

ペプシン処理分離大豆たん白質食の ラット肝機能および胆汁酸濃度への影響

土井裕司・米林 眞・伊吹文男・金森正雄

Effects of dietary pepsin-treated soybean protein isolate
on rat liver function and bile acids concentration

HIROSHI DOI, MAKOTO YONEBAYASHI, FUMIO IBUKI and MASAO KANAMORI

要旨：植物性たん白質（主に大豆たん白質）は動物性たん白質（主にカゼイン）に比べて、血清コレステロール濃度低下作用を有していることが知られている。著者らは先に、分離大豆たん白質をペプシンで限定水解することによって、その作用を強めることを発見した。大豆たん白質の血清コレステロール濃度低下作用メカニズムを解明するため、コレステロール代謝を考慮すると、肝臓および小腸の機能を検討することが重要である。

本研究は、分離大豆たん白質食、ペプシン処理分離大豆たん白質食および市販固型食を用いてラットを飼育し、食餌たん白質のラット肝機能におよぼす影響を比較検討し、更に、肝臓および小腸での胆汁酸濃度、血清遊離アミノ酸パターンを測定した。

肝機能を推定するため、血清中の Glutamate Oxaloacetate Transaminase, Glutamate Pyruvate Transaminase, Lactate Dehydrogenase, Leucine Aminopeptidase, Alkaline Phosphatase の活性を測定した。その結果、供試食餌たん白質では肝細胞の破壊や胆汁流出障害は観察されなかった。また、肝内胆汁酸濃度と血清コレステロール濃度とは比例していたが、小腸胆汁酸濃度には相関がなかった。すなわち、血清コレステロール濃度調節機構の解明には、肝機能を更に検討することの必要性が示された。また、トレオニンが、コレステロール代謝と最も関連深いアミノ酸であることが明らかにされた。

緒 言

高コレステロール血症がアテローム性動脈硬化と密接な関係を持っていることが知られ¹⁾、食餌組成の血清コレステロール (CHOL) 濃度におよぼす影響が研究されている²⁾。Carroll らは、ウサギを用いて種々の食餌たん白質の血漿 CHOL 濃度との関係を検討し、植物性たん白質が動物性たん白質に比べて血漿 CHOL 濃度を低下させることを報告している³⁾。カゼインをたん白質源とする飼料から大豆たん白質飼料に置き換えると、ラットでも血清 CHOL 濃度は低下する⁴⁻⁵⁾。

マウス、サルおよびヒトでも大豆たん白質の血清 CHOL 濃度低下作用は報告されている⁷⁻¹⁰⁾。従って、動物性たん白質は、植物性たん白質に比べて、高コレステロール血症、更にはアテローム性動脈硬化症を誘発し易いようである^{11,12)}。

著者らの研究室においても、分離大豆たん白質を用いて、その食品化学的、栄養学的研究を行い、分離大豆たん白質はカゼイン食に比べてラットの血清 CHOL 濃度を低下させることを確認している¹³⁻¹⁶⁾。

しかしながら、食餌たん白質が血清 CHOL 濃度を変動させる機構については、まだ解明されてい

い²⁾。CHOL は、食餌から摂取される以外には、肝臓でその大部分が生合成されるので、血清 CHOL 濃度は肝機能と関連していることが考えられる。また、CHOL は胆汁酸として代謝され、腸肝循環を行うことによってそのレベルが調節されている¹⁷⁾。従って、組織中または血清中の胆汁酸濃度は、血清 CHOL 濃度に影響されると考えられる。更に、血清中の遊離アミノ酸組成やたん白質組成も、血清 CHOL 濃度に関連している可能性がある。

そこで本研究では、分離大豆たん白質の血清 CHOL 濃度低下作用に着目し、その機構解明を目指して、アミノ酸組成を同じくする分離大豆たん白質のペプシン水解物をたん白源とする飼料を調製し、ラット飼育実験を行ったもので、肝機能を反映する各種血清酵素活性、肝および小腸の胆汁酸の定量および血清遊離アミノ酸組成を検討した。

実験方法および材料

1 実験動物および飼料

実験動物としては、ウイスター系雄ラットの初体重約 55 g のものを、一群 8 匹として個別に金網かごで飼育した。飼育室は気温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ で、午前 9 時より午後 9 時まで照灯した。食餌組成を Table I に示す。食餌たん白質源としては、分離大豆たん白質（以下 SPI と略す、不二製油 KK 製フジプロ R）を用いた。また、SPI のペプシン加水分解物をたん白質源とした一群も策定した。SPI のペプシンによる加水分解は、水 1.5 l に SPI 100 g を懸濁させ、酵素 : SPI = 1 : 100 (重量比)、pH 1.5 で、 37°C 1 時間行った。反応終了後、5 N NaOH にて pH を 5 に上げ、凍結乾燥した。対照群には、市販固型食（オリエンタル酵母工業 KK 製 MF）を与えた。水および食餌は自由に摂取させた。実験開始後 10 日目、17 日目、24 日目には、ラットの尾より採血し、31 日目には断首により採

Table I. Composition of Diet

component	amount (%)
protein*	20
sucrose	63
cellulose powder	5
soybean oil	7
mineral mixture**	4
vitamin mixture**	1

* protein used: soybean protein isolate, hydrolyzed soybean protein isolate by pepsin,

** : product of Oriental Yeast Industry Co.

血し、開腹、肝臓および小腸を取り出し秤量した。イニシャル群は、1 日間水だけ与え絶食させ、翌日、断首により採血した。

2 分析方法

血清は、全血を低温室 (4°C) で 1 夜放置後、3000 rpm、15 分間遠心分離することにより得られた。

血清酵素としては、Glutamate-Oxaloacetate Transaminase (GOT), Glutamate-Pyruvate Transaminase (GPT), Alkaline Phosphatase (ALP), Leucine Aminopeptidase (LAP), Lactate Dehydrogenase (LDH) を選び、各々の酵素活性を日水製薬 KK 製測定キットを用いて測定した。酵素活性測定は、採血日の翌日または翌々日に行い、測定までは血清を凍結 (-80°C) 保存した。

胆汁酸の定量は、文献を参照にして蛍光法により行った¹⁸⁻²⁰⁾ (Scheme 1)。

血清中遊離アミノ酸の定量は、血清を希釈液 (IPH-DL: 0.17 M β -チオジグリコールを含む 0.2 M クエン酸ナトリウム緩衝液 pH 2.2) にて 15 倍希釈後、日立アミノ酸分析機 KLA-5 型にて行った。

実験結果

1 ラットの成長曲線および肝臓、小腸の重量

SPI 食、ペプシン水解 SPI 食 (Hyd-SPI 食) および市販固型食で飼育されたラットの成長曲線を Fig. 1 に示す。SPI 食に比べ、Hyd-SPI 食ではラットの

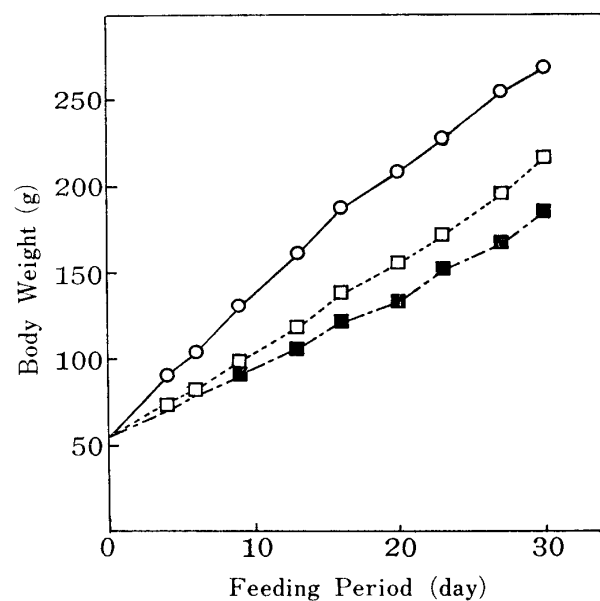


Fig. 1. Growth Curves of Rats Fed Various Protein Diets

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

Scheme 1. Determination of Bile Acids in Tissue

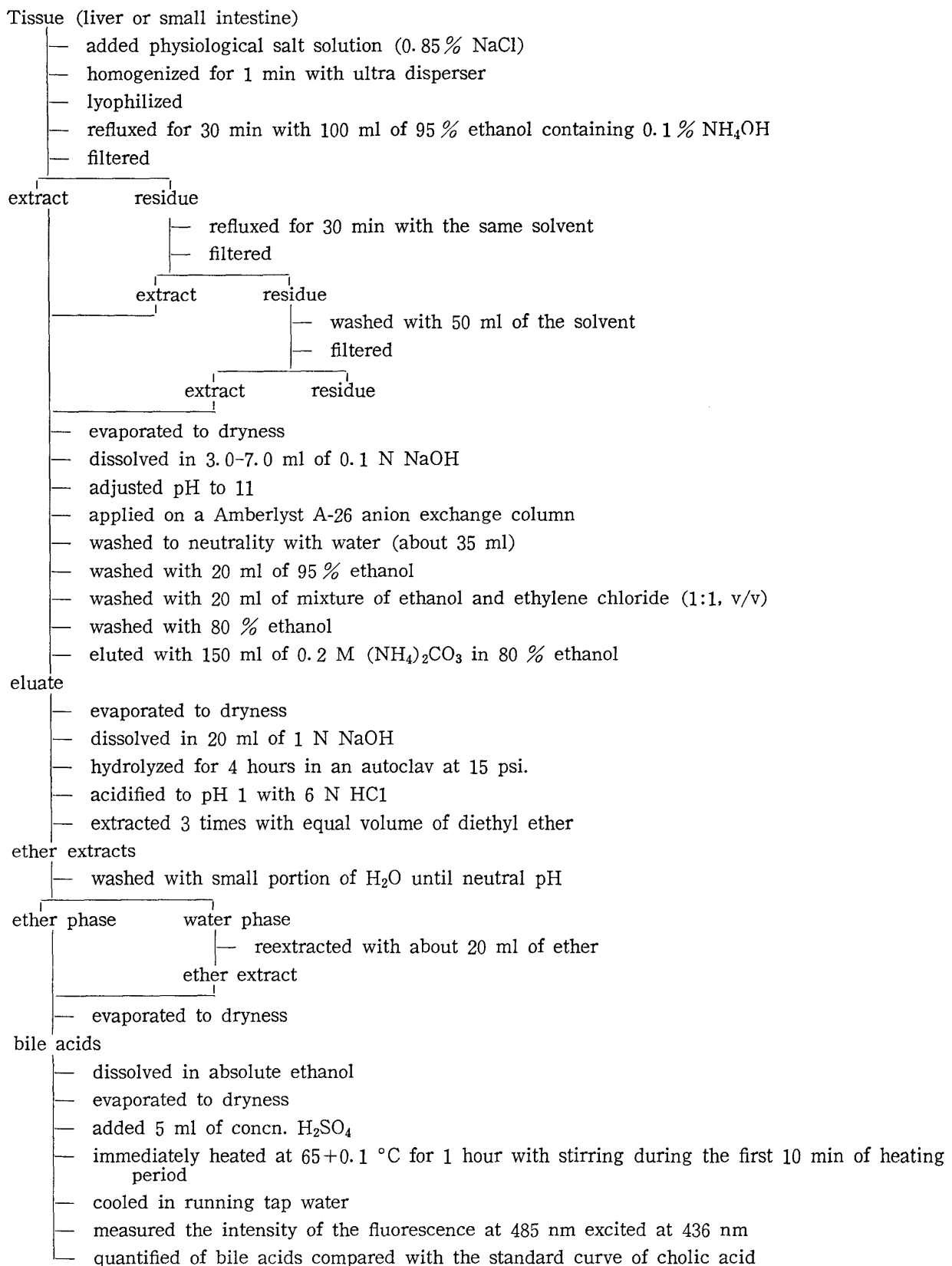


Table II. Body Weight Gain and Food Intake in Rats Fed Various Protein Diets

dietary protein	initial body weight (g)	final body weight (g)	weight gain (g)	food intake (g/day)
commercial	56.4 ± 1.9	272.9 ± 9.5	215.0 ± 9.3	19.6 ± 0.65
soybean protein	55.5 ± 1.8	211.4 ± 8.3	155.8 ± 6.8	14.1 ± 0.56
hydrolyzed soybean protein	55.1 ± 1.9	186.8 ± 3.83	131.7 ± 3.6	13.1 ± 0.38

Values are mean ± standard error.

Table III. Liver and Small Intestine Weight in Rats Fed Various Protein Diets for 31 Days

dietary protein	liver weight (g/100 g body weight)	small intestine weight (g/100 g body weight)
commercial	3.95 ± 0.18	4.33 ± 0.34
soybean protein	4.41 ± 0.25	4.55 ± 0.48
hydrolyzed soybean protein	4.94 ± 0.19	4.61 ± 0.15
initial	3.87 ± 0.13	6.23 ± 0.34

Values are mean ± standard error.

成長が若干劣った。31日間の飼育で、食餌摂取量がSPI食で14.1 g/dayであったのに対し、Hyd-SPI食では13.1 g/dayであり、SPI食では155.8 gの、Hyd-SPI食では131.7 gの体重増加が観察された (Table II)。食餌たん白質源のペプシン処理によって、摂食量および体重増加量が未処理に比べて減少したが、この結果は、以前、カゼインおよびSPIを用いて著者らが行った実験結果と一致していた^{14,21)}。また、市販固型食が極めて良い成長曲線を与えることも同様であった。

肝臓および小腸の重量をTable IIIに示す。体重100 g当りの肝重量は、SPI食で4.41 g、Hyd-SPI食で4.94 g、市販固型食で3.95 gであり、体重増加量の大きいものの方が小さかった。また、小腸重量は、各群間でほとんど差がなく、体重100 g当り4.33~4.61 gであった。これら肝臓や小腸には肉眼観察では著変は認められず、得られた体重当り重量も平均的なものであったと考えている。

2 血清酵素活性

食餌たん白質としてのカゼインを大豆たん白質に置き換えると血清CHOL濃度が低下する³⁾。著者らも前報においてその事実を確認するとともに、たん白質をペプシン処理した後投与すると、血清CHOL濃度が低下することを報告した^{14,21)}。しかしながら、植物性たん白質や水解たん白質の血清CHOL濃度低下作用メカニズムについては、未だ解明されていない。

CHOL代謝と肝臓とは極めて深い関係のあること

ろから、肝機能と血清CHOL濃度との相関を明らかにすべく、肝機能を反映する種々の血清酵素の活性を測定することにした。

2-a 血清 Glutamate-Oxaloacetate Transaminase, Glutamate-Pyruvate Transaminase, Lactate Dehydrogenase の活性

トランスアミナーゼは、アミノ酸のアミノ基転移を触媒する酵素で、多くの組織に豊富に存在しており、特に、GOTは心筋、肝、骨格筋、腎に多く含まれ、GPTは肝、腎に多量に含まれている。LDHも同様に広い分布を持っているが、特に心臓、肝、筋肉、腎に多く存在している。従って、これらGOT、GPT、LDHは、各臓器や組織の病変に伴って血中に逸脱し、血清中での活性増加はこれら組織の変性、破壊を示唆している。

Fig. 2は、各たん白質食で飼育されたラットの血清GOT活性の経時変化を示している。イニシャル群のGOT活性は平均192.1 Karmen unitであり、実験群では、市販固型食で131.6~189.4 Karmen unit、SPI食やHyd-SPI食ではほとんど差がなく、125.6~142.5 Karmen unitであった。これらの値は文献値²²⁾に比べ市販固型食群で若干高かったが、全体としては正常値の範囲にあったと考えている。また、GPT活性は、各実験群ともよく似た値を示し、ほとんど同じ経時的変動が観察され、著変は認められなかった (Fig. 3)。

ラット血清のLDH活性については、人を含む他の

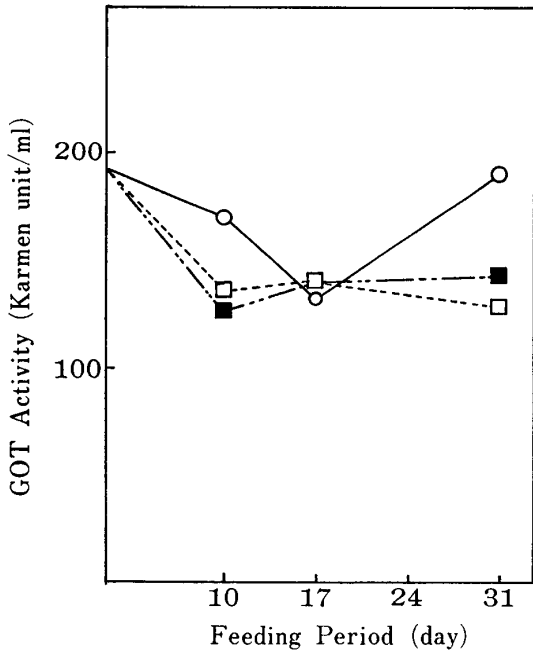


Fig. 2. Changes of Serum Glutamate-Oxaloacetate Transaminase Activity in Rats Fed Various Protein Diets

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

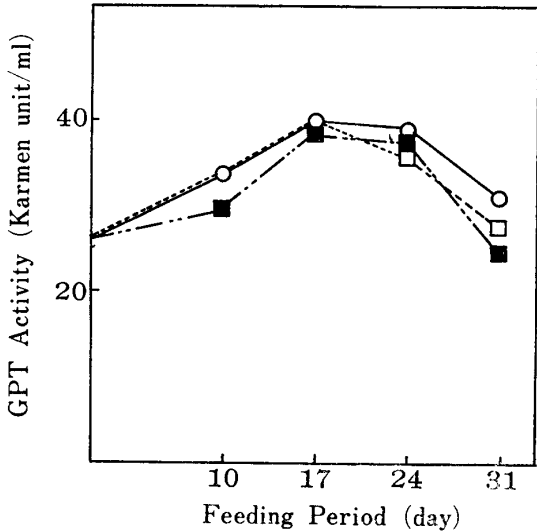


Fig. 3. Changes of Serum Glutamate-Pyruvate Transaminase Activity in Rats Fed Various Protein Diets.

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

動物種に比べ非常に高く、またバラツキも大であり、臓器の障害の程度との相関が必ずしも明確でないとの指摘もある²³⁾が、より多くの知見を得るため、本実験で採りあげた。結果は Fig. 4 に示されている。実験

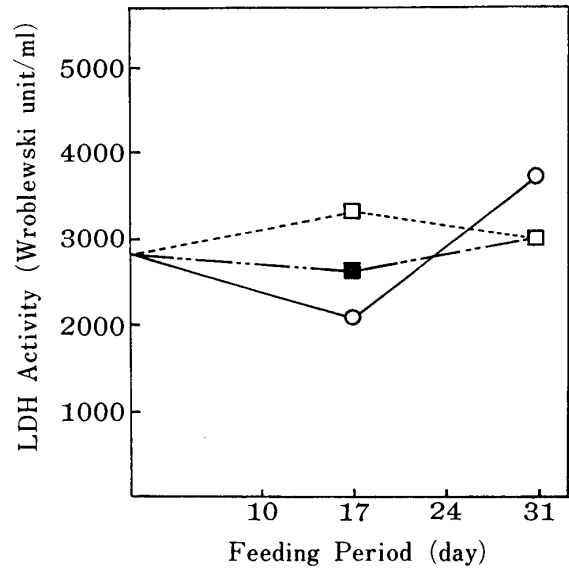


Fig. 4. Changes of Serum Lactate Dehydrogenase Activity in Rats Fed Various Protein Diets.

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

期間を通じて、血清 LDH 活性はあまり変化がなく、イニシャル群とほぼ同じ値を示した。

肝臓の細胞破壊を反映する血清酵素として採りあげた GOT, GPT, LDH については、実験期間中に小さな山 (GPT) または小さな谷 (GOT) あるいはプラトー (LDH) という曲線を描く活性変動が観察されたが、いずれも大きなものではなかった。また、食餌たん白質としてカゼインを含む市販固型食群が、SPI 食群や Hyd-SPI 食群に比べて若干高値を示したが、肝細胞破壊を示すほど高い値ではなく、正常値の範囲内であったと考えている。

2-b 血清 Leucine Aminopeptidase, Alkaline Phosphatase の活性

血清中の LAP や ALP 活性の増加は、胆管閉塞などによる胆汁流出障害を示唆し、これらの血清酵素活性測定は、肝・胆道疾患の診断に有意義であるといわれる。

Fig. 5 は、各たん白質食で飼育されたラットの血清 LAP 活性の経時変化を示したものである。本酵素の活性はイニシャル群で 113.0 ± 5.0 unit/l であったものが、飼育開始後31日目には、 63.8 ± 2.9 unit/l (市販固型食群) から 76.6 ± 6.3 unit/l (Hyd-SPI 食群) へと徐々に小さくなった。これらの値は、山口らが SPI を与えられたラットの血清 LAP 活性測定で報告している値よりも低かった²⁴⁾。各期とも、血清 LAP 活性はいずれのたん白質食群間でも極めて良く似た値

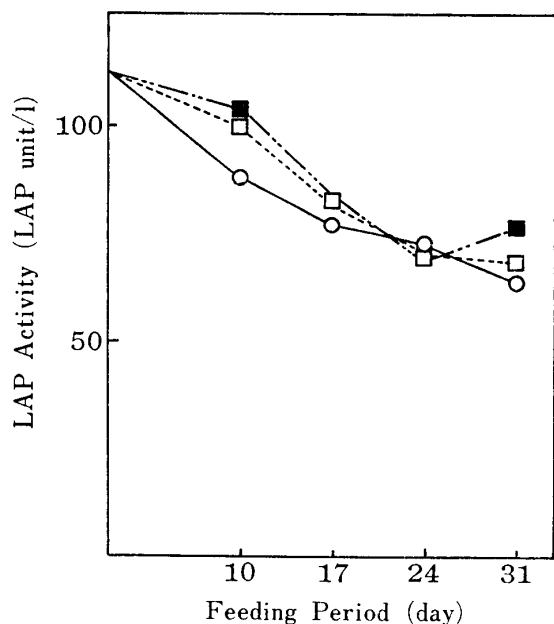


Fig. 5. Changes of Leucine Aminopeptidase Activity in Rats Fed Various Protein Diets.

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

を示した。また、LAP 活性においてのみ、市販固型食群の値が他の群のそれより一般的に小さくなっていた。

ALP 活性の変動は Fig. 6 に示されている。ここでも食餌たん白質間に差は認められず、全般的には飼育期間の経過とともに、ラット血清 ALP 活性は低下する傾向にあり、LAP 活性の変動と良く似た傾向を示した。測定された2種の血清酵素活性の経時変化からは、いずれの食餌群にも胆汁流出障害は認められなかった。

3 肝臓および小腸の胆汁酸濃度

CHOL が肝臓で異化されて1次胆汁酸が生成される。この CHOL の分解は胆汁酸の肝内濃度によって規制されると同時に、胆汁酸の腸肝循環（すなわち、胆汁酸が腸管から吸収され、門脈および体循環をへて

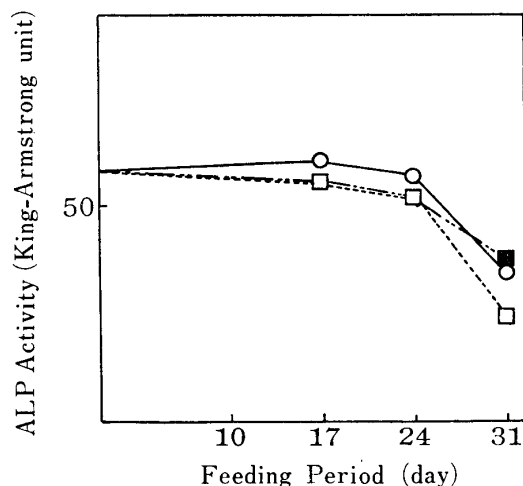


Fig. 6. Changes of Alkaline Phosphatase Activity in Rats Fed Various Protein Diets.

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

再び肝に戻ること)によって、相互の量が補正されている¹⁷⁾。そこで、肝臓および小腸の胆汁酸濃度が定量された。Table IV は、その結果を示している。肝内での胆汁酸濃度は、SPI 食群で 0.449 ± 0.018 mg/g, Hyd-SPI 食群で 0.270 ± 0.015 mg/g, 市販固型食群で 0.131 ± 0.008 mg/g であった。これらの値は明らかに有意差があり、しかも、血清 CHOL 濃度^{14,21)}と比例していた。また、小腸での胆汁酸濃度は、 0.96 ± 0.035 mg/g (Hyd-SPI 食群) から、 1.48 ± 0.214 mg/g (市販固型食群) に分布しており、Hyd-SPI 食群で明らかに他の群よりも低かった。菅野らは、カゼイン食および SPI 食ラットの肝臓灌流実験を行い、胆汁中の胆汁酸を定量した結果、両者に差が認められなかったと報告している²⁵⁾。すなわち、本実験結果とも併せ考えると、小腸や胆汁中での胆汁酸濃度と血清 CHOL 濃度との間には相関関係はないらしい。

4 血清遊離アミノ酸パターン

飼料中の CHOL がアミノ酸代謝に影響をおよぼしている可能性を菅野らは示唆している²⁶⁾。このこと

Table IV. Bile Acids Concentration in Tissues in Rats Fed Various Protein Diets for 31 Days

dietary protein	in liver (mg/g tissue)	in small intestine (mg/g tissue)
commercial	0.131 ± 0.008	1.48 ± 0.214
soybean protein	0.449 ± 0.018	1.37 ± 0.119
hydrolyzed soybean protein	0.270 ± 0.015	0.96 ± 0.035
initial	0.241 ± 0.057	0.91 ± 0.119

Values are mean + standard error.

は、血清 CHOL 濃度が食餌 CHOL に影響されることを考慮すると、血清 CHOL 濃度を变化させる食餌たん白質が血清遊離アミノ酸パターンに影響をおよぼすことの可能性を示唆するものである。また、ある特定のアミノ酸が CHOL 代謝に影響をおよぼしている可能性も報告されている²⁾。また、血清中のアミノ酸組成から飼料たん白質の栄養価を見積ることも可能とする考えもある。これらのことは、本実験において血清遊離アミノ酸パターンの比較を考慮させた。

Fig. 7 は、飼育開始後31日目の各たん白質食群の血清アミノグラムを示している。本実験結果から、食餌たん白質の影響を受けていると考えられる血清遊離アミノ酸としては、トレオニン、グルタミン酸、プロリンがあげられる。すなわち、これらのアミノ酸の血清中での濃度は、血清 CHOL 濃度と反比例していた。特に、トレオニンはそれが顕著であった。また、グリシン濃度は、実験期間を通じて市販固型食餌の方が高かった。大豆たん白質中にはカゼインの約2倍の濃度でグリシンは存在しているのであるが、血清中での遊離型で存在するグリシン濃度は、食餌たん白質中での濃度と逆になっていた。

Nagata ら²⁷⁾も、ラットに CHOL 添加食を与えて血清 CHOL 濃度と血清遊離アミノ酸パターンとの相関を検討し、プロリン、ヒスチジン、メチオニン、アルギニンに変動を認めた。特にトレオニンの変動が顕

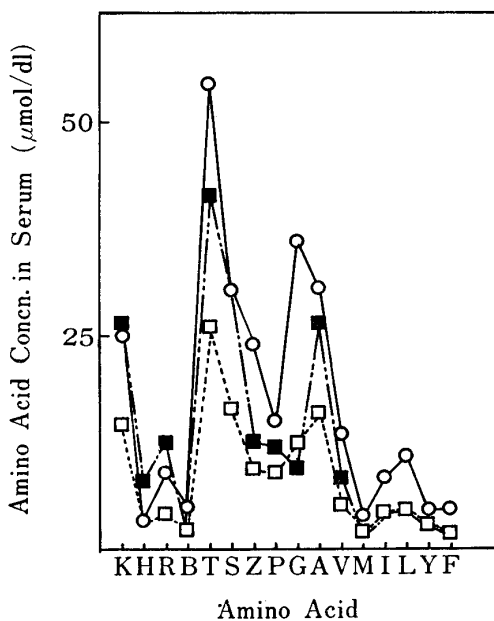


Fig. 7. Serum Aminograms of Rats Fed Various Protein Diets for 31 Days.

□—□ : soybean protein diet, ■—■ : pepsin-treated soybean protein diet, ○—○ : commercial diet.

著であったことから、トレオニンが CHOL 代謝に密接に関係するアミノ酸であると報告している。また、ウサギやラットでは、カゼイン食にグリシンを添加した時、血清 CHOL 濃度が低下したという^{28,29)}。

今回の血清遊離アミノ酸パターン測定実験では、多くの情報を得ることはできなかったが、今後、トレオニンやグリシンに着目してみる価値は十分ありそうである。

考 察

食餌たん白質の血清 CHOL 濃度への影響が検討され、大豆たん白質がカゼイン食に比べて血清 CHOL 濃度を低下させることが明らかにされた³⁰⁾。更に発展して、植物性たん白質は動物性たん白質よりも血清 CHOL 濃度上昇やアテローム性動脈硬化症を抑制すると考えられるようになっている^{3,11,12)}。しかしながら、植物性たん白質（主として大豆たん白質）の血清 CHOL 濃度低下作用メカニズムについては、非常に多くの研究がなされているにもかかわらず、未だに解明されていない²⁾。

著者らも食餌たん白質としてカゼインまたは SPI を用いてラット飼育実験を行い、上記の実験結果（大豆たん白質の血清 CHOL 濃度低下作用）を確認した¹⁴⁾。また、それらのたん白質のペプシン水解物が、intact たん白質よりも更に血清 CHOL 濃度を低下させることを見出した^{14,21)}。

Huff らは、酵素としてパンクレアチンを用いて加水分解したカゼインまたは SPI をウサギに与えたところ、intact たん白質を投与した時とほぼ同じ血清 CHOL 濃度しか示さなかったと報告している³¹⁾。パンクレアチンというのは、膵臓から分泌される酵素の混合物であり、たん白質分解酵素としてはトリプシンが主体である。著者らも報告しているように²¹⁾、トリプシンで水解した SPI は、SPI と同程度の血清 CHOL 濃度低下作用しか示さない。これらの事実は、今後、食餌たん白質の血清 CHOL 濃度低下作用メカニズム解明に向けて大きな示唆を与えるものである。

大豆たん白質の血清 CHOL 濃度低下作用を説明する時、そのアミノ酸組成を考慮する研究者が多い^{11, 29,32)}。しかしながら、特定のアミノ酸や全体としてのアミノ酸組成の違いそのものだけでは完全に説明しきれぬものではない²⁾。このことは、トリプシン水解 SPI は、SPI に比べて何ら血清 CHOL 濃度低下作用を持たなかったが、ペプシン水解 SPI が有効であったという著者らの知見²¹⁾が裏付けている。また、大豆たん白質と同じアミノ酸組成を持つアミノ酸混合物も

血清 CHOL 濃度低下作用を有していなかった³¹⁾。

本研究は、大豆たん白質の血清 CHOL 濃度低下作用メカニズム解明に向けて、アミノ酸組成は全く同じであるが、血清 CHOL 濃度低下作用の大きさの異なる intact な SPI とペプシン水解 SPI とをたん白質源としてラット飼育実験を行ったものである。すなわち、CHOL 生合成の最も盛んな場である肝臓と、CHOL 生合成と吸収の行われる場である小腸の機能について、食餌たん白質源の影響を検討したものである。併せて、CHOL の異化産物である胆汁酸の肝臓および小腸での濃度測定および血清遊離アミノ酸パターンをも検討した。

肝機能を反映していると考えられている各種血清酵素活性の測定結果からは、供試された食餌たん白質によつての肝機能における著変を認めることはできなかった (Figs. 2~6)。すなわち、SPI や Hyd-SPI を摂取することによつて肝細胞が破壊されたり、胆汁流出障害が生じるということはないと考えられる。ただ、本実験では、肝臓における酵素生成能を反映していると考えられている血清 Cholin Esterase の活性測定を行っていない。肝における CHOL 生成能を比較するためには、CHOL 生合成過程においてフィードバック機構により律速酵素となっている HMG CoA reductase (β -hydroxy- β -methyl glutaryl CoA reductase) の活性を測定比較するのが妥当である。しかし、本酵素活性の測定は困難な点が多い。そこで次回には先ず、血清 Cholin Esterase 活性の測定から行うことを考えている。

肝内での胆汁酸濃度と血清 CHOL 濃度とは比例関係にあった。しかしながら、小腸での胆汁酸濃度と血清 CHOL 濃度とは相関していなかった (Table V)。また、著者らの先の実験では、肝臓中の Squalene 濃度と血清 CHOL 濃度とも比例していた²¹⁾。Squalene が CHOL の前駆体であり、胆汁酸が代謝産物であるから、肝臓での測定結果は当然の帰結である。そのことは、また、食餌たん白質の血清 CHOL 濃度への影響を検討するに際しては、肝機能に注目すべきであることを強く示唆している。

更に、本実験結果 (Fig. 7) ならびに Nagata らの結果²⁷⁾は、血清中のトレオニン濃度と CHOL 濃度との密接な関係を示しており、トレオニンが CHOL 代謝に関連深いアミノ酸であることが明らかにされた。

謝 辞

本研究で用いられた分離大豆たん白質 (Fuji-proR) および血清酵素活性測定キットは、不二製油KK(大阪)

および日水製薬KK(東京)より、それぞれ供与されたものである。ここに記して謝意を表する。

参 考 文 献

- 1) 武内 望 (1978): コレステロールの代謝調節, 栄養と食糧, **35**, 439-448.
- 2) 菅野道廣 (1982): 食品たん白質と血液コレステロール, 化学と生物, **20**, 155-163.
- 3) Carroll, K. K. and R. M. G. Hamilton (1975): Effects of dietary protein and carbohydrate on plasma cholesterol levels in relation to atherosclerosis, *J. Food Sci.*, **40**, 18-23.
- 4) Yadav, N. R., I. E. Liener (1977): Reduction of serum cholesterol in rats fed vegetable or an equivalent amino acid mixture, *Nutr. Rep. Int.*, **16**, 385-389.
- 5) 沖田卓雄・菅野道廣 (1979): ラット血漿および肝臓脂質濃度におよぼす食餌たん白質の影響, 栄養と食糧, **32**, 397-401.
- 6) Terpstra, A. H. M., Van Tintelen and C. E. West (1982): The effect of semipurified diets containing different proportions of either casein or soybean protein on the concentration of cholesterol in whole serum, lipoproteins and liver in male and female rats, *Atherosclerosis*, **42**, 85-95.
- 7) Weinans, G. T. B. and A. C. Beynen (1983): Plasma cholesterol concentrations in mice fed cholesterol-rich semipurified diets containing casein or soybean protein, *Nutr. Rep. Int.*, **28**, 1017-1027.
- 8) Terpstra, A. H. M., C. E. West, J. T. C. M. Fennis, J. A. Schouten and E. A. van der Veen (1984): Hypocholesterolemic effect of dietary soy protein versus casein in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 1-7.
- 9) Carroll, K. K., P. M. Giovannetti, M. W. Huff, O. Moase, D. C. K. Roberts and B. M. Wolfe (1978): Hypocholesterolemic effect of substituting soy-bean protein for animal protein in the diet of healthy young women, *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 1312-1321.
- 10) Van Raaij, J. M. A., M. B. Katan, J. G. A. J. Hautvast and R. J. J. Hermus (1981): Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers, *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 1261-1271.
- 11) Kritchevsky, D. (1979): Vegetable protein and atherosclerosis, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **56**, 135-140.
- 12) Carroll, K. K. (1981): Soya protein and atherosclerosis, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 416-419.
- 13) 金森正雄・土井裕司 (1981): 分離大豆たん白質からの水解物製品の調製, 大豆たん白質栄養研究会誌, **2**, 8-13.
- 14) 金森正雄, 土井裕司 (1982): 分離大豆たん白質

- とその酵素水解物のコレステロール代謝に与える影響, 大豆たん白質栄養研究会誌, **3**, 28-32。
- 15) 金森正雄・土井裕司 (1983) : 大豆の組成各たん白質の Ca^{2+} および κ -カゼインとの相互作用, 大豆たん白質栄養研究会誌, **4**, 9-14。
 - 16) 金森正雄・土井裕司 (1984) : 分離大豆たん白質と乳清たん白質との加熱複合体の栄養生化学的研究, 大豆たん白質栄養研究会誌, **5**, 印刷中。
 - 17) 織田敏次・山中正己・塚 隆弘 (1977) : “岩波講座現代生物科学10, 組織と器官II” 飯島宗一・入沢 宏・岡田節人編, 岩波書店, p. 373。
 - 18) Levin, S. J., J. R. Irvin and C. G. Johnston (1961) : Spectrofluorometric determination of total bile acids in bile, *Anal. Chem.*, **33**, 856-860。
 - 19) Sandberg, D. H., J. Sjovall, K. Sjovall and D. A. Turner (1965) : Measurement of human serum bile acids by gas-liquid chromatography, *J. Lipid Res.*, **6**, 182-192。
 - 20) Kkishio, T. and P. P. Nair (1966) : Studies on bile acids. Some observations on the intracellular localization of major bile acids in rat liver, *Biochem.*, **5**, 3662-3668。
 - 21) 土井裕司・伊吹文男・竹内真也・堂山利明・金森正雄 (1984) : 分離大豆蛋白質とその酵素水解物のコレステロール代謝への影響, 日本農芸化学会大会講演要旨, 東京, p. 362。
 - 22) 長岡正男・近藤徳子・扇谷正三郎 (1977) : 抗結核薬ピラジナミド, エチオナミドのマウス, ラットの S-GOT, S-GPT 値に対する影響について, 東北薬科大学研究年報 **24**, 97-105。
 - 23) 江守利博・高橋正一・長瀬すみ (1978) : ラット血清および血漿乳酸脱水素酵素の比較検討, *Exp. Anim.*, **27**, 167-175。
 - 24) 山口迪夫・岩谷昌子・宮崎基嘉 (1980) : 分離大豆たん白質の制限アミノ酸とその補足効果, 大豆たん白質栄養研究会誌, **1**, 10-15。
 - 25) 菅野道廣・田中一成・井手 隆・今泉勝己 (1982) : 分離大豆たん白質のラット血清コレステロール濃度低下作用 (Ⅲ), 大豆たん白質栄養研究会誌, **3**, 33-39。
 - 26) Sugano, M., K. H. Ashigawa, Y. Nagata and T. Okita (1978) : Dietary cholesterol influences fasting serum free amino acids in rats fed diets containing different sugars, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **24**, 449-458。
 - 27) Nagata, Y., K. Imaizumi and M. Sugano (1980) : Effects of soyabean protein and casein on serum cholesterol levels in rats, *Brit. J. Nutr.*, **44**, 113-121。
 - 28) Terpstra, A. H. M., R. J. J. Hermus and C. E. West (1983) : Dietary protein and cholesterol metabolism in rabbits and rats, in “Animal and Vegetable Proteins in Lipid Metabolism and Atherosclerosis”, ed. by D. Kritchevsky and M. Gibney, Alan R. Liss Inc., New York, pp. 19-49。
 - 29) Katan, M. B., L. H. M. Vroomen and R. J. J. Hermus (1982) : Reduction of casein-induced hypercholesterolaemia and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine and alanine. *Atherosclerosis*, **43**, 381-391。
 - 30) Kritchevsky, D., S. A. Tepper, D. E. Williams and J. A. Story (1977) : Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets. Part 7. Interaction of animal or vegetable protein with fiber, *Atherosclerosis*, **26**, 397-403。
 - 31) Huff, M. W., R. M. G. Hamilton and K. K. Carroll (1977) : Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol-free, semipurified diets: Effects of dietary proteins, protein hydrolyzates and amino acid mixtures. *Atherosclerosis*, **28**, 187-195。
 - 32) Sugano, M., N. Ishiwaki, Y. Nagata and K. Imaizumi (1982) : Effect of arginine and lysine addition to casein and soya-bean protein on serum lipids, apolipoproteins, insulin and glucagon in rats, *Brit. J. Nutr.*, **48**, 211-221。

Abstract

It is well-known that vegetable protein (usually soybean protein) has hypocholesterolemic effect compared with animal protein (usually casein). In our previous papers, we indicated that pepsin-treated soybean protein isolate was more hypocholesterolemic than intact soybean protein isolate. It is important to examine the functions of liver and small intestine in order to make clear the mechanism of hypocholesterolemic effect by dietary soybean protein considering from the point of view of cholesterol metabolism and catabolism.

In this paper, effects of dietary protein on liver

function and bile acids concentration in liver and small intestine were examined. Rats were fed with soybean protein isolate diet, pepsin-treated soybean protein diet or commercial diet. Serum enzyme activities were measured to evaluate the liver function of rats fed various protein diets. Enzymes measured were glutamate-oxaloacetate transaminase, glutamate-pyruvate transaminase, lactate dehydrogenase, leucine aminopeptidase and alkaline phosphatase. In the case of rats fed those diets, the destruction of liver cell and the disease of biliary flow were not observed. Serum cholesterol

level was proportion to the bile acids concentration in liver, but not in small intestine. Obtained results suggest the necessity of further examinations of liver function in order to clarify the regulation

mechanism of serum cholesterol level by dietary protein. It is indicated from serum aminogram that threonine is closely related to cholesterol mechanism.