

はとむぎ, はとむぎテンペの ラットコレステロール代謝改善作用に関する研究

岡本 基, 臼井真一, 岡崎三代¹⁾

要 約

はとむぎ(*Coicis semen*)をテンペ菌(*Rhizopus oligosporus*)で発酵したはとむぎテンペ(テンペ)の血清コレステロール代謝に対する作用を検討した。生後12週齢のSprague-Dawley系雄ラットに市販固形飼料(コントロール群), はとむぎ混合飼料(はとむぎ群), テンペ混合飼料(テンペ群)を投与し, 2, 6, 18週間後に高速液体クロマトグラフィ法で血清コレステロールを測定した。体重増加, 総コレステロールはいずれの時点でも3群間に差がなかったが, テンペ群では投与前と比較して2, 6, 18週間後にLDLコレステロールが有意に低下し, LDLコレステロール/HDLコレステロール比も2, 18週間後に有意に低下した。テンペ群はコントロール群と比較してもLDLコレステロールとLDLコレステロール/HDLコレステロール比が低く, はとむぎ群でも低い傾向がみられたが, 有意差はなかった。以上から, テンペがコレステロール代謝改善作用をもつことが示唆された。

キーワード: はとむぎ, はとむぎテンペ, コレステロール, ラット

はじめに

癌, 虚血性心疾患, 糖尿病, 高血圧など生活習慣病の予防が大きな課題になっているが, 食生活は健康管理と疾病予防の基本であり, 国民の健康食品や機能性食品に対する関心も高い。したがって, 安全で, 手軽に日常食品として利用でき, 疾病予防効果をもつ食材の開発は今後非常に重要になると考えられる。

テンペ菌(*Rhizopus oligosporus*)は藻菌類クモノスカビ属に属する真菌で, 東南アジアとくにインドネシアでは古くからハイビスカスの葉等についたテンペ菌で大豆を発酵し, 食材にしている。テンペ菌発酵食品の健康促進作用は以前から注目されており, 岡山県でも近年テンペ菌で発酵した大豆, 味噌, 黒豆, はとむぎ等が健康食品として製造, 販売されている。学術研究もかなり行われており, 著者らが調べた範囲では1965年から2004年の間に66編の英文論文があり, 内10編が我国の研究者による論文であるが, 加工方法や成分分析に関するものが多い。医中誌を検索すると過去5年間で3編の日本語の論文が

あり, 抗アレルギー作用¹⁾, 抗酸化作用²⁾, 血栓溶解作用³⁾が報告されている。はとむぎ(*Coix lachryma-jobi* L. subsp. *mayuen* T. Koyama)は中国を経て享保年間に我国に伝わったイネ科の一年草で, 在来種のジュズダマ(*Coix lachryma-jobi* L.)と類縁の植物である。漢方では, はとむぎの種皮を除いて乾燥したものを「よくいにん(*Coicis semen*)」と呼び, 日本薬局方でも認められている。利尿, 消炎, 鎮痛, 滋養薬として使われるほか, 民間では疣取りの特効薬として, また美肌効果のある食品として用いられてきた。和漢薬百科図鑑にはよくいにんはcoixenolideを含み吉田肉腫やマウスのエールリッヒ腹水癌の増殖阻止作用があるとも記載されている⁴⁾。このほか, 我国では脳波や行動に対する影響も分析されているが, 脂質代謝への作用を検討したものはない。「はとむぎテンペ」ははとむぎをテンペ菌発酵したは岡山県のオリジナル商品で, 健康維持効果が期待されるものの, その作用を科学的に分析した研究はヒトでも, 動物でも行われていない。そこで, 本研究でははとむぎと, はとむぎテンペの血中脂質

に対する影響をラットを用いて検討した。参考までにテンペ菌発酵した大豆とはとむぎの一般的成分を表1に示した(表1)。

方 法

本研究は、「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和48年法律第105号)及び「実験動物の飼育及び保管に関する基準」(昭和55年総理府告示第6号)に従って行った。

1. 飼料の作製

はとむぎ粉末は市販のはとむぎを精白後、粉末化したものを使用した。したがって、よくいにん(Coicis semen)とほぼ同じものを使用したことになる。はとむぎテンペは、我国で販売されているテンペ菌の中でカビ毒の安全性検定がなされている秋田今野商店のテンペ菌(Rhizopus oligosporus, NRRL 2710株)で精白はとむぎを発酵して作製し、これを凍結乾燥後、粉末化した。はとむぎ粉末とはとむぎテンペの作製は山陽カラーフォト、はとむぎテンペの凍結乾燥と粉末化は岡山県工業技術センターに依頼した。はとむぎ粉末、またははとむぎテンペ粉末を市販のラット・マウス用飼料(MF飼料、オリエンタル酵母)と1:1の割合で混合、液状化し、ペレット状にしたものを熱風乾燥して固形化した(それぞれはとむぎ添加飼料、テンペ添加飼料と呼ぶもの)を用いた。はとむぎ添加飼料、テンペ添加飼料の作製はオリエンタル酵母に依頼した。コントロール群には市販の固形MF飼料を用いた。

2. ラット及び飼料の投与

対象には生後12週齢のSprague-Dawley(SD)系雄ラット(チャールズリバー)19匹を用いた。これを与える飼料により以下の3群に分けた。

コントロール群(7匹):市販固形MF飼料投与

はとむぎ群(6匹):はとむぎ添加飼料投与

はとむぎテンペ群(6匹):テンペ添加飼料投与

ラットは12時間の明暗サイクル、22~26℃の環境で、2~3匹ずつ飼育ケージに入れて飼育し、24時間自由に飼料と水を摂取できるようにした。水は、3群とも水道水を与えた。

3. 血中脂質の測定

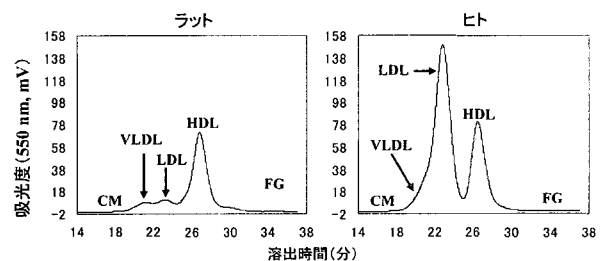
ラット購入後1週間、健康状態を観察してから3群に分けて飼料の投与を開始した。投与開始直前、2週間、6週間、18週間後にエーテル麻酔下で午後3時から5時の間に尾静脈から血液約0.5mlを採取し、血清を分離した。また、採血直前に体重を測定した。血清脂質は、Okazakiらが開発した高速液体

クロマトグラフィー(HPLC)法で測定した⁵⁾。血清中の脂質は、カイロミクロン(CM)、超低比重リポ蛋白(VLDL)、低比重リポ蛋白(LDL)、高比重リポ蛋白(HDL)の形で存在し、一部が遊離グリセロール(FG)として存在する。Okazakiらの方法ではこれら各分画のコレステロールとトリグリセリド(中性脂肪)を短時間で正確に測定できる。測定値の統計解析はANOVAとStudent's t-testにより行った。

結 果

図1にラットとヒトのHPLCパターンを示した。ラットでは血清コレステロールの大部分がHDL分画に検出され、ヒトと比較してLDLコレステロールが非常に低値であった(図1)。トリグリセリドは大部分がVLDL、一部がFGとして存在し、他の分画は低値であった。

図1 ラットとヒトのHPLCパターン



ラットとヒトのHPLCによるコレステロールの分析例。横軸は溶出時間(分)、縦軸は550nm(EMSE)の吸光度(mV)を示す。略号は;CM:カイロミクロン, VLDL:超低比重リポ蛋白, LDL:低比重リポ蛋白, HDL:高比重リポ蛋白, FG:遊離グリセロール。コレステロールはラットでも、ヒトでもほとんどVLDL, LDL, HDLとして存在するが、ラットではヒトと比べてLDLコレステロールが低い。

表2に体重と総コレステロール、総トリグリセリドの変化を示した。実験開始時の体重がはとむぎテンペ群で低い傾向がみられたが、これは前もって体重を測定せずグループ分けを行ったための偶然であり、その後の体重増加には3群間で差がなかった(表2)。個々のラットの摂食、摂水量がチェックできないため、飼料と水の摂取量は測定しなかったが、体重増加、飼料と水の消費量、床敷の汚染程度から、3群間で摂食、摂水量には差はないと考えられた。総コレステロールと総中性脂肪値はいずれの測定時点でも3群間に差がなかった(表2)。

コレステロール分画をみると、VLDLコレステ

ロールは18週間後にはとむぎ群で低下する傾向がみられたものの3群ともほぼ一定しており、明らかな変化がみられなかった(表3)。LDLコレステロールははとむぎテンペ群で減少する傾向がみられ、2, 6, 18週後ともコントロール群と比較して低値であったが、個体間のばらつきが大きく有意差はなかった。しかし、投与前と比較すると有意に低下していた(表3)。HDLコレステロールははとむぎ群、はとむぎテンペ群で増加する傾向がみられたが有意差はなかった。

ヒトでは動脈硬化になりやすい要因として総コレステロール値のほかLDLコレステロールとHDLコレステロールの比が問題になり、LDLコレステロール高値は動脈硬化を促進し、HDLコレステロール高値

は動脈硬化を抑制するとされる。VLDLコレステロールもLDLコレステロールと同様にはたらくと考えられている。そこで、VLDLコレステロール、LDLコレステロールとHDLコレステロールの比を3群で比較してみた(表4)。LDLコレステロール/HDLコレステロール値は、はとむぎテンペ群で投与前と比べて2, 18週間後に有意に低下していた(表4)。はとむぎ群でも低下傾向がみられたが有意差はなかった。VLDLコレステロール/HDLコレステロール値、VLDL+LDLコレステロール/HDLコレステロール値もはとむぎ群、はとむぎテンペ群で低下する傾向がみられたが、ばらつきが大きくコントロール群、投与前開始前のいずれとも比べても有意差がなかった。

表1 はとむぎテンペと大豆テンペの一般成分

	水分	蛋白質	脂肪	炭水化物	灰分	カロリー
はとむぎテンペ	60.1	6.4	0.4	32.9	0.2	161
大豆テンペ	60.5	16.6	9.5	12.4	1.0	202

表2 体重と総コレステロール、総トリグリセリドの変化

	体 重			
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	479.3±23.5	517.4±24.2	575.4±42.7	680.6±53.8
はとむぎ添加飼料	461.7±37.6	506.3±37.1	582.6±59.6	683.6±81.1
テンペ添加飼料	433.3±39.8	475.2±43.6	541.7±51.5	646.3±61.4

	総コレステロール			
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	72.6±9.4	64.9±10.8	76.1±10.0	74.9±19.6
はとむぎ添加飼料	67.2±10.6	65.0±15.2	82.5±16.1	75.3±20.1
テンペ添加飼料	60.9±8.8	56.6±17.4	71.1±11.6	73.4±8.7

	総トリグリセリド			
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	125.7±42.4	136.6±38.6	161.5±64.1	142.4±40.3
はとむぎ添加飼料	117.1±40.8	140.9±43.7	156.7±74.8	116.6±51.0
テンペ添加飼料	106.8±44.7	126.8±76.9	149.3±70.1	174.1±86.8

表1 大豆テンペとはとむぎテンペの一般的成分。表の数値は100gあたりの含有量(g)を示す。ただし、カロリーはkcal。

表2 体重と総コレステロール、総トリグリセリドの変化。テンペ添加飼料：はとむぎテンペ添加飼料。

表3 コレステロール分画の変化

VLDLコレステロール				
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	8.3±2.8	10.6±4.8	7.8±2.4	7.5±3.7
はとむぎ添加飼料	6.6±0.8	7.3±1.6	6.8±2.6	4.8±2.5
テンベ添加飼料	6.8±2.3	6.7±2.3	6.8±4.2	7.0±4.3
LDLコレステロール				
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	6.8±2.4	5.5±1.8	6.6±2.4	4.1±2.3
はとむぎ添加飼料	6.8±1.5	4.1±1.2	4.4±1.9	5.3±3.5
テンベ添加飼料	6.3±0.7	3.3±1.1*	3.9±1.3*	2.4±0.9*
HDLコレステロール				
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	57.5± 9.6	48.9±13.2	61.7±11.6	63.3±20.5
はとむぎ添加飼料	53.7±10.4	53.6±16.0	71.2±18.7	65.2±19.8
テンベ添加飼料	47.9± 9.0	46.6±16.6	60.4±16.4	64.0±12.5

表4 コレステロール分画比の変化

VLDLコレステロール/HDLコレステロール				
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	0.15±0.05	0.25±0.18	0.13±0.05	0.13±0.07
はとむぎ添加飼料	0.13±0.03	0.15±0.08	0.04±0.05	0.09±0.07
テンベ添加飼料	0.15±0.07	0.17±0.09	0.07±0.08	0.12±0.09
LDLコレステロール/HDLコレステロール				
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	0.13±0.06	0.12±0.04	0.12±0.06	0.08±0.05
はとむぎ添加飼料	0.13±0.04	0.08±0.04	0.07±0.05	0.09±0.06
テンベ添加飼料	0.14±0.03	0.07±0.01*	0.08±0.07	0.04±0.02*
VLDL+LDLコレステロール/HDLコレステロール				
	投与前	2週間後	6週間後	18週間後
市販MF飼料	0.27±0.09	0.36±0.20	0.25±0.09	0.21±0.12
はとむぎ添加飼料	0.26±0.06	0.24±0.11	0.18±0.13	0.11±0.17
テンベ添加飼料	0.28±0.08	0.24±0.10	0.23±16.4	0.17±0.11

表3 コレステロール分画の変化。*：投与前と比較してP<0.01。

表4 コレステロール分画比の変化。*：投与前と比較してP<0.01。

考 察

はとむぎテンペ混合飼料を投与したラットでは、投与前と比べて2～18週間後にLDLコレステロールが低下した。総コレステロール、HDLコレステロールはほとんど変わらず、2, 18週間後にはLDLコレステロール/HDLコレステロール比も低下した。はとむぎ混合飼料を投与したラットでもはとむぎテンペ群と同様の傾向がみられたが、投与前やMF飼料投与群との間に有意差はみられなかった。したがって、はとむぎ(よくいにん)をテンペ菌で発酵することにより脂質代謝改善作用が生まれる可能性が示されたが、十分な実験的証拠は得られなかったと言える。また、はとむぎ自体に同様の作用がある可能性も除外できない。

統計的有意差がみられなかった最大の要因は測定値のばらつきである。この原因として、第一に摂食の影響が考えられる。血中の脂質、とくにトリグリセリドは食後劇的に上昇する。この影響を避けるため午後3～5時というラットが普通眠っている時間帯に採血したが、はとむぎ群、はとむぎテンペ群にも中性脂肪が非常に高いサンプルがあった。そこで、トリグリセリド200mg/dlのサンプルのデータを除外して分析してみた。その結果、はとむぎ群、はとむぎテンペ群で総トリグリセリドが6, 18週間後に低下する傾向がみられたが(未発表データ)、投与前やコントロール群との間に有意差はなかった。また、結果に示したコレステロール分画、分画比の結果には変化がなかった。これは、トリグリセリド値は採血直前の摂食の影響を受けるが、コレステロール分画、分画比は影響を受けにくく、はとむぎテンペ群でみられたLDLコレステロールやLDLコレステロール/HDLコレステロール比の低下は採血前の摂食量がたまたま少なかったためではないことを示している。ばらつきの第二の原因は溶血である。尾静脈からの採血の際どうしても血液が毛に触れて溶血が起こる。今後、採血前に2ないし4時間の絶食期間を置くことや溶血を防ぐ工夫が必要である。

今回の研究ではとむぎテンペに脂質代謝改善作用がある可能性が示されたが、これを確認するには測定値のばらつきを減らす工夫のほか、リポ蛋白欠損

マウス、糖尿病マウス等脂質代謝以上をもつ動物を用いた実験や数ヶ月単位の長期投与、老齢ラットでの検討も必要である。しかし、ラットではLDLコレステロール濃度がもともとヒトに比べて低く、ヒトにみられるようなアテローム硬化は起らないため、ラットでの実験結果をそのままヒトにあてはめるのは早計であり、最終的にはヒトでの検討が必要であろう。はとむぎやはとむぎテンペの脂質代謝に対する作用を検討した報告はないが、大豆や南米の主食穀物のひとつであるキノアをテンペ菌発酵すると血栓溶解作用や抗酸化作用が増強することが報告されており^{2),3)}、テンペ菌発酵によって血栓や動脈硬化を予防する作用をもつ食品ができることが示唆されている。今回の研究でも、はとむぎをテンペ菌で発酵することにより、はとむぎのコレステロール代謝改善作用が増強するか、改善作用が生まれる可能性が示された。しかし、これまでの研究では詳細な成分分析が行われていないため、テンペ菌発酵によってはとむぎの成分がどう変化するのか、有効成分が何であるかは不明であり、今後これらの点を明らかにする必要がある。また、成書にははとむぎの抗腫瘍作用はアセトン溶出成分にあるとの記載もあり⁴⁾、テンペ発酵によって逆に機能性成分が失われる可能性がある。したがって、機能成分を同定し、加工方法によってそれがどう変化するかを分析することも必要である。

文 献

- 1) 長谷川昇, 石田和夫, 山田徳広: テンペ水抽出物のコンパウンド48/80によるヒスタミン遊離抑制効果. 日本家政学会誌, 54: 1041-1043, 2003.
- 2) 松尾眞砂子: キノアテンペ(テンペ菌で発酵させたキノア)の抗酸化作用. 日本栄養・食糧学会誌, 56: 91-95, 2003.
- 3) 須見洋行, 岡本猛: テンペ水抽出液の血栓溶解活性. 日本家政学会誌, 54: 337-342, 2003.
- 4) 難波恒雄: 和漢薬百科事典 I. 306-309, 保育社: 大阪, 1993.
- 5) Okazaki, M., Usui, S. and Hosaki, S.: Analysis of plasma lipoproteins by gel permeation chromatography. In Handbook of lipoprotein testing, 2nd Ed., (Rifai, N., Warnick, G. R. and Dominiczak, M. H. eds.), 647-669, AACC Press: Washington DC, 2000.

The effect of Coicis semen and Rhizopus oligosporus-fermented Coicis semen (tempeh) on serum cholesterol in the rat

Motoi OKAMOTO, Shinichi USUI, Mitsuyo OKAZAKI¹⁾

Abstract

The effect of Coicis semen and Rhizopus oligosporus-fermented Coicis semen (tempeh) on serum cholesterol fractions was examined in the rat. Twelve-week-old male Sprague-Dawley rats were received commercial MF meal (control group), Coicis semen-containing MF meal (Coicis semen group), or tempeh-containing MF meal (tempeh group). Cholesterol fractions were analyzed by high performance liquid chromatography at the start of experiment, and 2, 6, 18 weeks later. No difference was found in body weight nor total cholesterol among the three groups. LDL cholesterol was significantly lowered in the tempeh group at 2, 6, 18 weeks. LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio also decreased at 2 and 18 weeks. In the both Coicis semen- and tempeh-fermented groups, LDL cholesterol and LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio were lower than the control group although they were not statistically significant. No difference was found in HDL cholesterol among the three groups. The results suggest that tempeh may have a favorable effect on cholesterol metabolism.

Keywords : Coicis semen, Rhizopus oligosporus, tempeh, cholesterol, rat

Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Okayama University Medical School
1) College of Liberal Arts and Sciences, Tokyo Medical and Dental University