

ラットにおける難消化性生アミロメイズ澱粉の 血清コレステロール低下作用について

太田富貴雄・平山 (片山) けい子*・甲斐啓嗣

渡辺幸雄**・綾野雄幸

(食品及び栄養化学研究室)

(* 山梨大学工学部)

(** 植物栄養学研究室)

Hypocholesterolemic Action of Poorly Digestible Raw Amylomaize Starch in Rats Fed a Cholesterol Free Diet

Fukio OHTA, Keiko HIRAYAMA (KATAYAMA), Keishi KAI,
Yukio WATANABE and Yûko AYANO
(Laboratory of Food and Nutritional Chemistry)

ABSTRACT

In order to find out the mechanisms by which poorly digestible raw amylomaize starch lowers the serum cholesterol level in rats, both two feeding experiments and *in vitro* measurements for the interaction of the starch with bile salts were carried out.

Each carbohydrate source was included at 78% level in a cholesterol free diet with or without antimicrobial drugs and fed weaning male Wistar rats for 22 days. The animals fed amylomaize starch showed significantly lower serum cholesterol level than those on sucrose or normal corn starch. The rats given normal corn starch in a restricted amount as with identical energy consumed by their counterparts on amylomaize starch maintained serum cholesterol unaltered. Furthermore, antimicrobial drugs supplemented to normal corn and amylomaize starch diets failed to modify serum cholesterol.

Raw potato starch, another poorly digestible starch, was also found to exhibit remarkable hypocholesterolemic effect compared to sucrose.

In *in vitro* study, amylomaize starch was proved to adsorb more taurocholate and to inhibit more efficiently the absorption of ^{14}C -cholate by everted ileum sacs than normal corn starch.

These findings indicate that amylomaize starch presumably exerts the hypocholesterolemic action by depressing the intestinal reabsorption of bile salts through adsorbing them on undigested starch granules staying in the lower bowel.

食品中の難消化性成分、いわゆる食物繊維は、動物の消化管腔内における物理化学的な作用を介して、生体の生理機能に様々な影響をおよぼすことが知られている。そのなかで、ヒトや実験動物について最も広範に検討されているコレステロール代謝に対する効果は、多くの場合コレステロールと胆汁酸を添加した食餌条件下で調べられ、水溶性で粘性の高い種類に血清コレステロール上昇抑制作用が認められている。

アミロメイズ澱粉は強固な粒構造を有し、生のままラットに給与すると70%前後の消化率を示して難消化性であり、消化管下部に未消化澱粉が多量に滞留する (綾

野ら, 1979)。ため、非水溶性食物繊維の一種とみなすことができる。著者らは前報 (太田ら, 1986) で、生アミロメイズ澱粉が体内コレステロール量におよぼす影響を幼若ラットを用いて検討したところ、蔗糖や普通トウモロコシ澱粉に比べて、コレステロール添加食時には血清コレステロールを著るしく上昇させ、無添加食の場合には逆にその値を有意に減少させることを明らかにした。この知見は、血清コレステロールの増減に働く食品成分のなかに食事コレステロールや他の共存物の存否により、相反する二面的効果を発揮するものが存在する可能性を示し、それぞれの作用について発現の機序を解明す

ることは、血清コレステロール低下作用をもつ成分を実際の食生活に正しく活用する上で有意義かつ必要に思われる。

今回の実験は、コレステロール無添加食時のアミロメイズ澱粉による血清コレステロール低下作用の機序解明を目差して実施し、いくつかの知見が得られたので、その結果を報告する。

実験方法

試料澱粉および試薬 実験に供したアミロメイズ澱粉(アミロース含量48.6%,豊年製油株),普通トウモロコシ澱粉(豊年製油株),馬鈴薯澱粉(北海道農業協同組合連合会)は、いずれも食品工業用の市販品をそのまま使用した。サルファジアジン,テトラサイクリン類およびタウロコール酸ナトリウムはSigma社製を,またコレステロール定量用の氷酢酸は精密分析用(関東化学株)を購入した。食餌成分のミネラル混合とビタミン混合は,HARPER(1959)の処方に基づく既製品(オリエンタル酵母工業株)を使用した。¹⁴C-コール酸ナトリウム(50 mCi/mmol)はRCC Amersham社製を用いた。

実験動物, 実験食および飼育条件 4週齢で購入後,Table 1の普通トウモロコシ澱粉食を与えて1~2週間予備飼育したWistar系雄ラット(日本ラット株)をすべ

ての実験に使用し,群分けののち,直ちに実験食の給与を開始した。群分けに際しては,各実験群ラットの平均体重が等しくなるように配慮した。ラットは,ステンレス製の個別ケージに入れて22±1°Cの恒温室で飼育し,実験1の一部実験群を除いて,水および実験食は自由に摂取させた。所定の飼育期間終了後,ラットは断頭により屠殺して採血を行い,続いて肝臓,消化器各部を速やかに摘出して重量を測定した。血液からは血清を分離採取し,肝臓はそのまま脂質成分の定量時まで凍結保存した。

実験1および2で用いた食餌組成は,Table 1にまとめて示した。いずれの実験食も蔗糖または澱粉50~78%,カゼイン15%,大豆油2%,ミネラル混合4%,ビタミン混合0.85%を主構成成分とし,コレステロールと胆汁酸は添加しなかった。

実験1は,生アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用が,その難消化性のために被験ラットの吸収エネルギーを減少させたことによる二次的効果なのか,あるいは消化管下部における未消化澱粉の存在が腸内細菌叢を変化させた結果なのかを確かめる目的で計画した。体重約127gのラットを6匹ずつ6群に分け,そのうち4群のラットにはTable 1に示す蔗糖食,普通トウモロコシ澱粉食,アミロメイズ澱粉食および抗菌剤添加アミ

Table 1 Composition of diets in experiment 1 and 2

Ingredients	Experiment 1			Experiment 2	
	Sucrose diet (%)	Starch diet (%)	Starch + sulfa diet (%)	Sucrose diet (%)	Starch diet (%)
Sucrose	78	—	—	62.75	25.25
Starch ¹⁾	—	78	77.72	—	50
Casein	15	15	15	15	15
Water	—	—	—	8.5	—
Soybean oil ²⁾	2	2	2	2	2
Mineral mixture ³⁾	4	4	4	4	4
Vitamin mixture ³⁾	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Antimicrobial agents ⁴⁾	—	—	0.28	—	—

- 1) Raw starch from normal corn, amylo maize or potato was included in the respective diets
- 2) Enriched with 450 μg as retinol of retinyl acetate, 37.5 μg of cholecalciferol and 0.5g of α-dl-tocopherol acetate per 100g oil
- 3) Commercial preparations (Oriental Yeast Co.) on the prescription by A. E. Harper (1959)
- 4) 0.2% sulfadiazine, 0.05% oxytetracycline and 0.03% chlortetracycline were supplemented to both normal corn and amylo maize starch diets

ロメイズ澱粉食のいずれかを自由摂取させた。残り2群のラットには、自由摂取のアミロメイズ澱粉食群または抗菌剤添加のアミロメイズ澱粉食群のそれぞれのラットと摂取可消化エネルギー値が等しくなるように、普通トウモロコシ澱粉食ないしは抗菌剤添加普通トウモロコシ澱粉食を毎日量り与えるようにした。22日にわたる飼育期間終了後、一夜絶食させたラットから血清と肝臓を採取し、コレステロールとトリグリセリド量の測定に供した。

実験2は、アミロメイズ澱粉と同様に難消化性である生馬鈴薯澱粉も、易消化性の蔗糖や普通トウモロコシ澱粉に比べ、コレステロール無添加食時に血清コレステロールを減少させる効果を有するか否かを確かめるために実施した。体重約93gのラットを6匹あて4群に分け、蔗糖ないしは普通トウモロコシ、アミロメイズ、馬鈴薯の各澱粉を主糖質源にする実験食の一つを自由摂取させて、体重および摂取量を測定しながら30日間飼育した。最後に一夜絶食させたラットの血清と肝臓を集め、実験1と同じく脂質定量用の試料とした。

澱粉粒の胆汁酸塩に対する吸着能および腸管吸収抑制効果 生アミロメイズ澱粉による血清コレステロール低下作用は、消化管内に未消化のまま残存する澱粉粒が胆汁成分として小腸に排出される胆汁酸塩を吸着し、コレステロール類の再吸収を阻害することを介して発現する可能性がある。そこで、澱粉粒の胆汁酸吸着能をEASTMOOD et al. (1976)の方法を参考に、また澱粉粒の存在が胆汁酸の腸管吸収を阻害するか否かを小腸反転サックを 사용하는KIRIYAMA et al. (1974)の方法に従い、それぞれ *in vitro* で測定した。両測定ともに、試料として藤本ら (1971)の方法により80%メタノールで脱脂したアミロメイズ澱粉と普通トウモロコシ澱粉を用いた。

澱粉粒の胆汁酸吸着能は、Krebs Ringerのリン酸緩衝液に被験澱粉を10% (w/v) およびタウロコール酸を0.01% (w/v) 加えて、攪拌しながら37°Cで6時間インキュベートし、その前後の滲液中のタウロコール酸濃度差から算出した。

小腸反転サックは、市販固形飼料 (日本クレア株) で飼育し、一夜絶食させた体重250gのWistar系雄ラットの摘出小腸からWILSON and WISEMAN (1959)の方法に従って作製した。すなわち、断頭屠殺後速やかに摘出した小腸は、グルコース0.1%を含む冷生理食塩水20mlを用いて内容物を洗い出し、4等分した最下部回腸から4cm長の切片4本をとり、それぞれを小スパーテルで内腔粘膜側が表面に、漿膜側が裏面にくるように反転させた。4匹分の小腸から作製したサックは、内部に1mlのコール酸ナトリウム含有 (0.1mg/ml) Krebs Ringer

リン酸緩衝液を注入して両端を結紮したのち、0.5gの被験澱粉と $24\text{-}^{14}\text{C}$ -コール酸ナトリウム (0.02 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$) を加えたKrebs Ringerのリン酸緩衝液5ml中に浸し、酸素気相下で振盪しながら37°C、40分間インキュベートした。緩衝液から引き上げた反転サックは、外面を冷生理食塩水で洗い、濾紙で拭いたのち漿膜側の内液を回収し、その0.5mlを15mlのシンチレーション溶液に加えて液体シンチレーションカウンター (Aloka LSC-6511) による放射能の測定を行った。シンチレーション溶液は、2,5-ジフェニルオキサゾール0.4% 1,4-ビス-2(5-フェニルオキサゾリル)-ベンゼン0.01%を含むトルエン1lにトリトン-X-100 500mlを混合して調製した (PATTERSON and GREELE, 1965)。

分析方法 血清コレステロールの定量は、試料のアセトン・エタノール抽出滲液を乾固させて水酢酸に溶解し、塩化第2鉄とリン酸を含む濃硫酸で発色させるZAK et al. (1954)の方法によった。肝臓コレステロールは、鹼化した試料のアセトン・エタノール抽出液にジギトニンを加え、生じたステロール・ジギトニド沈澱を水酢酸に溶解し、血清の場合と同様な方法で発色させて定量した。血清および肝臓のトリグリセリド量は、リン脂質をシリカゲル吸着により除去したアセトン・エタノール抽出液を鹼化し、生成したグリセロールを酸化・発色させるVAN HANDEL and ZILVERSMIT (1957)の方法に準じて測定した。

統計処理 実験群の測定値はすべて平均値±標準誤差で示した。実験群間における平均値の差はStudentのtテスト (FISHER, 1970) による検定を行い、有意性の有無は危険率5%の水準で判定した。

実験結果

アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用における吸収エネルギー量と腸内細菌叢の影響 アミロメイズ澱粉食に抗菌剤を添加した場合、およびアミロメイズ澱粉食給与ラットと可消化エネルギー量が等しくなるように普通トウモロコシ澱粉食を制限量与えて、血清コレステロールの変化をみた実験1の結果はTable 2, 3, 4に示した。アミロメイズ澱粉群の摂取量と体重増加量は、抗菌剤添加の有無によらず、自由摂取の蔗糖群および普通トウモロコシ澱粉群に比べて有意な減少がみられ、食餌効率も著しく低い値を示した (Table 2)。ただし、アミロメイズ澱粉食に抗菌剤を加えると体重、食餌効率ともに向上する傾向が観察され、アミロメイズ澱粉によるラットの成長抑制に腸内細菌叢の変化が関与することを窺わせた。アミロメイズ澱粉群および抗菌剤添加アミロメイズ澱粉群に、それぞれ可消化エネルギー量が等し

Table 2 Effects of dietary starches and antimicrobial agents on body weight gain and food intake in rats fed ad libitum or pair-fed a cholesterol free diet for 22 days (Exp. 1)

Groups ¹⁾	Initial weight (g)	Body weight gain (g)	Food intake (g)	Food conversion ⁵⁾
Sucrose	126.8±5.7 ⁴⁾	112.7±6.1	454.8±17.6	4.06±0.15
Normal corn starch	126.8±5.3	124.0±11.6	441.5±10.8	3.37±0.36
Amylomaize starch	126.8±4.2	59.6± 7.6 ^{a,b)}	341.3± 9.0 ^{a,b)}	6.66±1.50
Normal corn starch (pair-fed) ²⁾	127.6±4.0	46.6± 1.8 ^{a,b)}	271.3± 4.8 ^{a,b)}	5.86±0.24 ^{a,b)}
Amylomaize starch + sulfa	126.8±5.3	112.0± 9.0	388.2±11.9 ^{a,b)}	3.53±0.18 ^{a)}
Normal corn starch + sulfa (pair-fed) ³⁾	126.7±4.5	88.9± 3.0 ^{a,b)}	341.0± 2.4 ^{a,b)}	3.86±0.16

- 1) Each experimental group consisted of 6 male Wistar rats
- 2) Normal corn starch diet was provided in such a restricted amount as with equal absorbable energy consumed by the rats fed amylo maize starch diet ad libitum
- 3) Normal corn starch+sulfa diet was provided in such a restricted amount as with equal absorbable energy consumed by the rats fed amylo maize starch+sulfa diet ad libitum
- 4) Mean±standard error
- 5) Total food intake/body weight gain
- a) Significantly different from sucrose group at P ≤ 0.05
- b) Significantly different from normal corn starch group at P ≤ 0.05

Table 3 Effects of dietary starches and antimicrobial agents on alimentary organ weight of rats fed ad libitum or pair-fed a cholesterol free diet for 22 days (Exp. 1)

Groups	Eviscerated carcass (g)	Liver ²⁾	Small intestine ²⁾	Cecum with content ²⁾	Large intestine ²⁾
Sucrose	173.5±7.4 ¹⁾	4.02±0.06	2.48±0.22	1.33±0.14	0.37±0.02
Normal corn starch	185.4±4.2	3.06±0.12 ^{a)}	1.54±0.11 ^{a)}	0.76±0.13	0.31±0.04
Amylomaize starch	121.4±3.9 ^{a,b)}	3.90±0.04 ^{a,b)}	3.44±0.27 ^{a,b)}	10.67±2.14 ^{a,b)}	0.55±0.06 ^{a,b)}
Normal corn starch (pair-fed)	134.3±2.3 ^{a,b)}	3.53±0.04 ^{a)}	1.84±0.08 ^{a)}	1.41±0.13 ^{b)}	0.43±0.03 ^{b)}
Amylomaize starch + sulfa	154.3±6.9 ^{b)}	4.17±0.09 ^{b)}	2.57±0.15 ^{b)}	11.04±0.42 ^{a,b)}	0.63±0.09 ^{a,b)}
Normal corn starch + sulfa (pair-fed)	162.5±4.1 ^{b)}	4.09±0.19	1.54±0.06 ^{a)}	3.46±0.36 ^{a,b)}	0.30±0.02 ^{a)}

- 1) Mean ± standard error
- 2) Relative weight to eviscerated carcass
- a) Significantly different from sucrose group at P ≤ 0.05
- b) Significantly different from normal corn starch group at P ≤ 0.05

くなるように食餌制限した普通トウモロコシ澱粉群とその抗菌剤添加群は、ともに対比群とほぼ同水準の成長指数を示した。アミロメイズ澱粉群は、成長の実質的指標である内臓摘出屠体重も蔗糖、普通トウモロコシ澱粉の両群に比べ著しい低下がみられたが、抗菌剤の添加によりその傾向は幾分緩和された (Table 3)。このことは、

アミロメイズ澱粉と抗菌剤の併用に伴う食餌効率の向上が単に消化器官の肥大による見掛けの現象でないことを裏付けている。食餌制限した普通トウモロコシ澱粉群と同抗菌剤添加群の屠体重は、自由摂取の普通トウモロコシ澱粉群より大巾に減少したが、アミロメイズ澱粉を糖質源にするそれぞれの対比群に比べると僅かながら過大

になり、食餌給与量をもう少し抑制する必要性が認められた。

糖質源、抗菌剤および給与法の違いが消化器官の大きさに与える影響を、内臓摘出屠体重に対する比率で表わして Table 3 に示した。自由摂取および食餌制限された普通トウモロコシ澱粉群は、ともに糖質源の異なる他群よりも肝臓が縮小する傾向がみられたが、この変化は抗菌剤の投与によって消失した。一方、アミロメイズ澱粉群では、蔗糖および普通トウモロコシ澱粉群に比較して小腸、盲腸、大腸ともに著しい肥大が認められたが、なかでも盲腸は 10 倍にも拡張して未消化澱粉が内部に充満していた。抗菌剤の添加は普通トウモロコシ澱粉群の盲腸を肥大させたが、アミロメイズ澱粉群には影響を与えなかった。

アミロメイズ澱粉と抗菌剤の血清および肝臓のコレステロールとトリグリセリド量に対する効果は、Table 4 に一括して掲げた。アミロメイズ澱粉は蔗糖、普通トウモロコシ澱粉に比べ、給与ラットの血清コレステロール値を低下させる明らかな傾向が観察され、等エネルギーを摂取した普通トウモロコシ澱粉食ラットとは有意差が認められた。アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用は、抗菌剤の添加による影響は殆んど受けなかった。一方、普通トウモロコシ澱粉群の血清コレステロール値は、可消化エネルギー量がアミロメイズ澱粉群と同水準になるように食餌制限しても、抗菌剤を同時投与し

た場合も全く変化がみられなかった。アミロメイズ澱粉は更に肝臓コレステロール濃度にも影響し、蔗糖や普通トウモロコシ澱粉に比べて有意に低下させる効果を示したが、抗菌剤の併用によりその傾向が幾分弱められた。普通トウモロコシ澱粉給与時の肝臓コレステロール量は、血清の場合と同様に食餌制限や抗菌剤の影響を受けなかった。

血清トリグリセリド量は蔗糖食によって高まる傾向が観察されたが、澱粉の種類による本質的变化は認められず、摂取量の多少に比例して増減がみられたにとどまった。肝臓トリグリセリド量は蔗糖群が少なく、蔗糖は澱粉に比べ肝臓における脂肪への転換と血液中への流入が早期に行われることを示した。肝臓トリグリセリド量は抗菌剤の食餌添加により上昇する傾向がみられたが、理由は不明である。

馬鈴薯澱粉の血清コレステロール低下作用

アミロメイズ澱粉と同じく、生の状態では難消化性である馬鈴薯澱粉の血清コレステロールにおよぼす効果を検討した実験 2 の成績は、Table 5 と 6 にまとめた。馬鈴薯澱粉群の体重増加量は普通トウモロコシ澱粉群に匹敵し、蔗糖群とアミロメイズ澱粉群を上回る傾向が認められたが、摂取量が他実験群に比べて著しく増加しており、食餌効率はアミロメイズ澱粉群と大差のない低い値にとどまった。内臓摘出屠体重は、普通トウモロコシ澱粉群が幾分大きくなった以外、残りの 3 実験群間では

Table 4 Effects of dietary starches and antimicrobial agents on fasting cholesterol and triglyceride levels of serum and liver in rats fed ad libitum or pair-fed a cholesterol free diet for 22 days (Exp. 1)

Groups	Serum ²⁾		Liver	
	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/g wet tissue)	Triglyceride (mg/g wet tissue)
Sucrose	77.4±4.7 ¹⁾	79.4±9.8	3.3±0.6 ^{c)}	39.8±4.2
Normal corn starch	76.6±2.7	61.2±4.3	3.7±0.2 ^{c)}	61.9±9.3
Amylomaize starch	68.5±3.2 ^{d)}	39.7±9.4 ^{a)}	2.8±0.3	40.2±5.1
Normal corn starch (pair-fed)	79.3±2.2	41.7±8.3 ^{a)}	3.2±0.3	22.9±5.3 ^{a,b)}
Amylomaize starch + sulfa	65.5±3.7 ^{e)}	48.5±5.3 ^{a)}	3.6±0.2 ^{c)}	66.3±7.4 ^{a)}
Normal corn starch + sulfa (pair-fed)	79.7±3.6	48.5±8.0 ^{a)}	3.4±0.2 ^{c)}	57.5±9.4

1) Mean ± standard error

2) Blood was collected from rats fasted overnight

a) Significantly different from sucrose group at $P \leq 0.05$

b) Significantly different from normal corn starch group at $P \leq 0.05$

c) Significantly different from amylo maize starch group at $P \leq 0.05$

d) Significantly different from normal corn starch (pair-fed) group at $P \leq 0.05$

e) Significantly different from normal corn starch + sulfa (pair-fed) group at $P \leq 0.05$

Table 5 Effects of dietary poorly digestible starches on body weight gain, food intake and alimentary organ weight of rats fed a cholesterol free diet for 30 days (Exp. 2)

Groups ¹⁾	Initial body wt. (g)	Body wt. gain (g)	Food intake (g)	Eviscerated carcass (g)	Liver ³⁾	Small intestine ³⁾	Cecum with content ³⁾
Sucrose	93±3 ²⁾	191±17	538±36	210±13	3.97±0.14	1.32±0.11	0.88±0.11
Normal corn starch	93±4	206±19	537±38	223±14	3.68±0.15	1.04±0.13	0.77±0.05
Amylomaize starch	93±2	183±15	566±31	202±10	3.90±0.10	1.35±0.10	3.02±0.37 ^{a,b)}
Potato starch	93±3	200±21	654±63	200±16	4.61±0.21	1.89±0.27 ^{b)}	6.31±0.41 ^{a,b,c)}

- 1) Each experimental group consisted of 6 male Wistar rats
- 2) Mean ± standard error
- 3) Relative weight to eviscerated carcass
- a) Significantly different from sucrose group at P ≤ 0.05
- b) Significantly different from normal corn starch group at P ≤ 0.05
- c) Significantly different from amylo maize starch group at P ≤ 0.05

Table 6 Effects of dietary poorly digestible starches on fasting cholesterol and triglyceride levels of serum and liver in rats fed a cholesterol free diet for 30 days (Exp. 2)

Groups	Serum ²⁾		Liver	
	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/g wet tissue)	Triglyceride (mg/g wet tissue)
Sucrose	97.8±3.3 ¹⁾	142.8±8.7	4.8±0.2	24.8±3.5
Normal corn starch	85.7±4.2	109.2±10.7 ^{a)}	5.5±0.1 ^{a)}	27.6±1.8
Amylomaize starch	83.6±3.2 ^{a)}	81.6±2.0 ^{a,b)}	7.1±0.3 ^{a,b)}	27.1±2.8
Potato starch	75.1±3.9 ^{a)}	74.5±3.2 ^{a,b)}	4.2±0.4 ^{b,c)}	21.9±2.7

- 1) Mean ± standard error
- 2) Blood was collected from rats fasted overnight
- a) Significantly different from sucrose group at P ≤ 0.05
- b) Significantly different from normal corn starch group at P ≤ 0.05
- c) Significantly different from amylo maize starch group at P ≤ 0.05

摂取量の多少に関係なく全く差異が認められず、馬鈴薯澱粉のラットによる利用性はアミロメイズ澱粉に比べても劣ることを窺わせた。両難消化性澱粉は、蔗糖ないし普通トウモロコシ澱粉と比較してラットの小腸や盲腸を有意に肥大させたが、その傾向はとくに馬鈴薯澱粉で著るしく (Table 5), 本澱粉の低利用率が消化率の低さによることを示した。

各実験群の血清および肝臓の空腹時脂質濃度は、Table 6にまとめて掲示した。難消化性澱粉はともに蔗糖に比べて血清コレステロール値を有意に低下させたが、その効果は馬鈴薯澱粉により強く認められた。ただし、今回は両澱粉とも普通トウモロコシ澱粉との間に有意差はみられなかったが、これは実験1に比べ食餌中の澱粉比率を下げたことによると思われる。肝臓コレステロール濃度はアミロメイズ澱粉群が最多、馬鈴薯澱粉群が最少になるなど、糖質源の特性にもとづく一定の傾向

は観察されなかった。血清トリグリセリド値は、蔗糖群が有意に澱粉3群を上回り、澱粉群間では普通トウモロコシ澱粉が最も高くなるなど、実験1と同様の傾向が観察された。

アミロメイズ澱粉の胆汁酸吸着能および胆汁酸の腸管吸収に対する阻害効果 澱粉とタウロコール酸を一定量含む緩衝液を6時間インキュベートしたとき、澱粉粒に吸着されたタウロコール酸の割合を Fig. 1 に示した。アミロメイズ澱粉は、比較に用いた普通トウモロコシ澱粉を大巾に上回る強い胆汁酸吸着能を有することが確認された。

Fig. 2には、澱粉および¹⁴C-コール酸を一定量添加した溶液中にラットの腸管回腸部から作製した反転サックを浸漬し、所定の時間インキュベートしたとき反転サックの表面粘膜部から漿膜側に吸収されたコール酸量を dpm で表わした。アミロメイズ澱粉とインキュベートし

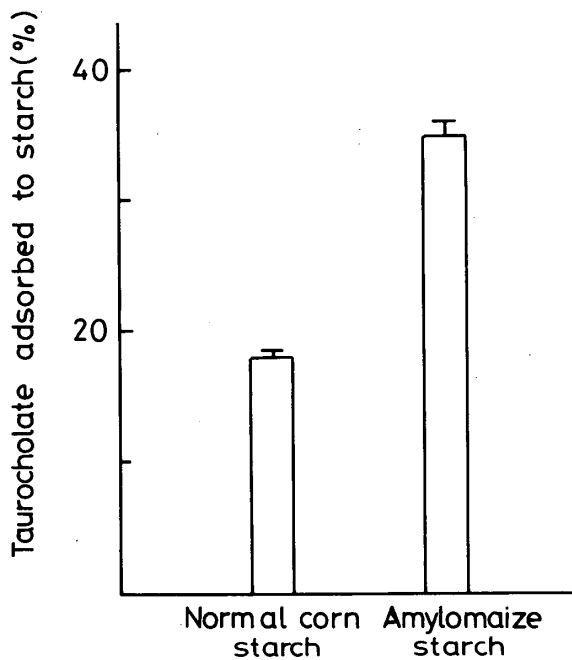


Fig. 1 Adsorption of taurocholate to normal and amylo maize starches.

0.5 g of starch was incubated with shaking in 5 ml of Krebs-Ringer phosphate buffer containing taurocholate (0.1 mg/ml) at 37°C for 6 hours. Percent adsorption of taurocholate was calculated by the difference in the concentration of the medium before and after the incubation. Vertical lines represent the standard error of the mean.

たときの反転サックによるコール酸吸収量は、普通トウモロコシ澱粉との共存時に比べて半分に過ぎず、小腸内腔に未消化のまま多量に滞留する澱粉粒が胆汁酸塩の再吸収阻害に働く可能性を示した。

考 察

アミロメイズ澱粉はアミロースが50%以上を占め、普通トウモロコシ澱粉や他の大部分の澱粉に比べて糊化温度が極めて高く (SENT, 1967), 生の状態では α -アミラーゼによる分解率や動物に投与したときの消化率が著しく低い (BORCHERS, 1962; GALLANT et al., 1972) などの特性をもっている。この強固な粒構造をもつ澱粉は、そのままラットに給与すると、小腸から大腸にかけて未消化のまま多量に残留する (綾野ら, 1979) ため、消化器系の機能にとどまらず体内における生理・代謝系にも様々な影響を与えると考えられる。著者らは、本澱粉のコレステロール代謝におよぼす効果をラットを用い

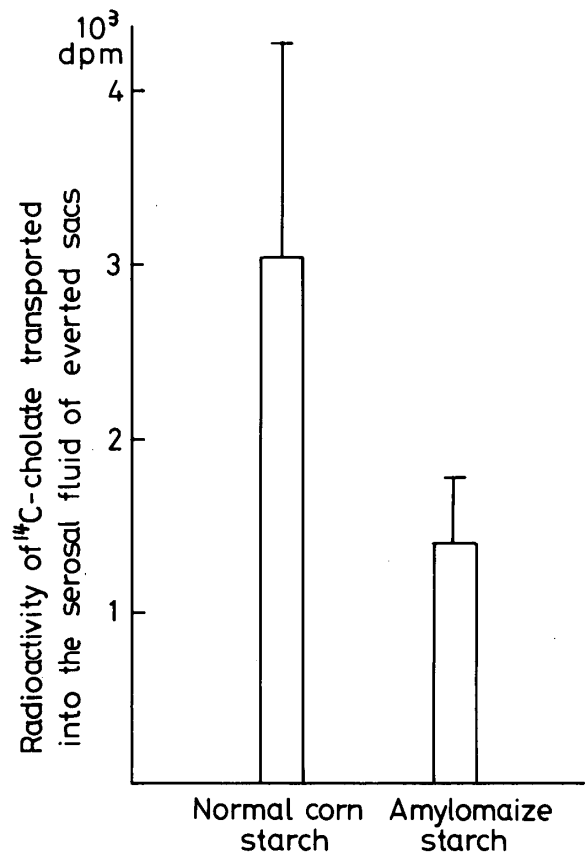


Fig. 2 Inhibitory effect of starches on bile acid absorption by everted ileum sacs from rats.

Everted sacs were incubated with shaking in Krebs-Ringer phosphate buffer containing ¹⁴C-cholate and starch (10% w/v) at 37°C for 40 minutes under O₂ atmosphere. Radioactivity transported into the serosal fluids of the sacs were counted. Vertical lines represent the standard error of the mean.

て検討したところ、蔗糖や普通トウモロコシ澱粉に比べて、コレステロール添加食時には血清コレステロール値を高め、無添加食の場合は正反対の作用を示すことを明らかにした (太田ら, 1986)。血清コレステロール濃度に対する類似の二面的効果は、動物実験の食餌タンパク質源として多用されるカゼインでも認められ、コレステロール無添加の場合は食餌カゼイン量が高まるほど血清コレステロールを増加させ、コレステロール添加食ではカゼインが多いと血清レベルを引き下げる (NATH and SINGH, 1970)。アミロメイズ澱粉とカゼインでは消化管内における動態や栄養生理機能が著しく異なるので、両者が同一の理由ないし機序によって上記二面的効果を発現するとは考え難い。いずれにせよ、食餌条件の違いにより、血清コレステロール値に対し相反する作用を示す

食品成分は他にも存在すると思われるが、かような事象について系統的な追究を試みた報告は未だ知られていない。

今回の一連の実験は、アミロメイズ澱粉がコレステロール無添加食時に示す血清コレステロール低下作用について、その原因と機序を解明する手掛りを得るために行った。

周知のとおり、多種多様な食餌因子が様々な原因と機構を介して血清コレステロール濃度に影響を与える。その中で、非水溶性難消化性で粒構造をもつ、アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用に関係する機序としては、吸収エネルギー量の相対的不足、腸内細菌叢の変化および胆汁酸吸着能などが主なものとして挙げられる。

食餌エネルギーの摂取ないし吸収不足は、肝臓におけるトリグリセリド生合成の縮小を招いて、その血中運搬体である VLDL などのリポタンパク質の血液中への流入量を減らし、延いては血清コレステロール濃度を低下させると考えられる。生アミロメイズ澱粉は、消化率が70%前後で可消化エネルギーが少いだけでなく、ラットに給与すると蔗糖や普通トウモロコシ澱粉を与えたときに比べて摂取量を大幅に低下させる。このため、アミロメイズ澱粉群の吸収エネルギー量は、小型化した屠体重が端的に示すように易消化性の糖質群より格段に少なく、この事が被験澱粉の血清コレステロールに対する効果の主因になっているとも考えられる。この可能性を確かめるため、自由摂取のアミロメイズ澱粉群と可消化エネルギー量が等しくなるように普通トウモロコシ澱粉食を毎日量り与える実験群を設けて、両群の血清コレステロール値におよぼす作用を比較した。食餌制限した普通トウモロコシ澱粉群は自由摂取の対比群に比べて、体重増加量と屠体重の伸びが大幅に低下してアミロメイズ澱粉群に大体拮抗する値を示し、同時に血清トリグリセリド濃度にも同様の変化が生じたが、血清コレステロールは全く影響を受けず自由摂取群と同じ水準が維持された。この事実は、アミロメイズ澱粉による血清コレステロールの減少が、単に食餌からの吸収エネルギーの不足による間接的な効果ではないことを示している。

アミロメイズ澱粉は、摂取したラットの消化管、とくに盲腸部に多量に残留し盲腸を著しく肥大させるが、そこに生息する腸内細菌叢にも当然様々な影響を与える筈である。すなわち、腸内細菌叢は、消化管下部においてコレステロールおよび胆汁酸を吸収速度の遅いコプロスタノールと二次胆汁酸にそれぞれ変換し、ステロール類の糞便中への排泄量を高める (KELLOGG, 1971)。無菌ラットでは、コレステロールの吸収増と排泄減がみられ

て体内ステロール・プールは増大し (WOSTMANN, 1973)、血清コレステロール値の上昇も認められる (DANIELSSON and GUSTAFSSON, 1959)。消化管下部に多量に残留する未消化澱粉の腸内細菌叢に対する作用として基質の供給を高めてその増殖を促がすか、あるいは生息に不適な環境をつくり菌叢の活動を抑える、の二つの場合が考えられる。KELLOGG and WOSTMANN (1966) は、生馬鈴薯澱粉をラットに与えると糞中の5 β -ステロール中で微生物変換を受けたものの割合が著しく減るので、未消化澱粉は腸内細菌叢のステロール変換活性を抑制する、と推定している。いずれにせよ、アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用に細菌叢が関わる可能性は無視できず、PORTMAN et al. (1959) に倣って抗菌剤を加えた澱粉食でラットを飼育し、血清コレステロールの変化の有無を検討した。しかし、抗菌剤の食餌への添加は、成長の改善などの効果がみられたにとどまり、血清コレステロールの増減には全く影響を与えなかった。一方、SAQUET et al. は、アミロメイズ澱粉投与時の無菌ラットと通常ラットで消化管内および糞便中の胆汁酸濃度並びに組成に差異が観察されたことから、この澱粉のステロール代謝への効果に腸内細菌叢が関与する、と述べている。しかし、この際の血清コレステロール値そのものは両ラット間に差がなく、アミロメイズ澱粉による血清コレステロール低下作用の主因が、腸内細菌叢の変化にあるとの確定的証拠とは言い難い。

アミロメイズ澱粉の血清コレステロールに対する効果が消化管内の作用を介して発現すると限定したとき、その機序として検討すべきもう一つの可能性は、消化管内に存在する未消化澱粉粒が胆汁成分として排出される胆汁酸塩を吸着し、門脈への再吸収を抑制することによって体内ステロール・プールを減少させる、との仮説である。実際、コレステロール代謝に影響を与える食物繊維のなかに、胆汁酸を吸着するものが存在することは良く知られている (KRITCHEVSKY and STORY, 1974)。そこで、澱粉粒の胆汁酸吸着能を *in vitro* で測定したところ、普通トウモロコシ、アミロメイズの両澱粉ともにその作用を示したが、とくに後者に活性の高いことが確認された。更に、澱粉が小腸反転サックによる¹⁴C-コール酸の吸収に影響するか否かの検討を試み、アミロメイズ澱粉が実際にも胆汁酸の腸管吸収に阻害的效果を発揮しうることが明らかにされた。

従って、アミロメイズや馬鈴薯などの難消化性生澱粉によるラットの血清コレステロール低下作用は、食餌からの吸収エネルギーの不足、あるいは腸内細菌叢への影響が主因ではなく、消化管に残留する未消化澱粉粒がその吸着能により胆汁酸の再吸収を抑制して、体内ステロ

ール・プールを減少させることに基づく、と推定される。

今回の実験は、アミロメイズ澱粉のコレステロール代謝におよぼす効果が、消化管内における作用を介して発現されるとの考えで行ったものであり、その機序を確定するためには今後、被験澱粉の体内ステロール代謝、*in situ* の腸管吸収能、糞便へのステロール排泄量などに対する影響を明らかにする必要がある。

摘 要

コレステロール無添加食時における難消化性生アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用について、食餌からの吸収エネルギーの不足によるのか、また腸内細菌叢の変化が関係するのかを飼育実験で検討するとともに、澱粉の胆汁酸吸着能およびその胆汁酸の腸管吸収に対する阻害効果の有無を *in vitro* で測定した。

アミロメイズ澱粉を78%含む実験食を幼若ラットに22日間給与すると、蔗糖や普通トウモロコシ澱粉食に比べて血清コレステロールが有意に減少した。可消化エネルギーがアミロメイズ澱粉群と同程度になるように普通トウモロコシ澱粉食を制限量与えても、ラットの血清コレステロールは変化しなかった。また、アミロメイズ澱粉食に抗菌剤を添加しても、澱粉による血清コレステロール低下作用は全く影響を受けなかった。アミロメイズ澱粉と同じく難消化性の生馬鈴薯澱粉は、50%食餌添加で顕著な血清コレステロール低下作用を示した。胆汁酸吸着能は普通トウモロコシ澱粉、アミロメイズ澱粉ともに認められたが、とくに後者に強い効果が観察された。ラット回腸から作製した反転サックによる¹⁴C-コール酸の吸収を阻害する作用も、普通トウモロコシ澱粉に比べアミロメイズ澱粉の方が強力であった。

以上の成績から、アミロメイズ澱粉の血清コレステロール低下作用の主因は、食餌からの吸収エネルギーの不足や腸内細菌叢の変化によるのではなく、消化管に多量に滞留する未消化澱粉粒が胆汁酸塩を吸着してその再吸収を抑制することにある、と推定された。

引用文献

- 1) 綾野雄幸・太田富貴雄・渡辺幸雄・脇田修平 (1979) : アミロメイズ澱粉のラット消化管内における消化の様相, 澱粉科学, **26**, 165-174.
- 2) BORCHERS, R. (1962) : Digestibility of the starch of high amylose corn by rats, *Cereal Chem.*, **39**, 145-146.
- 3) DANIELSSON, H. and B. GUSTAFSSON (1959) : On serum-cholesterol levels and neutral fecal sterols in germ-free rats. *Bile acids and steroids* 59, *Arch. Biochem. Biophys.*, **83**, 482-485.
- 4) EASTWOOD, M. A., R. ANDERSON, W. D. MITCHELL, J. ROBERTSON and S. POCKOCK (1976) : A method to measure the adsorption of bile salts to vegetable fiber of differing water holding capacity, *J. Nutrition*, **68**, 1429-1432.
- 5) FISHER, R. A. (1970) : Statistical methods for research workers, Olyver and Royd Ltd, U. K., 140-142.
- 6) 藤本滋生・永浜伴紀・蟹江松雄 (1971) : 甘薯澱粉の内部油分に関する研究 (第1報) 脂肪酸組成について, 農化, **45**, 62-67.
- 7) GALLANT, D., M. CHRISTIANE and A. GUILBOT (1972) : Electron microscopy of starch granules modified by bacterial α -amylase *Cereal Chem.*, **49**, 354-365.
- 8) HARPER, A. E. (1959) : Amino acid balance and imbalance, 1. Dietary protein level of protein and amino acid imbalance, *J. Nutrition*, **68**, 405-418.
- 9) KELLOGG, T. F. and B. S. WOSTMANN (1966) : The effect of carbohydrate digestibility on fecal steroids, *Biochim. Biophys. Acta*, **125**, 617-619.
- 10) KELLOGG, T. F. (1971) : Microbiological aspects of enterohepatic neutral and bile acid metabolism, *Federation Proc.*, **30**, 1808-1814.
- 11) KIRIYAMA, S., A. ENISHI and K. YURA (1974) : Inhibitory effect of konjac mannan on bile acid transport in the everted sacs from rat ileum, *J. Nutrition*, **104**, 69-78.
- 12) KRITCHEVSKY, D. and J. A. STORY (1974) : Binding of bile salts in vitro by non-nutritive fiber, *J. Nutrition*, **104**, 458-462.
- 13) NATH, N. and B. SINGH (1970) : Effect of dietary level of protein on serum cholesterol, serum lecithin-cholesterol acyl transferase activity & on faecal sterol & bile acid excretion in the rat, *Indian J. Biochem.*, **7**, 267-270.
- 14) 太田富貴雄・平山けい子・横井正・渡辺幸雄・綾野雄幸 (1986) : 難消化性の生アミロメイズ澱粉がラットの血清コレステロール値におよぼす二面的効果について, 千葉大園芸学部学術報告, **38**, 19-27.
- 15) PATTERSON, M. S. and R. C. GREENE (1965) : Measurement of low energy beta-emitters in aqueous solution by liquid scintillation counting of emulsions, *Anal. Chem.*, **37**, 854-857.
- 16) PORTMAN O. W., E. Y. LAWRY and D. BRUNO

- (1956) : Effect of dietary carbohydrate on experimental induced hypercholesterolemia and hyperbetalipoproteinemia in rats, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **91**, 321-323.
- 17) SACQUET, E., C. LEPRINCE and M. RIOTTOT (1983) : Effect of amylo maize starch on cholesterol and bile acid metabolisms in germfree (axenic) and conventional (holoxenic) rats, *Reproduction Nutrition Développement*, **23**, 783-792.
- 18) SENT, F. R. (1967) : Starch, chemistry and technology II Industrial aspects, edited by WHINTLER, R. L. and E. F. PASCHAL, Academic Press, U. S. A., 499-522.
- 19) VAN HANDEL, E. and D. B. ZILVERSMIT (1954) : Micromethod for the direct determination of serum triglycerides, *J. Lab. Med.*, **50**, 152-157.
- 20) WILSON, T. H. and G. WISEMAN (1954) : The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface, *J. Physiol.*, **123**, 116-125.
- 21) ZAK, B. N., A. MOSS, J. BOYLE and A. ZLTKIS (1954) : Reaction of certain unsaturated steroids with acid iron reagent, *Anal. Chem.*, **26**, 776-777.