粉碎しエタノールで抽出を行った。それぞれの抽出液を蒸発乾固後ケン化し、再抽出を行い、中性ステロールの分析は、トリメチルシリル誘導体を GLC にて分析を行った。分析に用いた充填カラムは、OV-17 (ガスクロ工業, 東京) 3 mm $\times$ 2 m ガラスカラムを用い、GLC (日立 163 型, 日立製作所, 東京) により内部標準として 5 α コレスタンを用いて定量分析を行った¹⁸⁾。分析温度は 250°C であった。また酸性ステロールは、メチル化、アセチル化を行い、充填剤 AN-600 (ガスクロ工業, 東京) 3 mm $\times$ 2 m ガラスカラムを用い内部標準として 5 β コラン酸を用い分析温度 250°C で定量分析を行った¹⁸⁾。

6. 盲腸内 pH 測定と短鎖脂肪酸分析

盲腸内 pH の測定は、屠殺時盲腸内に微小 pH 電極 (樹ソアーセンサ, 東京) を直接挿入し測定した。盲腸残存内容物は蒸留水を用いて抽出を行い、遠心分離後の上澄を 0.22 μ m のメンブランフィルターで濾過し、濾液中の有機酸を HPLC (カラム ; Shim-pack SCR-102H, 移動層 ; 3 mM HClO₄, 反応液 ; 0.2 mM bromothymol blue (BTB), 8 mM Na₂HPO₄, 2 mM methanol) により定量分析を行った¹⁹⁾。

7. 統計処理

結果は平均 $\pm$ 標準誤差で表し、食餌因子に関し一元配置分散分析を行い、有意差の検定を Duncan の multiple range test で行った²⁰⁾。

Table 3. Body, liver and cecal weight, and food intake.

	Cellulose	Soybean hull	ISSH	SSH
Initial BW (g)	142.0 $\pm$ 3.08	142.3 $\pm$ 2.87	143.3 $\pm$ 1.89	143.3 $\pm$ 1.60
Final BW (g)	201.3 $\pm$ 5.56 ^a	196.0 $\pm$ 4.85 ^{ab}	203.5 $\pm$ 2.40 ^a	187.5 $\pm$ 1.19 ^b
Weight gain (g)	59.3 $\pm$ 6.41 ^a	53.8 $\pm$ 2.78 ^{ab}	60.3 $\pm$ 3.15 ^a	44.3 $\pm$ 2.32 ^b
Liver wt. (g/100 g BW)	4.42 $\pm$ 0.16	4.61 $\pm$ 0.21	4.76 $\pm$ 0.16	4.38 $\pm$ 0.18
Cecal wt. (g/100 g BW)	1.15 $\pm$ 0.13 ^a	1.32 $\pm$ 0.18 ^a	1.05 $\pm$ 0.07 ^a	2.18 $\pm$ 0.14 ^b
pH	7.10 $\pm$ 0.07 ^a	7.27 $\pm$ 0.09 ^a	6.88 $\pm$ 0.22 ^a	6.38 $\pm$ 0.10 ^b
Food intake (g/day)	14.5 $\pm$ 0.49 ^{ab}	14.6 $\pm$ 0.81 ^{ab}	15.3 $\pm$ 0.21 ^a	13.5 $\pm$ 0.33 ^b
Food efficiency (g BW/g FI)	0.34 $\pm$ 0.03 ^a	0.31 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.33 $\pm$ 0.02 ^{ab}	0.27 $\pm$ 0.02 ^b

Data are shown as Mean $\pm$ SEM of 5 rats. Values not sharing a common superscript letters show significant difference at $p < 0.05$. ISSH, insoluble soybean hemicellulose ; SSH, soluble soybean hemicellulose ; BW, body weight ; FI, food intake.

実験結果

1. 実験 1

SSH を摂取した動物の終体重、体重増加量はセルロースおよび ISSH 摂取群と比較し、食餌摂取量は ISSH 摂取群と比較し、また食餌効率もセルロース摂取群と比較し有意に低い値を観察した (Table 3)。これらは SSH 摂取に伴う消化不良性の水溶性便と低い飼料摂取に起因すると考えられた。一方盲腸重量は、SSH 摂取群で他の群と比較し有意な ($p < 0.01$) 重量増加を観察し、また腸内発酵の指標となる盲腸内 pH は、SSH < ISSH < セルロース < 大豆外皮摂取の順に高い pH で、SSH 摂取群では有意 ($p < 0.01$) に低い pH を示した。このことより SSH 摂取は消化管内容物の蓄積により腸内発酵の条件を整え、発酵を促す環境であることが推察される。

盲腸内容物中の短鎖脂肪酸濃度を Table 4 に示した。今回の実験では総短鎖脂肪酸中に占める *n*-プロピオン酸の比率が最も高く約 85~90% であった。酢酸および *n*-プロピオン酸で 97% 以上を占め盲腸内の短鎖脂肪酸はおもにこの二つの脂肪酸で構成されていた。主要構成

脂肪酸である *n*-プロピオン酸の濃度は、セルロース群と比較し大豆外皮、ISSH、および SSH 摂取群で高い値を示したが有意な差を認めなかった。総短鎖脂肪酸濃度も

Fig. 2. Time course of rat serum cholesterol.

□, Cellulose; ○, Soybean hull; ■, ISSH; ●, SSH. Values not sharing common letters are significant difference at $p < 0.05$.

Table 4. Short chain fatty acid concentrations in rat cecum.

	Cellulose	Soybean hull (mg/g cecum)	ISSH	SSH
Acetic acid	7.12 ± 1.68 ^{ab}	5.36 ± 0.67 ^a	9.57 ± 2.02 ^b	8.43 ± 0.61 ^{ab}
iso-Propionic acid	1.53 ± 0.43	1.27 ± 0.21	1.08 ± 0.51	1.68 ± 0.41
<i>n</i> -Propionic acid	49.2 ± 13.5	70.8 ± 15.8	69.6 ± 13.3	69.8 ± 19.4
Butyric acid	0.25 ± 0.09	0.08 ± 0.05	0.19 ± 0.11	0.13 ± 0.07
Valeric acid	0.08 ± 0.03	0.09 ± 0.07	0.15 ± 0.06	0.06 ± 0.07
Total	58.2 ± 11.9	77.6 ± 16.2	81.6 ± 12.8	80.1 ± 19.2

Data are shown as Mean ± SEM of 5 rats. Values not sharing a common superscript letters show significant difference at $p < 0.05$. ISSH, insoluble soybean hull hemicellulose; SSH, soluble soybean hull hemicellulose.

Table 5. Serum and liver lipid concentrations of rats fed cholesterol diet.

	Cellulose	Soybean hull	ISSH	SSH
Serum (mg/dl)				
Total cholesterol	351.3 ± 50.8 ^a	269.7 ± 28.2 ^{ab}	245.3 ± 27.6 ^{ab}	200.1 ± 24.8 ^b
Triglyceride	71.2 ± 9.93 ^a	53.3 ± 11.9 ^{ab}	41.4 ± 1.78 ^b	37.2 ± 3.51 ^b
Phospholipid	188.0 ± 21.3 ^a	162.4 ± 19.2 ^{ab}	156.0 ± 11.4 ^{ab}	126.7 ± 9.66 ^b
Liver (mg/g)				
Total cholesterol	80.0 ± 3.05 ^a	82.8 ± 3.15 ^a	57.5 ± 5.60 ^b	62.3 ± 2.28 ^b
Free cholesterol	11.7 ± 0.72	13.5 ± 1.44	12.0 ± 0.79	11.0 ± 0.93
Cholesterol ester	68.4 ± 2.90 ^{ac}	69.3 ± 4.44 ^a	45.5 ± 6.04 ^b	51.3 ± 2.92 ^{bc}
CE/TC(%)	85.4 ± 0.86	83.5 ± 2.19	78.5 ± 2.63	82.2 ± 1.99
Triglyceride	39.7 ± 3.74	49.1 ± 6.46	46.1 ± 3.69	32.2 ± 1.34
Phospholipid	30.2 ± 0.72	28.7 ± 0.28	30.3 ± 0.57	29.4 ± 0.45

Data are shown as Mean ± SEM of 5 rats. Values not sharing common superscript letters show significant difference at $p < 0.05$. ISSH, insoluble soybean hemicellulose; SSH, soluble soybean hemicellulose; CE, cholesterol ester; TC, total cholesterol.

n-プロピオン酸濃度を反映した値を示した。

血清 Chol の経時の変化 (Fig. 2) と屠殺時の血清および肝臓脂質濃度を Table 5 に示した。SSH 摂取群は、飼育 7 日目において他の全ての群と比較し有意に ($p < 0.01$) 低い値を示し、屠殺時 (14 日目) まで最も低い値で推移した。また屠殺時の TG, PL 濃度も SSH 摂取群は、最も低い血清脂質濃度を示した。肝臓脂質濃度は、ISSH および SSH 摂取群の総 Chol 濃度がセルロースおよび大豆外皮摂取群と比較して有意に ($p < 0.05$) 低い値を示した。

Fig. 3. Time course of excretions of acidic sterol in rats fed various dietary fiber.

The feces of each animal were collected at 0, 7, 14 day during experimental period. Values not sharing common letters are significant difference at $p < 0.05$.

糞中酸性ステロール量の経時の変化を Fig. 3 に示した。飼育 7 日目の酸性ステロール排泄量は、ISSH 摂取群でセルロース群に対して有意に高い値を示したが、SSH 摂取群は対照群とほぼ同等の排泄量を示し顕著な排泄亢進を認めなかった。14 日目の排泄量は、ISSH および SSH 摂取群で高い傾向を示したがセルロース群と有意な差を認めなかった。

このように SSH は、顕著な酸性ステロール排泄亢進を伴わないが実験食摂取 7 日目より血清 Chol 濃度の低下作用を示した。

2. 実験 2

開腹術 (Sham-ope) および盲腸切除術 (Cecectomy) を施行し、実験飼料を与えた動物の初体重、終体重、体重増加量、1 日当りの平均食餌摂取量、屠殺時の肝臓重量および盲腸重量を Table 6 に示した。盲腸切除を行った動物の体重増加量は ISSH 摂取群で低い値を示したが、終体重には群間に差を認めなかった。一方 Sham-ope を行った動物は、SSH 摂取群で終体重、体重増加量および食餌摂取量が、他の群と比較して有意に ($p < 0.05$) 低い値を示したのに対し、盲腸重量は SSH 摂取群で有意に ($p < 0.05$) 高い値を示した。

血清 Chol 濃度の経時的 (0, 4, 8, 14 日目) 変化を Fig. 4 に示した。経時的な血清 Chol 濃度は、Sham-ope を行った SSH 摂取群で最終日 (14 日目) に大豆外皮摂取群と比較し有意に ($p < 0.05$) 低い値を示した。一方盲腸切除を行った動物において SSH 摂取群は ISSH 摂取群とほぼ同じ値を示した。今回の実験では実験 1 で観察された SSH 摂取による特異的な強い血清 Chol 濃度低下作用は確認されなかった。

肝臓脂質濃度はすべての脂質において有意な差を観察しなかった。

実験期間中経時的 (3, 7, 14 日目) に採取を行った糞中の酸性および中性ステロール量を Fig. 5 に示した。

Table 6. Body, liver and cecal weight and food intake of the operated rats (Exp. 2).

	Initial b.w. (g)	Final b.w. (g)	Body wt. gain (g)	Food intake (g/day)	Liver wt. (g/100 g b.w.)	Cecum wt. (g/100 g b.w.)
Sham-ope						
Soybean hull	161.0 $\pm$ 4.42	201.7 $\pm$ 2.94 ^a	40.7 $\pm$ 3.89 ^a	13.4 $\pm$ 0.69 ^{ab}	4.10 $\pm$ 0.09	0.87 $\pm$ 0.02 ^a
ISSH	160.7 $\pm$ 3.56	201.0 $\pm$ 3.08 ^a	40.3 $\pm$ 1.78 ^a	13.6 $\pm$ 0.11 ^a	4.13 $\pm$ 0.14	1.11 $\pm$ 0.18 ^{ab}
SSH	159.7 $\pm$ 3.89	188.3 $\pm$ 2.94 ^b	28.7 $\pm$ 1.47 ^b	12.3 $\pm$ 0.22 ^b	4.06 $\pm$ 0.12	1.56 $\pm$ 0.25 ^b
Cecectomy						
Soybean hull	150.3 $\pm$ 8.75	199.3 $\pm$ 5.21	49.0 $\pm$ 4.90 ^a	13.8 $\pm$ 0.22 ^{ab}	4.12 $\pm$ 0.07	
ISSH	154.8 $\pm$ 3.98	191.5 $\pm$ 5.11	36.8 $\pm$ 2.68 ^b	12.6 $\pm$ 0.37 ^a	4.16 $\pm$ 0.14	
SSH	155.3 $\pm$ 3.57	195.5 $\pm$ 4.07	40.3 $\pm$ 3.87 ^{ab}	14.4 $\pm$ 0.81 ^b	4.13 $\pm$ 0.14	

Data are shown as Mean $\pm$ SEM of 3-4 rats. Values not sharing common superscript letters show significant difference at $p < 0.05$. ISSH, insoluble soybean hemicellulose; SSH, soluble soybean hemicellulose; b.w., body weight.

Fig. 4. Time course of serum cholesterol in rats subjected to sham operation or cecectomy. ○, Soybean hull ; ■, ISSH ; ●, SSH. Values not sharing common letters are significant difference at $p < 0.05$.

Fig. 5. Fecal acidic and neutral sterol concentrations of rats subjected to sham operation or cecectomy. The feces of each animal were collected at 3, 7, 14 day during experimental period. □, Soybean hull ; ▨, ISSH ; ▤, SSH. Values not sharing common letters are significant difference at $p < 0.05$.

Table 7. Total-cholesterol and bile acids concentrations in cecum.

	Total-cholesterol (mg/cecal content)	Bile acids
Soybean hull	5.76±1.95	3.67±0.75
ISSH	6.45±1.34	2.81±0.28
SSH	4.71±1.72	2.17±0.23

Data are shown as Mean±SEM of 3 rats. No significant difference was detected between each group. ISSH, insoluble soybean hemicellulose; SSH, soluble soybean hemicellulose.

SSHを摂取したSham-ope動物の糞中酸性ステロール濃度は3日目にISSH群に対し、7日目には大豆外皮群に対し有意に($p<0.05$)低く、また中性ステロールの排泄量は3日目にISSH群、7日目に他の群と比較して有意に($p<0.05$)低い排泄量を示した。一方盲腸切除を行った動物は酸性および中性ステロール排泄に食物繊維摂取の影響を認めなかった。また盲腸内容物に含まれる酸性および中性ステロール量は、各群間で有意な差を認めなかった(Table 7)。

これらの結果から盲腸は血清Chol濃度調節よりむしろ糞中ステロイド排泄の調節因子として作用した。

考 察

SSHは、実験食を摂取した7日目より血清Chol濃度低下作用を示すことが確認され、血清Chol濃度に及ぼす作用は、綾野らの報告⁹⁾と同様の傾向を示した。またSham-opeを行った動物より得られた結果も、実験1と同様に血清Chol濃度低下作用を観察したが、SSH摂取による特異的な低下作用は認められなかった。しかしこれらはいずれも糞中へのステロイド排泄亢進を伴わない作用であり、盲腸肥大を特徴とする形態学的変化をもたらした。

水溶性食物繊維の摂取は、盲腸肥大および盲腸内容物の増加を引き起こし²¹⁾、有用腸内細菌である*Bifidobacterium*属菌の増加を通じて腸内環境を改善することが知られている²²⁾。発酵によって生じる短鎖脂肪酸は、大腸からの水やナトリウム吸収促進、重炭酸イオン分泌促進、結腸運動の刺激、消化管上皮細胞の増殖促進、消化管膜血流の増加などさまざまな生理活性を有することが知られており²³⁾、体内に吸収された短鎖脂肪酸は血清脂質濃度の調節にも関与することが知られている。プロピオン酸は血清Chol濃度を低下し⁶⁾、*in vitro*においてはHMG-CoA reductaseの活性を低下する²⁴⁾²⁵⁾ことなどが報告され、生体内における脂質濃度調節機能を有した短鎖脂肪酸と考えられている。

従来より腸内微生物により生じる短鎖脂肪酸は、約6割が酢酸と考えられている³⁾。しかし今回観察された主な短鎖脂肪酸は*n*-プロピオン酸であった。酢酸濃度が低い原因として盲腸静脈へ速やかに取り込まれ盲腸内より消失することや揮発性のため抽出時における損失などが推察される。

短鎖脂肪酸による糞中ステロイド排泄に非依存性の脂質濃度低下作用の可能性が期待されるが、今回の実験ではSSH摂取は、短鎖脂肪酸の顕著な量的および質的差異を認めず、十分な腸内発酵が行われているとは考えにくい。したがってSSH摂取により産生する短鎖脂肪酸がステロイド排泄亢進に代わる強い血清Chol濃度調節因子になりうると考え難く、糞中ステロイド排泄の低下や盲腸重量の増加が顕著であることに着目すると消化管内および盲腸内への消化管内容物のプール量を考慮すべきと思われる。

食物繊維の摂取と糞中ステロイド排泄量の関係は、水溶性食物繊維の脂質濃度調節を説明する上で重要な因子とされている。今回の実験で盲腸が存在する動物で酸性および中性ステロールの排泄量低下と血清Chol濃度低下作用が確認され、従来提唱されてきたステロイド排泄亢進による血清脂質濃度調節作用¹⁾に相反する結果を得た。これに対し盲腸切除した動物はステロール排泄と血清Chol濃度低下に明確な関連性を認めなかった。このことより盲腸が血清Chol濃度低下に関与するよりむしろステロイド排泄に影響する因子と推察した。

一方、盲腸切除動物で観察された血清Chol濃度の低下傾向は、摂食期間の長期化に伴い大豆外皮からのSSH成分溶出による消化管内容物の吸収阻害や大腸部位における盲腸機能の代替化などが血清Chol濃度に影響したと考えた。

胆汁酸は腸肝循環の過程を通してChol異化に影響を及ぼし、体内Chol濃度の調節に重要な働きを行う因子として知られている。とくに、水溶性食物繊維摂取に伴う消化管内胆汁酸と体内脂質濃度調節の関連性が注目される。消化管内に存在する胆汁酸は、その約95%以上が小腸(とくに回腸)および盲腸内に存在し²⁶⁾、水溶性食物繊維(Guar gum)摂取時に小腸が胆汁酸の主要なプール部位であること²⁷⁾が明らかとなっている。近年Guar gumによる消化管内での胆汁酸のプールサイズの増加が胆汁酸代謝および血清脂質濃度に影響を及ぼすことも報告²⁸⁾されており、SSHの物理的性質を考慮すると、SSHは胆汁酸を含む消化管内容物の吸収阻害と排泄抑制作用を引き起こし、消化管内での胆汁酸プール量の増加をもたらすとともに食餌因子による血清Chol濃度上昇に抑制的な作用を示すのかもしれない。

今回われわれは盲腸の形態学的変化に着目し検討を

行ったが、盲腸内ステロイド濃度は先に述べた報告と必ずしも一致しなかった。しかし盲腸が糞中排泄ステロイド量に影響を及ぼすことを考慮すると消化管全体でのステロイドプールサイズと血清 Chol 濃度との関連性を検討する必要があると考えた。

SSH は、盲腸における腸内細菌による十分な発酵に先駆け、消化管内容物の吸収阻害と糞中排泄量の低下による消化管内貯留量増加が血清 Chol 濃度上昇を抑制する因子として作用する可能性が考えられた。さらに盲腸内容物の貯留量増加は腸内細菌の活性化を促し、分解生成物である短鎖脂肪酸を豊富に生じ、より低い血清 Chol 濃度を長期間維持するのかもしれない。

われわれは今後 SSH の脂質代謝に対する影響を調べるため、肝外組織および消化管内での Chol および胆汁酸分布、胆汁酸代謝に及ぼす影響と消化管内発酵によって生じる生成物の影響について検討を行う予定である。

要 約

SSH の血清 Chol 濃度低下作用を調べるため、ラットに大豆外皮および大豆外皮由来ヘミセルロースを与え、血清脂質濃度と糞中排泄ステロイド量および盲腸内容物ステロイド量に及ぼす影響を調べた。

盲腸が存在するラットにおいて SSH 摂取は、有意な盲腸重量の増加と盲腸内 pH 低下を示し、血清 Chol 濃度は 7 日目より有意に低い値で屠殺時まで低い値を維持した。一方糞中ステロイド排泄亢進は観察できなかった。また盲腸内ステロイド量は食物繊維の影響を確認できなかった。

盲腸切除術を行った動物において SSH 摂取は、血清 Chol 濃度に対し Sham-ope 群とほぼ同様の濃度を示したが、糞中ステロイド排泄に各群間で差を認めなかった。

以上の結果より盲腸は血清 Chol 濃度よりむしろ糞中排泄ステロイド量に影響することが明らかとなった。今後、肝外組織における Chol および胆汁酸プールサイズと血清脂質濃度の関連性が検討課題と思われる。

本研究に用いた大豆外皮は不二製油(株)のご好意により提供いただいた。また、研究に際し宮永隆一氏のご協力に感謝します。

文 献

- Kay RM (1982) Dietary fiber. *J Lipid Res* **23**: 221-42.
- Eastwood MA (1992) The physiological effect of dietary fiber: An update. *Annu Rev Nutr* **12**: 19-35.
- 光岡知足 (1997) 腸内微生物との相互作用: 食物繊維一基礎と臨床一, (土井邦紘, 辻 啓介編), p. 98-108. 朝倉書店, 東京.
- Hellendoorn EW (1978) Topics in Dietary Fiber Research (Spiller GA, ed.), p. 127. Plenum Press, New York.
- Van Soest PJ (1978) Dietary fiber: their definition and nutritional properties. *Am J Clin Nutr* **31**: S12-S20.
- Chen WJ, Anderson JW (1984) Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* **175**: 215-8.
- 福田亘博, 屋 宏典, 吉原稲穂, 町田真樹, 知念 功 (1989) バガスアルカリ抽出物の高コレステロール食摂取ラット血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 **63**, 1599-605.
- 永田純一, 屋 宏典, 戸田隆義, 知念 功, 大関正直 (1995) 大豆由来高食物繊維素材の物理的特性とラット脂質代謝へ及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 **48**, 133-9.
- 綾野雄幸, 太田富貴雄, 野崎郁夫, 江藤祐嘉合 (1986) ラットのコレステロール代謝に及ぼす大豆外皮 (soybean hull) ならびに大豆外皮から抽出, 分離したヘミセルロース標品の影響. 千葉大学園芸学部報告 **38**, 9-18.
- 青江誠一郎, 太田富貴雄, 綾野雄幸 (1989) ラットのコレステロール代謝に及ぼす米ヌカヘミセルロースの影響. 日本栄養・食糧学会誌 **42**, 55-61.
- Harper AE (1959) Amino acid balance and imbalance. Part 1. Dietary level of protein and amino acid imbalance. *J Nutr* **68**: 405-24.
- Mikami H, Ishida I (1983) Post-column fluorometric detection of reducing sugars in high performance liquid chromatography using arginine. *Bunseki Kagaku* **32**: E207-E210 (in Japanese).
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* **226**: 497-509.
- Sperry WM, Webb MJ (1950) Method for cholesterol determination. *Biol Chem* **187**: 97-106.
- Fletcher MJ (1968) A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chim Acta* **22**: 393-7.
- Rouser G, Siakotos AN, Fleisher S (1966) Quantitative analysis of phospholipids by thin-layer chromatography and phosphorus analysis of spots. *Lipids* **1**: 85-6.
- 猪川嗣朗 (1984) 胆汁酸定量法 b. 酵素法. 日本臨床 **42**, 1570-5.
- Sugano M, Ide T, Kohno M, Watanabe M, Cho YJ, Nagata Y (1983) Biliary and fecal steroid excretion in rats fed partially hydrogenated soybean oil. *Lipids* **18**: 186-92.
- 大桃定洋, 田中 治, 北本宏子 (1993) 高速液体クロマトグラフィーによるサイレージ中の有機酸の定量. 草地試研報 **48**, 51-6.
- Snedecor GW, Cochran WG (1967) Statistical Methods, 6th ed, p. 258. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Nishimura N, Nishikawa H, Kiriya S (1993) Ileorectostomy or cecectomy but not colectomy abolishes the plasma cholesterol-lowering effect of dietary beet fiber in rats. *J Nutr* **123**: 1260-9.
- 青江誠一郎, 太田富貴雄, 綾野雄幸 (1988) ラットの腸内細菌叢に及ぼす水溶性食物繊維の影響. 日本栄養・食糧学会誌 **41**, 203-11.
- 海老原清 (1992) 短鎖脂肪酸の生理作用 食物繊維の

- 生理作用解明に新たな視点. 化学と生物 **29**, 697-8.
- 24) Nishina PM, Freedland RA (1990) Effects of propionate on lipid biosynthesis in isolated rat hepatocytes. *J Nutr* **120** : 668-73.
- 25) Wright RS, Anderson JW, Bridges SR (1990) Propionate inhibits hepatocyte lipid synthesis. *Proc Soc Exp Biol Med* **195** : 26-9.
- 26) Ide T, Horii M (1987) A simple method for the extraction and determination of non-conjugated and conjugated luminal bile acids in rats. *Agric Biol Chem* **51** : 3155-7.
- 27) Ebihara K, Schneeman BO (1989) Interaction bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *J Nutr* **119** : 1100-6.
- 28) Moundras C, Behr SR, Remesy C, Demigne C (1997) Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. *J Nutr* **127** : 1068-76.

(1997 年 11 月 4 日受理)