食餌性脂肪肝に関する研究(第1報)

Studies on Dietary Fatty Liver (Report 1)

白米食の脂肪肝生成に及ぼす影響について
Rice feeding and the formation of fatty liver

(昭和 37 年 12 月 25 日 受理)

中 村 延生蔵 山 田 幸 二 高 橋 効
(Nobuzô Nakamura) (Kôji Yamada) (Isao Takahashi)

The formation of the fatty liver, the growth of rats and their nitrogen balance, through the addition of DL-methionine, L-lysine, L-threonine, and L-tryptophan to rice protein diet were investigated.

(1) The rice protein diet with 0.36% DL-methionine caused the fatty liver. The addition of 0.4% L-lysine HCl, 0.3% L-threonine, and 0.1% L-tryptophan promoted the growth and inhibited the formation of the fatty liver.

(2) The content of rice protein had a certain relation with the formation of the fatty liver. But in case of 10% or 15% protein level this was not evident.

(3) The enriched protein content and the improvement of the amino acid composition in diet were found to increase the nitrogen content in the liver.

低蛋白食による脂肪性肝臓の生成とアミノ酸の効果は Singal¹⁾ の研究に始まり、その後白米食と脂肪肝につき Harper²⁾ らによって研究が進められた。特に、Harper はスレオニン欠乏の状態に於いて肝臓に脂肪が蓄積することを認めている。しかし著者³⁾ らは、白米にはリジン、トリプトファン、またはリジン、スレオニン、トリプトファンを添加することによって肝臓に脂肪の蓄積するのを防ぐとともに、多脂肪食の場合にも成長を促進することを明らかにした。しかし、リジンまたはスレオニンの単独添加に於いては肝臓中の脂肪の蓄積を防ぐことはできなかった。なお、Harper³⁾ らは低カゼイン食にメチオニンを添加することによって肝臓に脂肪の蓄積することを明らかにしている。が、そこで、白米食にメチオニンを添加した場合に於いてもメチオニン食の場合と同様に脂肪が果して蓄積するかどうか、また、リジン、スレオニン、トリプトファンのそれぞれの効果について、また、蛋白レベルを加減したときのリジン、スレオニン、トリプトファンの補足効果ならびに脂肪性肝臓の生成に及ぼす影響につき実験を行なったので報告する。

<実 験 1>

実験動物は Wistar 系の 40~50g の白ネズミを使用

し各群 5 匹ずつとして 20 日間飼育した。なお、飼料、水は自由摂取法にて行なった。

飼料組成は第 1 表の通りにて、飼料中の N レベルを 1.37% とし、その内、白米の N が 1% で他はアスパラギンとグルタミン酸とにて補足した。第 I 群は白米蛋白そのまゝの状態にて対照群とし、第 II 群は必須アミノ酸含量をカゼインの必須アミノ酸含量と同一にするためリジン、イソロイシン、ヒスチジンを添加した。第 III 群には第 II 群のアミノ酸添加量にさらにメチオニン 0.36% を添加し、第 IV 群にはメチオニン 0.36%、リジン 0.4%、スレオニン 0.3%、トリプトファン 0.1% を添加した。また、第 V 群にはメチオニンを添加せず、リジン 0.4%、スレオニン 0.3%、トリプトファン 0.1% のみを添加し、各群に於ける N レベルの差はアスパラギン、グルタミン酸で補足して N レベルを 1.37% として試験した。各群の計算上のアミノ酸組成は第 2 表の如くなる。

実 験 結 果

体重増加 : 体重は 2 日毎に測定した。その結果は第 1 図の通りである。白米蛋白だけの第 I 群が発育が最も悪い。第 I 群に比して、第 II 群、第 III 群の成長は改善されているが、群間に於いては有意な差は認められない。第 IV 群及び第 V 群はともにリジン、スレオニン、トリプト

第1表 飼 料 組 成

	I	II	III	IV	V
白 米 粉	82.77	82.72	82.45	81.39	82.53
白 米 蛋 白	5.31	5.34	5.46	5.41	5.42
ラ ー ド	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
マ 氏 塩 (1)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
総 合 ビ タ ミ ン (2)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
塩 化 コ リ ン	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
L-リジン塩酸塩		0.17	0.17	0.4	0.4
L-スレオニン				0.3	0.3
L-トリプトファン				0.1	0.1
DL-メチオニン			0.36	0.36	
L-イソロイシン		0.05	0.05		
L-ヒスチジン塩酸塩		0.05	0.05		
アスパラギン (3)					
グルタミン酸	2.27	2.02	1.81	1.39	1.60

(注) (1) No. 185 (2) 武田薬品のパンビタン末

(3)アスパラギン3：グルタミン酸2

第2表 アミノ酸組成

	I	II	III	IV	V
Lys.	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Try.	0.27	0.16	0.16	0.26	0.26
Phe.	1.27	0.73	0.73	0.47	0.47
Met. } Cys. }	0.80	0.46	1.35	0.86	0.29
Thr.	0.99	0.57	0.57	0.84	0.84
Leu.	2.18	1.26	1.26	0.80	0.80
Iso.	1.18	0.81	0.81	0.44	0.44
Val.	1.77	1.02	1.02	0.65	0.65
Arg.	1.45	0.84	0.84	0.54	0.54
His.	0.42	0.37	0.37	0.15	0.15

(注) Lys. を1.0として計算した。

ファンの添加によって発育はさらに促進された。しかし、メチオニンを添加した第IV群と添加しない第V群の間に於いては殆んど差は認められなかった。このことは第II群と第III群に於いても同様で、換言すれば、体重の増加についてのメチオニンの効果は殆んど認められなかった。

N 出納： N 効率は毎日摂取量を測定して算出し、また、N出納は実験開始後18～20日目の3日間採糞採尿して測定した。その結果は第3表の通りである。N出納はいずれの群も正にあったが、中でも第IV群と第V群の値

第1図 体重増加曲線

が最も高く、白米蛋白群が最も低かった。なお、摂取N量は第IV群と第V群がともに多く、蓄積N量も多かつ

第3表 増 体 量, N 効 率

* 標準誤差

群 別	摂取N (mg)	吸収N (mg)	蓄積N (mg)	N効率 (%)	増体量 (g)
I	173.8±4.54	155.4±4.92	99.3±14.52	64.07±9.64	34.3±2.01*
II	163.4±11.44	164.2±8.71	122.0±2.48	83.90±3.54	45.9±4.85
III	183.0±15.54	167.0±12.54	154.4±9.56	92.70±4.04	43.4±3.56
IV	203.7±6.56	181.2±6.48	161.5±3.86	89.24±2.19	70.7±4.07
V	224.9±0.55	203.5±0.89	174.0±7.09	80.73±2.96	66.7±5.12

た。この事実は、アミノ酸バランスが良く体重の増加がよくなると同時に摂取量も多くなることを示すものと考えられる。しかし、N効率に於いて同様の傾向は認められるが必ずしも発育の成果と正比例しない場合もある。これは動物の大きさや測定の時期、摂取N量などによって異なる。第IV群や第V群は発育が良いにもかかわらず、本試験に於いては第II群や第III群よりも低い値を示している。しかし、発育の悪い第I群との間には明らかに差が認められている。

肝臓脂肪：実験食開始後20日目に心臓採血し、解体して肝臓を取り出し、凍結乾燥後エーテル抽出により肝臓脂肪の定量をした。その結果は第2図の通りである。第I群と第II群の間には有意差が認められなかったが、第I群および第II群と第III群間に於いては明らかに差が認められる。したがって第II群にメチオニンを添加すると肝臓中に脂肪の蓄積されることが確認される。しかし、第III群にリジンを増し、スレオニン、トリプトファンを添加した第IV群と第V群との間に於いては、また、明らかな差があり、肝脂は著しく低下している。また、第IV群に比べて第V群の肝脂の蓄積はさらに低下の傾向を示している。このことはメチオニン添加によって白米蛋白

第2図 肝 脂 量

食に於いても肝臓に脂肪は蓄積される。しかし、リジン、スレオニン、トリプトファンなどを加えてアミノ酸

第3図 肝 脂 I. V.

バランスを改善すれば肝脂の蓄積は防止することができるし、また、成長も改善されることを示すものと考えられる。

肝臓脂肪の沃素価：エーテルにて抽出した脂肪を wijs⁶⁾ 法により沃素価を測定した。その結果は第3図の通りにて、第I群、第II群、第III群に於いては有意差は認められなかったが、第IV群と第V群に比べると明らかに差は認められる。第III群にみられる如く、一般に食餌性脂肪の脂肪の沃素価は食餌中の脂肪の沃素価に近くなる。

考 察

白米蛋白に対するアミノ酸の補足効果については L. J. Pecora⁷⁾ らによって最大の効果はリジン、スレオニンであることを認めているように、白米にリジン 0.4%, スレオニン 0.3%, トリプトファン 0.1% 添加群が最大の成長を示した。しかし、メチオニンを添加しても成長促進作用も害作用も認められなかった。N出納に於いてもリジン、スレオニン、トリプトファンを添加することによってアミノ酸バランスが改善され、摂取量も、また、体内に保留されるN量も多くなる。しかし、N効率は必ずしも体重の増加に比例して改善されなかった。これは動物の大きさ、摂取量などが異なったためにこうした結果を示したものと思われる。従って、飼料の摂取量が多くなるから動物の体重が大きくなると考えられるが、しかし、この場合は、アミノ酸バランスが改善され、その結果成長が促進され体重が増加して摂取量が多くなったと見る方が妥当であろう。

白米食が脂肪性肝臓を生成しやすいことは Harper²⁾ らによっても認められているが、本実験からも明らかである。食餌性脂肪肝の生成という現象は特定蛋白質による特異の現象でなく低蛋白食に於いて、しかもアミノ酸バ

ランスが良くない場合に起こるものと思われる。白米にリジン0.4%,スレオニン0.3%,トリプトファン0.1%を添加することによって脂肪性肝臓の生成は抑制される。また、白米にメチオニンを添加すれば白米単独よりも肝臓に脂肪の蓄積が増加することを明らかにした。また、白米食にメチオニンを添加しても、リジン0.4%,スレオニン0.3%,トリプトファン0.1%を添加すれば、脂肪性肝臓の生成を阻止することができることを明らかにした。Harper⁹⁾は、白米食に於いてはスレオニンを0.5%添加では防ぐことはできないが、0.3%添加すれば肝臓の生成を防ぐことを明らかにし、白米食に於けるスレオニンの特別な作用としている。しかし、脂肪の生成ならびに抑制は食餌中の蛋白質のアミノ酸、特に、メチオニン、リジン、スレオニン、トリプトファンなどのバランスによるもので、スレオニンの特性とは認められない。なお、肝臓に蓄積した脂肪の沃素価は、一ノ瀬⁹⁾らによれば、飼料中の脂肪の沃素価に近づくとも報告しているが、このことは必ずしもそうではない。正常な肝臓に於いては飼料中の脂肪がそのまま蓄積されるとは考えられない。それは飼料中の蛋白質のアミノ酸組成を変えることによって肝臓の沃素価が著しく変化することからもわかる。ただし、食餌性脂肪肝として肝臓中に脂肪が特別に多くなる場合には、飼料中の脂肪の沃素価に近づくことが認められる。正常な肝臓の場合は、肝臓の沃素価は110~120程度で各々一定であり、Viollier⁹⁾の報告している如く肝臓は飼料中脂肪で影響されないと思われる。

<実験 II>

蛋白レベルおよびそのアミノ酸組成による動物の成長、食餌性肝臓の生成に及ぼす影響について実験を行った。

白米蛋白は白米をアミラーゼで処理し、澱粉質を除いて蛋白含量を高くして用いた。動物の種類および飼育方

第4表 飼 料 組 成

	I	II	III	IV	V	VI
白 米 蛋 白	5.0	5.0	10.0	10.0	15.0	15.0
ラ ド	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
無 機 塩 ⁽¹⁾	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
総 合 ビ タ ミ ン ⁽²⁾	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
塩 化 コ リ ン	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
L - リ ジ ン		0.4		0.5		0.8
L - ス レ オ ニ ン		0.3		0.4		0.6
DL - ト リ プ ト フ ァ ン		0.1		0.15		0.2

(注)(1) マツカラム塩No. 185

(2) 武田薬品工業K・Kパンビタン末

(190)

法は実験Iと同じである。飼料組成は第4表の通りである。脂肪を15%、無機塩類4.0%、総合ビタミン(パンビタン末)0.5%、塩化コリン0.15%を加えた。第1群は蛋白(N×6.25)を5%とし、第II群は第I群にリジン0.4%、スレオニン0.3%、トリプトファン0.1%を添加し、第III群は蛋白10%、第IV群は第III群にリジン0.5%、スレオニン0.3%、トリプトファン0.15%を添加し、第V群は蛋白15%、第VI群は第V群にリジン0.8%、スレオニン0.6%、トリプトファン0.2%を添加して試験した。

実 験 結 果

体重増加： 体重増加曲線を示すと第4図の通りにて、5%、10%、15%と蛋白を増加することによって発育も良く、また、リジン、スレオニン、トリプトファンを添加することによって各レベル群に於いて補足効果が認められた。第I群に0.4%リジン、0.3%スレオニン、0.1%トリプトファンを添加することによって、10%蛋白レベルと同じ程度の発育を示した。10%レベルに於いてもアミノ酸を添加することによって15%蛋白レベルと略同じ程度の成長が認められた。白米蛋白5%に含有されるリジン、スレオニン、トリプトファンを添加すると白米蛋白5%を添加したと略同じ程度の効果が認められた。なお、N出納、飼料効率などは第5表の通りである。

N出納はいずれも正であった。蛋白レベルの高いものは蓄積N量も大きく、成長もよいが、蛋白相当量のリジン、スレオニン、トリプトファンのみを添加しても同じく

第4図 体 重 曲 線

N出納に於ける蓄積量は増加する。しかし、N効率に於いては10%蛋白レベルの場合、一番高く、15%になると多少低下する。また、飼料効率に於いては蛋白レベルが高くなるにしたがって高くなる。また、リジン、スレオニン、トリプトファンを添加しても同様である。したがって低蛋白食の場合のみでなく各蛋白レベルに於いて、リジン、スレオニン、トリプトファンの補足効果は認められる。

肝臓脂肪： 実験終了後、心臓採血を行ない肝臓を

第5表 飼料効率, N 効率

群 別	摂取N(mg)	吸収N(mg)	蓄積N(mg)	N 効率(%)	飼料効率(%)	増体量(20日間)
I	67.87	58.04	36.37	185±13	13.91±1.13	20±0.91*
II	98.99	84.53	76.94	305±32	26.28±2.77	48.2±2.23
III	184.02	162.15	124.18	145±30	25.04±1.37	46.0±1.84
IV	238.78	215.79	184.69	220±13	35.22±1.99	78.0±3.04
V	239.24	206.11	143.73	165±13	32.38±1.55	66.6±2.21
VI	335.55	301.15	227.74	142±4	37.08±1.03	87.6±1.86

(注) 数字は1日1頭当たり * : 標準誤差

取り出し、凍結乾燥後エーテル抽出にて脂肪量とした。
その結果は第5図の通りである。

蛋白5%レベルに於いては肝脂17%と蓄積を認めるが、リジン、スレオニン、トリプトファンの添加群に於いては脂肪が低下し有意差が認められた。10%, 15%の蛋白レベル群に於いては、ともに、特に多くの脂肪の蓄積は認められなかった。すなわち、第I群と第II群に於いてのみ有意差が認められたこととなり、換言すれば、食餌性脂肪肝は、程度は明らかでないが5%あるいは10%以下の低蛋白食に於いてのみ認められる現象であろう。なお、肝臓中の脂肪の沃素価に於いては大きな差は認められなかった(第6図)。

肝臓N量: 乾燥後粉末にした肝臓をマイクロケルダール法にてNの定量を行なった。その結果は第7図の通りである。肝臓のNは食餌中の蛋白含量にしたがって増加し、第III群および第V群ともに差が認められた。また、リジン、スレオニン、トリプトファンを添加すること

第5図 肝 脂 量

第6図 肝 脂 I. V.

第7図 肝 臓 N 量

によって各蛋白レベルに於いても5%水準にて差が認められた。したがって肝臓のN量は成長と略々同じ傾向を示すものと思われる。

考 察

動物の発育は Muramatsu¹⁰⁾ は動物の成長発育に於ける蛋白質の質の良さは蛋白レベルの低いほどよい結果

を示すとしているが、白米蛋白に於いても、5%、10%、15%レベルに於いて比較すると、5%蛋白レベルに於いてアミノ酸添加の効果がよく認められる。5%蛋白にリジン、スレオニン、トリプトファンを添加すると、10%白米蛋白に略々等しい成長効果を示し、また、10%白米蛋白にリジン、スレオニン、トリプトファンを添加すると、これもまた15%蛋白の場合と同じ成長効果を得た。すなわち、白米蛋白に於いてはリジン、スレオニン、トリプトファンの適量添加は蛋白レベルに関係なく動物の成長に補足的効果を示すことが認められる。その場合、N出納に於いても蛋白レベルが高くなるにしたがって体内に保留されるN量も多くなり、この傾向はリジン、スレオニン、トリプトファンを添加しても全く同様である。しかし、N効率は白米蛋白に於いては10%程度にて最高の値を示す。

食餌性脂肪肝の生成については、低蛋白食の時に現われる現象と考えられる。10%、15%と蛋白を高くすると生成されにくくなる。また、5%蛋白レベルに於いてもリジン、スレオニン、トリプトファンを添加すると、10%蛋白レベルの場合のN出納と殆んど同じ傾向を示し、脂肪性肝臓の生成は阻止される。

肝臓中のNと飼料の栄養価については、H. C. Harrison¹¹⁾、Cormock¹²⁾らがすでに成長が良い群ほど肝臓中のNが多いと報告している如く、本試験に於いても蛋白レベルの高いほど肝臓Nが多く、また、アミノ酸バランスを良くするほどNの増加も多くなっている。したがって、このことは蛋白質のアミノ酸バランスを改善することは、蛋白含量を高くすることと同じことになることとみなすことができる。

要 約

白米にメチオニン、リジン、スレオニン、トリプトファンを添加し、食餌性脂肪肝生成、成長、N出納などについて実験を行なった。なお、併せて蛋白レベルならびに

アミノ酸を添加して白米蛋白質のアミノ酸組成を改善することによってどのような影響を及ぼすかについて試験した。

白米食にメチオニンの量をリジン、スレオニンの量より多くすることによって脂肪性肝臓の生成を促進するが、リジン、スレオニン、トリプトファンの含量を多くすることによって抑制されることを明らかにした。

また、白米低蛋白に於ける脂肪肝の生成もリジン 0.4%、スレオニン0.3%、トリプトファン0.1%を添加することによって抑制されるとともに発育を促進される。白米蛋白に於いては蛋白レベル5%の場合のみ脂肪肝の生成が認められ、10%、15%レベルに於いては認められなかった。

肝臓中のN量は略々成長量と成長のよさに比例する傾向が認められた。

文 献

- 1) S. A. Singal: *Fed. Proc.*, 8, 251 (1949)
- 2) A. E. Harper, E. M. Winje D. A. Benton, & C. A. Elvehjem: *J. Nutrition.*, 50, 383 (1953)
- 3) 著者：第14回日本栄養・食糧学会総会、蛋白アミノ酸の栄養とその資源 p.81 (1960)
- 4) 著者：必須アミノ酸資源の利用に関する研究報告 p.29 (1959)
- 5) A. E. Harper: *J. Nutrition.*, 63, 405 (1959)
- 6) 京都大学農芸化学実験書, p.710
- 7) L. J. Pecora, J. M. Hundley: *J. Nutrition.*, 44, 101 (1951)
- 8) 一之瀬：医学と生物学, 59, 29 (1961)
- 9) Viollier: *Helv. Physiol. et Pharmacol. acta.* 7, c 26 (1949)
- 10) K. Muramatsu, K. Ashida: *Agr. Biol. Chém.*, 26, 25 (1962)
- 11) H. C. Harrison, C. N. H. Long: *J. Biol. Chem.*, 161, 545 (1954)
- 12) M. R. Cormack, H. W. Kosterlitz: *Brit. J. Nutr.*, 15, 199 (1961)

(宇都宮大学農学部農芸化学)