

白ネズミの血清および肝コレステロールに およぼす「そば」粉の影響

飯塚義富*・村上哲男**

Effect of Buckwheat Flour on Serum and Liver Cholesterol in Rat

Yoshitomi IIZUKA and Tetsuo MURAKAMI

Synopsis

The effect of the buckwheat flour on cholesterol content of serum and liver was examined using rats. Twenty-eight male Wister strain rats weighing 120–130 g were divided into 4 groups (7 rats/group) and fed on the following diets for 5 weeks: the cholesterol free basal diet, 20% buckwheat flour basal diet, the hypercholesterolemic basal diet supplemented with 1% cholesterol and 0.25% bile salts, and the diet containing 20% buckwheat flour replacing sucrose in the hypercholesterolemic basal diet. Serum and liver cholesterol was determined by the Zak-Henly method.

For the rats fed on basal diet of 20% buckwheat flour, the serum cholesterol level was reduced but no significant effect was observed with liver cholesterol.

Addition of 20% buckwheat flour to the cholesterol containing diet prevented the increase of cholesterol level in both serum and liver, while the rats, fed solely on the cholesterol containing diet, apparently suffered from hypercholesterolemia.

Significant difference ($p=0.05$) in the body weight existed between the rats fed, for 5 weeks, on 20% buckwheat flour basal diet and cholesterol free basal diet.

I 緒 言

高コレステロール血症と動脈硬化との関係が明らかにされて以来、血中コレステロール量を減少させれば、動脈硬化症を防ぐことが出来るのではなかろうかと考えられ、血中コレステロール量を低下させる物質の検索がなされている。PETERSONは鶏の餌に大豆のステロールとコレステロールを混ぜると、血清コレステロール、肝臓コレステロールがいずれも低下すると報告しているし、また種々の動物に植物性ステロールを与えて同じような結果が多くの研究によって得られている¹⁾。また、蔗糖は血清コレステロールを上昇させ、でんぷん等の多糖類は血清コレステロールを低下させる効果があると報告され

ている^{2,3)}。

著者らは、日本古来の「そば」について研究を行なっているが、「そば」を食べると血圧が下がるなどと昔から言われているが、それは「そば」の含有成分であるルチンの薬理作用によるものであることがわかっている。高瀬ら⁴⁾は大麥に血しょうコレステロールの低下効果があることを報告している。また和田ら⁵⁾は、「そば」のタンパク質がコレステロール代謝に関しては影響がないと報告しているが、「そば」は他の穀類とちがってトリプトファンやリジン含量が多く、それに多数の酵素が含まれていて、高血圧と動脈硬化に密接な関係がある以上、「そば」摂取によって、コレステロール代謝に好影響をおよ

*食品栄養学科生物化学研究室 (Lab. of Biochemistry, Dept. of Food and Nutrition, Kinki Univ., Higashi-Osaka, Osaka 577, Japan)

**食品科学研究所 (Research Institute for Food Science, Kinki Univ., Higashi-Osaka, Osaka 577, Japan.)

ぼすのではなからうかと思ひ白ネズミに「そば」粉、「そば」粉とコレステロールを同時に与えたところ、血清、肝コレステロールの低下あるいは、上昇の抑制が認められたので報告する。

II 実験方法

実験動物および飼料 体重120-130gのWister系雄白ネズミを1群7匹として、Table 1の飼料組成で5週間自由摂取させ殺す12時間前に飼料投与をやめた。

使用した「そば」種子は、綿利製粉株式会社より提供してもらった昭和47年度収穫の北海道産のものでそれを製粉したものである。

Table 1. Composition of diets.

Diet component	Cholesterol free (%)	Buckwheat flour (%)	Cholesterol added (%)	Buckwheat f. + Chol. (%)
Sucrose	64.76	44.76	63.51	43.51
Casein	22	22	22	22
Salt mixture	4	4	4	4
Cellfleur	3	3	3	3
Choline chloride	0.24	0.24	0.24	0.24
Vitamin* mixture	1	1	1	1
Soy bean oil	5	5	5	5
Cholesterol	-	-	1	1
Bile salts	-	-	0.25	0.25
Buckwheat flour	-	20	-	20

* The vitamin had the following composition: panvitan powder 80g; casein 16.6 g; inositol 1 g; P-amino benzoic acid 1 g; thiamin hydrochloride 420mg; α -tocopherol 920mg; biotin 10mg; menadion 50mg.

コレステロールの定量^{6,7,8)} 試験動物をエーテル麻酔下で頸動脈の切断により採血し、さらに肝臓を摘出した。

採血した血液は、20分間静置後、4,000 r. p. m., 15分間遠心沈殿を行ない、その上清を試料とし、また、摘出した肝臓はホモゲナイズしたものを試料とした。コレステロールの定量は下記に示すZAK-HENLY変法に従った。

1. 抽出 10ml容のメスフラスコに6mlの脂肪溶剤(95%エタノール:エチルエーテル, 3:1)をとり、これに血清0.5ml(磨砕した組織は50~100mg)を加えてよく分散させた後60℃の湯浴中で30分間加温抽出を行う(その間に脂肪溶剤1mlを1回追加して攪拌する)。その後室温迄放冷し、冷却後さらに脂肪溶剤を加えて正確に10mlとし、よく混和して、乾燥口紙(No. 5A)で口過する。

2. 分離精製 口液2mlを中試験管にとり湯浴上で乾燥させて総コレステロール定量用とする。次に、口液2mlを沈殿管にとり、これにdigitonin溶液(0.5g/95%エタノール(d))1mlを加えよく混和して温暗所(30℃の湯浴中)で一夜放置する。翌日4,000 r. p. m., 10分間遠心沈殿し、上澄をすて、洗浄液(アセトン:エチルエーテル, 1:2)で沈澱を洗い再び遠心沈殿する。この上澄をすて再び、洗浄をくり返す。最後に沈澱を湯浴上で乾燥させて、洗浄液を除き遊離型コレステロール定量用とする。

3. 定量 上記の沈澱に塩化鉄酢酸試薬(塩化鉄をコレステロール定量用氷酢酸に溶かす。4×10⁻²M.を保存液とし、それを氷酢酸で10倍に希釈(4×10⁻³M.)したものを使用液とする。)を8ml加えて、よく攪拌して溶かし口過(No.5A)する。口液6mlをよく乾燥した発色管にとりこれに硫酸(特級)4mlを重層するように静かに加え、直ちに1,000 r. p. m., 1分間激しく混和する。室温で20分以上放置して自然放冷させ、小泡が消えたのち分光光度計(UV-Vis Spectrophotometer Hitachi Perkin Elmer)で盲検液を対照として、560m μ の波長で測光する。同時にコレステロール標準液(200mg/dlコレステロール定量用氷酢酸)について実施する。

4. 計算 400mg/dl附近までは、ほとんどBEERの法則に従うから次式によって計算する。

$$\frac{E_x}{E_s} \times 200 = \text{mg/dl cholesterol}$$

E_x: 検体における吸光度

E_s: 標準液(200mg/dl)における吸光度

III 実験結果並びに考察

体重と肝臓重量 5週間の飼育による体重と肝臓重量の変化をFig. 1, Table 2に示した。

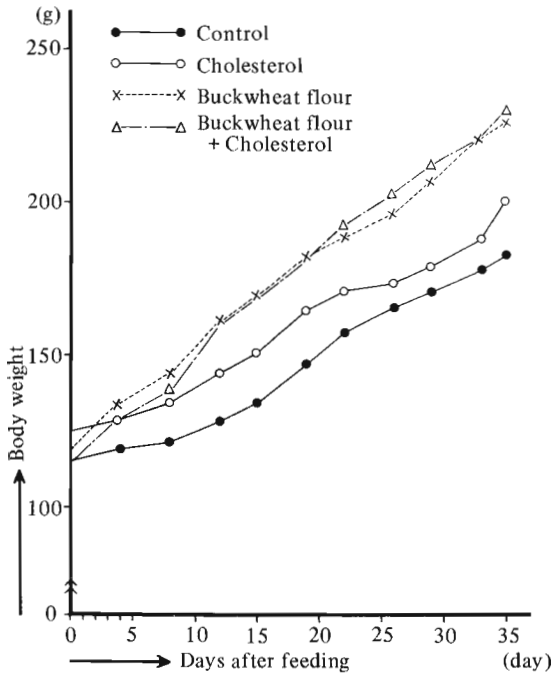


Fig.1. The changes of body weight for 35 day-feeding.

「そば」粉の20%添加群では実験開始2週間目で30g、5週間後では40gと体重増加がみられる。これは、飼料の糖質を「そば」粉におきかえたことも一因している。コレステロールの投与した群では、体重に対する肝臓重量の割合が増加しているが、これは肝脂量の増加によるものと思われる。

血清および肝コレステロール値におよぼす「そば」粉の影響 5週間にわたり「そば」粉を投与し、血清コレステロールレベルにおよぼす影響を検討した結果をTable 3に示した。基本飼料群では総コレステロールは、 $113.2 \pm 20.5 \text{ mg/dl}$ であったが、「そば」粉を添加した場合 $92.9 \pm 3.7 \text{ mg/dl}$ とコレステロールレベルが有意的に低下している。1%コレステロール添加により血清コレステロール値が $217.3 \pm 52.4 \text{ mg/dl}$ と上昇しているが、「そば」粉を同時に投与したとき、 $126.2 \pm 20.9 \text{ mg/dl}$ とコレステロールレベルの上昇が抑制され有意差が認められた。また、遊離型コレステロールについても上昇の抑制がみられた。Table 4に肝コレステロール値の結果を示した。総コレステロール値は、基本飼料群では、 $6.6 \pm 0.6 \text{ mg/g}$ であり、「そば」粉添加群で $4.6 \pm 0.8 \text{ mg/g}$ と、わずかにコレステロールレベルが低下している。1%のコレステロールを添加した高コレステロール群のレベルは、 $44.0 \pm 7.4 \text{ mg/g}$ であるのに対し、「そば」粉添加群では $26.5 \pm 3.6 \text{ mg/g}$ であり、あきらかな抗コレステロール効果がみられた。

Table 2. The changes of body weight and liver weight.

exp.	groups	No. of rats	initial body weight (g)	gain in weight after 5 weeks (g)	liver weight (g)	liver wt. / body wt. (%)
1	cholesterol free	7	116.4 ± 8.3	65.7 ± 6.1	5.5 ± 0.4	3.0 ± 0.2
2	buckwheat flour	7	120.2 ± 16.5	104.7 ± 17.0	7.7 ± 0.8	3.4 ± 0.2
3	cholesterol added	7	125.3 ± 10.0	74.5 ± 11.5	8.1 ± 0.7	4.1 ± 0.4
4	buckwheat flour + cholesterol	7	114.7 ± 14.9	118.5 ± 26.4	9.7 ± 1.1	4.2 ± 0.4

(mean \pm standard error)

Table 3. Effect of buckwheat flour on serum cholesterol levels.

exp	groups	No. of rats	serum cholesterol (mg/dl)		
			total	free	ester
1	cholesterol free	7	113.2±20.5*	33.6±4.5	79.6±16.8
2	buckwheat flour	7	92.9± 3.7	32.3±4.5	60.5±16.1
3	cholesterol added	7	217.3±52.4	29.8±6.0	187.5±47.5
4	buckwheat flour + cholesterol	7	126.2±20.9	22.3±2.3	103.9±19.6

* mean ± standard error

Significant difference (P = 0.05)

(Total) exp.3 & exp.4

(Free) exp.3 & exp.4

(Ester) exp.3 & exp.4

Table 4. Effect of buckwheat flour on liver cholesterol levels.

exp.	groups	No. of rats	liver cholesterol (mg/g)		
			total	free	ester
1	cholesterol free	7	6.6±0.6*	2.1±0.2	4.5±0.6
2	buckwheat flour	7	4.6±0.8	3.0±0.3	1.7±0.8
3	cholesterol added	7	44.0±7.4	6.2±2.1	37.8±7.6
4	buckwheat flour + cholesterol	7	26.5±3.6	3.4±0.3	23.0±3.4

* mean ± standard error

Signification difference (P = 0.05)

(Total) exp.3 & exp.4

(Free) exp.3 & exp.4

(Ester) exp.3 & exp.4

以上のような結果を得たが、植物性の脂肪摂取ではコレステロール値を低下させることが知られており、この低下作用が脂肪中の不飽和脂肪酸とくに高度不飽和脂肪酸によるらしいことが明らかになってきたが、前述のように、「そば」は他の穀類とちがって数多くの特異成分が含まれており、「そば」の油脂含量(2.9%でありそのほとんどがリノール酸とオレイン酸である)のみによるものとは考えられずむしろ「そば」中の各種成分の相互作用により低下するのではなからうかと考えられる。高瀬ら⁴⁾も脱脂した大麦でも血しょうコレステロールの低下効果があると報告している。いずれにしてもコレステロールの吸収を左右するものは腸粘膜のコレステロールエステラーゼだけではなく、他の因子も関与す

ると考えられており、これらの各因子が何らかの型でコレステロール代謝に影響をおよぼすものと推察するのであるが「そば」成分がコレステロールの吸収阻害あるいは、排泄促進として作用するかについては、現段階ではわからない。

IV 要 約

白ネズミの血清、肝コレステロール値におよぼす「そば」粉の影響についてしらべた。

実験は、120—130gのWister系雄白ネズミを用いて20%の「そば」粉添加飼料で5週間飼育した。コレステロールは、ZAK-HENLY変法で定量した。

1. 「そば」粉を20%添加した飼料群で、血清コレステロール値は低下したが、肝コレステロール値に有意な低下が認められなかった。

2. 20%の「そば」粉を含コレステロール飼料群に添加して飼育した場合、血清、肝臓ともにコレステロール値の上昇抑制効果がみられた。

3. 体重の増加においても、「そば」粉添加群に有意差があった。

(本論文の要旨は、第11回日本栄養・食糧学会近畿支部会において口演発表した。)

文 献

- 1) アンリ・パシェコ：コレステロール，p. 126, 白水社 (1964)。
 - 2) A. KEYS, J. T. ANDERSON, and F. GRANDE: *J. Nutr.*, **70**, 257~266 (1960)。
 - 3) H. W. STAUB, and R. J. R. THIENEN: *J. Nutr.*, **95**, 633~638 (1968)。
 - 4) 高瀬幸子・栗原長代・道喜美代：栄養と食糧，**23**, 426~429 (1970)。
 - 5) 和田せつ・有山 恒：栄養と食糧，**19**, 27—31 (1966)。
 - 6) 日本分析化学会編：分析ライブラリー，**3**, p. 57 (1966)。
 - 7) B. ZAK: *Am. J. clin. Path.*, **27**, 583~588 (1957)。
 - 8) A. A. HENLY: *Analyst*, **82**, 286~289 (1957)。
- (昭和48年1月19日受理)