シジミの栄養学的研究(Ⅱ)

Studies on the Nutritional Evaluation of
“Shijimi” (*Corbicula altrata*)(Ⅱ)

アミノ酸インバランスにおけるシジミの影響

The effect of “Shijimi” in the liver of rats fed amino acid imbalanced diets

(昭和 39 年 11 月 24 日 受理)

稲垣 長典 金光 洋子 北島 照子
(Choten Inagaki) (Hiroko Kanemitsu) (Teruko Kitajima)

Young rats were fed *ad libitum* with diets containing 10% or 18% basal gluten, to which was added a) 0.35% L-Methionine and 0.7% L-Lysine, or b) 0.41g powdered SHIJIMI, or c) 0.5γ Vitamin B₁₂ each for an animal.

The addition of powdered SHIJIMI to the basal gluten diet elevated the level of enzymatic activities (xanthin oxidase activity in the liver, glutamic oxaloacetic transaminase activity in serum, and oxygen consumption [QO₂]).

The levels of liver nitrogen, liver fat and body weight of rats fed with diets containing powdered SHIJIMI showed normal physiological developments.

前報にて著者ら¹⁾は、四塩化炭素中毒によっておこる肝障害に対するシジミ粉末の効果を実験し、シジミ粉末投与によって四塩化炭素中毒肝をある程度予防することを知り、この有効成分の主なるものがビタミン B₁₂ であることについて報告した。肝臓疾患は栄養障害の中でも特に低蛋白飼料によってもまたアミノ酸インバランスによってもおこるので今回はアミノ酸インバランスによっておこる肝障害にも有効かどうかを研究せんとして行なった。アミノ酸インバランスの研究は Elvehjem²⁾ らによってはじめてみとめられその後多くの研究³⁾⁴⁾ が行なわれている。アミノ酸インバランスは体蛋白の合成に影響を与えるので、白ねずみなどの実験動物の体重増加量や体窒素量は減少する。肝脂肪については芦田、吉田ら⁵⁾ によりアミノ酸インバランスの際には蛋白質の利用量に対する相対的カロリーの摂取過剰となるので体脂質特に肝臓の脂肪量増加を来すという。また白ねずみを飢餓にした場合、または低または無蛋白質食にした時、肝の諸酵素特に肝 Xanthine Oxidase (X, O) 値、血清 G, O, T 値、Oxygen Consumption (Q O₂) 値に影響がみられる事はよく知られている⁶⁾⁷⁾⁸⁾。以上の如くアミノ酸インバランスによっておこる種々の障害に対してシジミ成分がいかに関与するかを B₁₂ と比較して実験を行なった。

実験の部

第 1 実験

1) 実験方法

a) 供試動物および飼育方法

実験に使用した動物は、生後30日前後の体重60~90 g の Wister 系白ずみ(雄)32匹である。はじめに約 1

表 1 飼料組成

成分	A	B	C	D
Gluten	13(g)*	13	13	13
Starch	45	44	45	45
Sucrose	30	30	30	30
混合塩	4	4	4	4
油(大豆油80 肝油20)	8	8	8	8
Tocopherol	5(mg)	5	5	5
L-Methionine	—	0.35	—	—
L-Lysine	—	0.7	—	—
シジミ粉末	—	—	1日1匹当たり 0.41	—
ビタミンB ₁₂	—	—	—	1日1匹当たり 0.5(r)

ビタミン 1 日 1 匹当たり

V. B₁ 40γV. B₂ 60γ

V. C 1.5mg

* Gluten 13g/100g は
蛋白として10%に相当

週間、標準固型飼料を与え、その後、各群の平均体重がほぼ等しくなるようにして8匹ずつ4群に分ける。

b) 飼料組成

表1に示す。

シジミ粉末は前報⁹⁾の如くにして調製し、*L. Leichmannii* を用うる微生物定量法によって B_{12} 量を測定した。

以上の組成のものを自由食として与えた。

c) 測定方法

体重測定：試験開始より隔日に測定する。

肝酵素定量法：ミクロキエルダール法による。

肝脂肪定量法：脂肪簡易定量法¹⁰⁾による。

肝O₂値測定法：Axelrod, Elvehjem らのワールブルグ検圧計による測定法を、一部変更した方法¹¹⁾によった。

血清 G, O, T 値測定法：Reitman-Frankel 法によっ

図1 体重曲線

た。

肝 Q O₂測定法：前報の如くしてワールブルグ検圧計により肝臓 (wet)/mg 当たりの酸素消費量 (μl) を求める。

2) 実験結果

以上の実験結果を図1, 表2, 3, 4, 5, 6に示す。

以上の結果より体重増加量はインバランス群とアミノ

表2 1日平均増加体重 (g)

群 No.	A	B	C	D
1	0.1	1.7	0.8	0.8
2	0.4	2.8	1.1	0.5
3	0.4	2.2	1.4	0.7
4	0.1	2.0	1.0	0.5
5	0.6	1.9	0.7	0.8
6	0.3	1.3	0.6	0.6
7	0.3	1.6	1.0	0.8
8	0.3	1.0	0.6	0.7
平均	0.3±0.09	1.8±0.23	0.9±0.11	0.7±0.05

表3 肝脂肪 (% in dry liver)

群 No.	A	B	C	D
1	16.1	25.5	30.0	18.6
2	15.1	21.5	20.4	13.5
3	15.7	45.6	24.7	16.9
4	16.1	24.7	23.1	15.9
5	15.9	22.9	13.1	20.4
6	11.5	29.1	12.2	13.5
7	42.2	37.0	20.4	20.4
8	14.9	26.2	25.3	14.7
平均	18.4±4.37	29.1±3.92	21.0±2.48	16.9±2.14

表4 Q O₂ (μl/mg/hr.)

群 No.	A	B	C	D
1	0.994	0.866	0.834	0.541
2	0.940	0.783	0.513	0.903
3	0.611	—	0.792	1.029
4	0.402	0.800	0.646	0.860
5	0.898	0.866	0.715	—
6	0.603	0.951	0.534	0.860
7	0.714	1.328	0.714	0.654
8	0.439	0.563	—	0.593
平均	0.728±0.074	0.903±0.070	0.678±0.116	0.778±0.176

表5 肝重量 (g)

群 No.	A	B	C	D
1	3.7	8.2	4.6	3.2
2	3.5	7.5	6.4	4.4
3	4.7	7.1	4.7	4.2
4	4.2	6.8	4.0	4.7
5	3.6	9.0	4.7	3.9
6	4.3	5.3	3.8	3.7
7	3.3	6.7	3.6	3.0
8	3.1	6.7	4.5	4.1
平均	3.8±0.20	7.2±0.29	4.5±0.40	3.9±0.32

表 6 肝 窒 素 (%)

群 No.	A	B	C	D
1	20.5	20.4	22.0	18.2
2	25.6	21.6	23.5	21.9
3	27.3	27.9	22.3	24.6
4	23.6	29.8	23.9	21.5
5	27.2	26.1	26.0	23.1
6	24.8	26.1	30.4	26.0
7	21.7	30.9	28.4	20.8
8	23.0	22.2	25.2	28.9
平 均	24.2±1.08	25.6±1.50	25.2±1.16	23.1±13.3

酸添加群, シジミ群及び B₁₂ 群との間には1%の危険率で, シジミ群と B₁₂ 群との間には 5% の危険率で有意差がみられた。また肝重量についてはインバランス群とアミノ酸添加群との間に 1%の危険率で有意差がみられた。しかし, インバランス群とシジミ群間には差があるが有意差は認められなかった。

その他, 肝窒素量, 肝脂肪量, および酵素活性などは本実験においては変動大きく, 明らかにし得なかった。これは飼料中の蛋白レベルが低すぎたためによるものと考えて蛋白レベルを18%に上げて, 次の第2実験を行なった。

第2実験

1) 実験方法

飼料組成と肝脂肪定量法のみを変更し, その他については第1実験と全く同様にして行なっ

表 8 1日平均増加体重 (g)

群 No.	A	B	C	D
1	2.3	3.6	1.7	2.1
2	1.3	2.1	1.7	1.5
3	1.7	3.1	2.0	2.2
4	1.5	2.7	1.4	1.9
5	1.3	4.0	2.4	1.4
6	1.6	2.6	2.1	1.5
7	1.1	2.6	2.4	1.6
8	0.6	1.1	2.4	2.7
平 均	1.4±0.22	2.7±0.37	2.0±0.17	1.9±0.08

た。

a) 飼料組成

表7に示すように今回は蛋白レベルを18%に変更し,

表 7 飼 料 組 成

成分	A	B	C	D
Gluten	24 (g)*	24	24	24
Starch	34	33	34	34
Sucrose	30	30	30	30
混 合 塩	4	4	4	4
油 (大豆油80 肝 油20)	8	8	8	8
Tocopherol	5(mg)	5	5	5
Choline-HCl	0.15	0.15	0.15	0.15
L-Methionine	—	0.35	—	—
L-Lysine	—	0.7	—	—
シジミ粉末	—	—	1日1匹当 り 0.41	—
ビタミンB ₁₂	—	—	—	1日1匹当 り 0.5(γ)

ビタミン 1日 1匹当たり * Gluten 24g/100g は蛋白として18%に相当

V. B₁ 40γ
V. B₂ 60γ
V. C 1.5mg

図 2 体 重 曲 線

表 9 肝 重 量 (g)

群 No.	A	B	C	D
1	5.6	7.5	5.4	5.8
2	5.3	5.8	5.4	5.4
3	5.3	6.3	5.4	5.7
4	4.4	6.2	4.5	4.2
5	4.1	6.6	4.7	3.9
6	5.4	4.8	6.6	5.4
7	5.0	6.5	5.2	5.5
8	3.7	5.7	5.9	4.9
平 均	4.9±0.10	6.2±0.21	5.4±0.20	5.1±0.26

その代わりでんぷんで補正し, その他は前回と同様である。

b) 肝脂肪定量法

表 10 肝 窒 素 (%)

群 No.	A	B	C	D
1	26.4	28.2	23.8	23.9
2	24.9	30.8	27.8	30.2
3	32.4	31.8	26.3	36.7
4	28.4	35.6	27.2	30.8
5	24.1	25.7	35.1	29.0
6	22.6	29.2	31.2	25.2
7	21.4	28.3	24.6	25.8
8	20.8	31.4	29.1	27.4
平 均	25.2±1.23	30.1±1.05	28.2±1.57	28.4±1.04

表 11 肝脂肪 (% in dry liver)

群 No.	A	B	C	D
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
3	—	—	—	—
4	10.0	9.0	8.4	9.4
5	4.5	—	4.5	5.4
6	6.5	5.3	8.3	10.1
7	7.3	6.5	7.0	10.7
8	6.9	9.1	5.5	7.2
平 均	7.0±1.07	7.4±1.84	6.7±0.95	8.6±1.00

表 12 肝 X O 値 (μl/g/hr.)

群 No.	A	B	C	D
1	68	126	—	—
2	85	170	—	70
3	83	—	—	194
4	107	—	113	—
5	—	—	—	103
6	—	131	152	—
7	83	—	129	—
8	—	—	104	178
平 均	85	142	122	136

前回は行った簡易脂肪定量法に代わってソックスレー法により全肝臓について行なった。すなわち全肝臓を細かくスライスして蒸留水を加え、ホモゲナイザーにかけ、それを凍結乾燥して粉末にする。これを用いてソックスレーにて定量した。

2) 実験結果

以上の実験の結果を、図 2、表 8、9、10、11、12、13、14に示す。

表 13 血清 GOT 値

群 No.	A	B	C	D
1	140	216	110	166
2	—	—	216	216
3	216	216	216	207
4	202	—	—	175
5	216	198	200	216
6	136	136	—	210
7	102	—	—	—
8	—	—	189	114
平 均	169±21.1	192±13.8	186±16.1	186±13.6

表 14 QO₂ (μl/mg/hr.)

群 No.	A	B	C	D
1	—	1.53	—	1.50
2	0.80	1.14	0.94	0.78
3	—	1.14	—	—
4	0.85	1.81	1.41	1.00
5	1.09	0.94	1.12	1.40
6	1.00	0.81	1.16	1.05
7	1.09	1.28	1.19	1.03
8	1.01	1.06	1.12	1.12
平 均	0.97±0.15	1.21±0.34	1.15±0.20	1.12±0.27

以上の結果より 1 日平均体重増加量についてはアミノ酸インバランス群 (A) およびアミノ酸添加群 (B) の間には、1%, (A), とシジミ群 (C), B₁₂ 群 (D) の間には 5% の危険率の有意差で (A) が低い。しかし (C)(D) 間には有意差は認められないが、成長状態は (C) の方がやや良い。肝重量については (A) と (B) (C) 間に 1% の危険率で有意差がみられたが (A)(D) 間には認められなかった。しかし (D) の方がやや大きい値を示している。なお (C)(D) 間には有意差は認められなかったが、(C) の方がやや大きい値を示している。

肝窒素については (A) と (B)(D) 間では 1% の危険率で、(A)(C) 間では 5% の危険率で有意差が認められた。(C)(D) 間には殆んど差がない。肝 XO 値は、データが少ないので明言できないが、(B) が最も高い値を示し、次に (D), (C) が続き (A) が最低値を示している。血清 GOT 値も、データが少なかったり、個体差が大きいのではっきり言えないが、傾向としては (B) が一番高く、(C)(D) が次に高く、(A) が最低値を示している。肝脂肪量は 4 群とも肝臓乾物中の脂肪量は 10% 以

下の値をとり余り差がみられない。 QO_2 値については各群の間に有意差が認められないが (B) が最も高い値を示し、次に (C)(D) が高く (A) は最低値を示した。

考 察

1 日平均体重増加量において 10% 蛋白レベルも 18% 蛋白レベルもシジミ群、 B_{12} 群がインバランス群より有意差をもって高くなっているのはシジミ群に有効成分の存在を示すものである。また 18% 蛋白レベルにては肝重量、肝窒素量においてもシジミ群に有意差が認められている。しかし 10% 蛋白レベルでは差はあるが有意差が認められなかった。これは低蛋白自体の影響が大きいためであろう。さらに肝 XO 値については測定困難になったり、測定値がふれたりして有意差を認めることができなかったが、傾向としてはインバランス群が一番低く、シジミ群、 B_{12} 群がやや高く、アミノ酸添加群が一番高かった。この事実よりもシジミ、 B_{12} 添加は肝 XO 値に影響するものであろう。また QO_2 値もシジミ、または B_{12} 添加はアミノ酸添加と同様に好影響を与えている。

以上よりアミノ酸インバランスによる肝疾患に対して、シジミが有効でこれの主なる有効成分として B_{12} が考えられるが、 B_{12} のみより若干効果があるので、 B_{12} 以外の成分も考えられるが、この量は極めて微量であるのでそればかりかどうかは今後の研究にゆずりたい。

結 論

- 1) アミノ酸インバランスによる肝疾患に対するシジミ

の予防効果を B_{12} と比較して検討した。

- 2) 10% または 18% 蛋白レベルのグルテンを蛋白源としたアミノ酸インバランス基本飼料に、それぞれに L-メチオニン、L-リジンを添加補正したもの、シジミ粉末、または B_{12} を添加したものそれぞれ 4 群について、白ねずみを用いる動物実験を行なった。これが判定として、成長状態、肝窒素量、肝脂肪量、肝重量、肝 XO 値、血清 GOT 値、肝 QO_2 値の測定を行なった。その結果いずれもアミノ酸添加群最良で、次にシジミ粉末群、 B_{12} 群でこれらは大体同様で、インバランス群は最も悪かった。
- 3) アミノ酸インバランスによる肝疾患に対してシジミ粉末が有効で、その主なる有効成分は B_{12} であると考ええる。

文 献

- 1) 稲垣長典他：本誌，17，208 (1964)
- 2) W. A. Krehl, et al. : *J. Biol. Chem.*, **166**, 531 (1946)
- 3) 吉田，芦田：アミノ酸，1，(3)11(1961)
- 4) 田辺必須アミノ酸研究基金参考資料，(1962)
- 5) 芦田，吉田：蛋白質，核酸，酵素，6, 657(1961)
- 6) L. L. Miller : *J. Biol. Chem.*, **186**, 253 (1950)
- 7) J. N. Williams et al. : *J. Biol. Chem.*, **181**, 559 (1949)
- 8) G. Litwack et al. : *J. Nutr.*, **49**, 579 (1958)
- 9) 前出 1)
- 10) 福場博保：農化，28，59(1954)
- 11) 村松敬一郎：農化，28，984(1954)

(お茶の水女子大学栄養化学教室)