ムチンの栄養学的研究(第1報)

Nutritional Studies on Mucin (Part 1)

ムチンのラット成長に及ぼす影響について

The effect of mucin on the growth of rats

(昭和 42 年 9 月 10 日 受 理)

長 沢 太 郎 清 沢 功
(Taro Nagasawa) (Isao Kiyosawa)

前 田 正 躬 饒 村 護
(Masami Maeda) (Mamoru Niyomura)

In order to investigate the effect of mucin on the growth of rats, a number of young rats were divided into four groups receiving four different diets.

Two kinds of mucin (mucin-1 and mucin-2) and the "synthetic mucin", as a control for the amount of protein and non-protein nitrogen compounds in mucin, were added to the basal diet at a level of 5%, respectively.

In the body weight, the group of rats receiving the mucin-1 supplement gained approximately 23.5% more than the control rats ($p < 0.01$) and 17.2% more than the group fed on the "synthetic mucin" supplemented diet.

It was also found that an increase in food efficiency, i.e., grams of growth per grams of food, was shown by the rats receiving the diet containing mucin-1. In the examination of exercise faculty by treadmill, the running distance of mucin-treated rats was about 1.5~1.7 times longer than that of control group. However, among each group, no remarkable differences were found in the average weight of the liver, kidney, adrenal and testicle, nor in serum protein and non-protein nitrogen contents.

母乳栄養児の小腸内菌叢に *Lactobacillus bifidus* が優勢に増殖することは周知の事実である。1952年, György ら¹⁾ は人乳中に存在する未知増殖因子を要求する *L. bifidus* var. *Pennsylvanicus* を単離したが Tomarelli ら²⁾ は独自の研究により hog gastric mucin がその菌株に対し有効な増殖因子の供給源であることを示した。そして基本飼料にムチンを添加してラットの成長実験を行ない, 体重および睪丸重量の増加並びに若干の延命効果を認め, このムチンの成長促進作用は腸内細菌の仲介を通して発揮されるものであろうと推察した³⁾。また, 宮原⁴⁾ も同様に豚胃ムチンのラット成長促進作用を確認している。

一方, 人工栄養児の発育実験⁵⁾ においてもムチンを加えれば無添加の場合に比し発育が良好となり, さらに便性も母乳栄養児に近づくことが報告されている。また西野⁶⁾ は母乳栄養児では人工栄養児より唾液中のムチン分泌量の高い事を指摘しているように, 乳児の成長においてムチンが重要な生理学的意義をもつことは容易に推察

される。

近年糖蛋白の研究が活発となり, 特にそれらを構成する糖成分のヘキソサミンあるいはシアル酸等の生理的意義が注目されているが, 既述したラット³⁾ ⁴⁾ あるいは乳児の成長実験⁵⁾ において, 使用したムチンの成分組成, 物理化学的性質については明らかにされていない。そこで我々はムチンに関する栄養学的な研究の一環として, 先ず物理化学的な諸性質を異にするムチンがラットの成長およびその活力に及ぼす影響を及ぼすかについて明らかにする必要を認めたので本実験を企画した。またムチン投与ラットにつきトレッドミルによる運動能力の測定, 臓器重量, 血清蛋白量および非蛋白態窒素量等の変動についても検討を加え若干の知見を得たので報告する。

実験材料および実験方法

A. 実験材料

1) ラットおよび飼料

Wistar系雄の幼若ラット (体重 60~80 g) を各群 7

～8匹宛用いた。ラット飼育用市販粉末飼料 CE-2 (日本クレアKK製)を基本飼料として、それにムチンを5%添加し適量の水で団子とし約 60～70°C で乾燥して使用した。

2) ムチン

メーカーを異にする豚胃ムチン2種類 (Mucin-1, Mucin-2と記す)を使用した。それらの物理化学的性質はTable 1 および Fig. 1 に示す通りであり、両者間においてヘキササミン、シアル酸含量には顕著な差異は認められないが、粘性率において明らかに異なっていた。

Table 1. Analytical Data of Mucins

Component	Mucin-1	Mucin-2
Hexosamine(%)	20.64	19.01
Sialic acid(%)	0.69	0.61
N(%)	9.00	10.29
Ash(%)	4.28	4.70
Moisture(%)	2.68	8.33

Fig. 1. Viscosity of Mucins

またムチン中の蛋白態および非蛋白態窒素化合物の含量に対する対照として、Tomarelli³⁾の方法により合成ムチン(Synthetic mucin, 以下 S.M と略す)を下記の組成に調製した。

casein	50%
ammonium citrate	11%
glucose	39%

B. 実験方法

添加するムチンの種類により、ラットを次の4群に分けた。

ムチン添加飼料で9週間飼育後、ラットの活力判定の一方法として、運動能力を測定することとした。即ち、Critz らにより報告されているトレッドミルを改良した運動装置(トキワ科学器械KK, 東京)で 20～25m/min. 勾配 20度の条件で運動を負荷し、電気ショックに

Table 2. Rat Groups and Administrated Diets

Rat group	No. observed	Diet (Mucin)
Control	7	Basal diet CE-2
M-1	8	CE-2+Mucin-1, 5%
M-2	8	CE-2+Mucin-2, 5%
SM	7	CE-2+SM, 5%

応じなくなるまでの走行距離を測定することにより比較した。

また、血清蛋白量並びに非蛋白態窒素量は腹部大動脈より採血し、その血清につき Micro-Kjeldahl 法により総窒素量と非蛋白態窒素量を定量し、血清蛋白量は総窒素量より非蛋白態窒素量を差引き、それに6.25とを乗じて算出した。

実験結果

1) 飼料摂取量と体重増加量

ラット飼育用粉末飼料に Mucin-1, -2 および SMを各々5%添加して飼育した際のラットの成長結果を Fig. 2 および Table 3 に示した。ラットの体重増加量は M-1群が最も大きく、次いで SM群, M-2群の順であった。M-1群は control に対し23.5% 大きい体重増加を示し、両者間には有意差が認められた。(p<0.01)

またM-1群はSM群に対して17.2%大きい値を示し同様に有意差があった。一方M-2群は control に対してやや増加傾向を示したが、有意差は認められなかった。

Fig. 2. Body Weight Curve and Food Intake

Table 3. The Growth Effect of Mucin on Rats

(g)

Rat		Average body weight			Average food intake	Food efficiency
Group	No. observed	initial	after 9 weeks	gain		
Control	5	91.8	266.3	174.4±19.4*	1188.2	1.468
M-1	6	90.9	316.3	225.4±14.4	1284.4	1.755
M-2	7	87.9	276.5	188.6±26.7	1189.6	1.585
SM	7	90.5	283.7	193.2±26.9	1222.4	1.580

* Standard deviation

ラット飼育期間中の各群の飼料摂取状況は Fig. 2 の通り、それ程大きな差異は認められないが Table 3 から明らかなように摂取飼料 1g 当たりの体重増加量、すなわち飼料効率は M-1 群が最も大きな値を示し、control より 20% 大きかった。

2) トレッドミルによる運動能力

ムチン添加飼料で 9 週間飼育したのち、トレッドミルにより運動能力を測定して Fig. 3 の如き結果を得た。

Fig. 3. The Effect of Mucin on Rats:
Determination of Exercise Faculty by Treadmill

走行距離は M-1 群が最も大きく、control の 1.7 倍、次いで M-2 群の 1.5 倍、SM 群の 1.3 倍の順である。各群のバラツキは相当大きい。M-1 群と control および M-2 群と control とは各々 $p < 0.01$ で有意差が認められた。一方体重(g)当たりの走行距離(m)で示すと control に対し M-1 群は 1.4 倍、M-2 群は 1.5 倍であった。

3) 臓器重量の変動

トレッドミルによる運動負荷試験後のラットをエーテル麻酔下、開腹しできるだけ脱血したのち、肝臓、腎臓、副腎、睪丸を摘出し、それぞれの重量を速かに測定した。それらの結果を Table 4 に示した。

体重 100g 当たりの臓器重量で示すと M-1 群の肝臓重量が他群に比してわずかに大きいこと以外に、何ら変化は認められなかった。

4) 血清蛋白量並びに非蛋白態窒素量の変動

ムチン投与ラットの血清蛋白量並びに非蛋白態窒素量は Micro-Kjeldahl 法により定量して Table 5 の如き結果を得た。

血清蛋白量において M-1 群は control、M-2 群、SM 群よりも約 10% 高い値を示し、増加傾向にあったが control との間に有意差は認められなかった。また非蛋白態窒素量および非蛋白態窒素比においても何ら有意な変動はみられなかった。

考 察

ヒト初乳および牛初乳中に含まれるムコ多糖類の種類、構造等の差異については Hirano⁸⁾により検討され報告されているが、特にシアル酸含量において、人乳中のそれは牛乳より 5~10 倍多く、その意義が注目されている。^{8) 9)} 近年 Hadházy¹⁰⁾ は heparin が Herpes simplex virus に対し、また Schmidt¹¹⁾ は人乳から得たシアロムコイドがマウスの influenza virus

Table 4. The Effect of Mucin on the Weight of Organs
(Organ Weight g. or mg./100g. Body Weight)

Rat		Liver (g.)	Kidney (g.)	Adrenals (mg.)	Testicles (g.)
Group	No. observed				
Control	5	3.32±0.27	0.70±0.04	14.79±1.50	0.84±0.07
M-1	5	3.92±0.08	0.72±0.03	14.67±2.21	0.77±0.07
M-2	6	3.29±0.16	0.72±0.04	14.20±2.07	0.85±0.08
SM	7	3.46±0.23	0.71±0.02	14.08±2.52	0.88±0.07

Expressed as mean±S.D.

Table 5. Variation of Serum Protein & Rest-N Contents

Rat		Total-N (mg/ml)	Rest-N		Protein (mg/ml)
Group	No. observed		mg/ml	%	
Control	4	11.09±0.20	0.39±0.02	3.53±0.22	66.88±1.47
M-1	4	11.84±0.89	0.46±0.20	3.89±1.48	71.13±4.63
M-2	6	10.95±0.47	0.41±0.03	3.71±0.41	65.88±3.02
SM	6	10.62±0.71	0.42±0.06	3.91±0.77	63.76±4.67

Expressed as mean±S.D.

感染に防護効果を示すとそれぞれ報告している。牛乳は人乳に比べて、これらアミノ糖類の種類および含量共に少なく、かつ bifidus factor としての力価も、人乳の約1/40であることから、人工栄養の改善上、牛乳に少ないシアル酸、ないしは N-Acetylhexosamine, heparin などを構造上を含む mucopolysaccharide 或いは mucoprotein を捕うことは興味深く考えられる。

Tomarelli ら²⁾ はムチンが bifidus factor の供給源となりうる事を明らかにし、また母乳の組成に近い飼料にムチンを添加して離乳後のラットの成長が促進されることを認めた³⁾。そこで我々はラット飼育用市販粉末飼料を基本飼料として、ラットが完全な成長を示す条件下でのムチンの有効性について検討することとした。ここに使用した Mucin-1および Mucin-2 の化学組成にはTable 1およびFig. 1 に示すように大きな差異はないが、粘性率において顕著な差異が見られた。

Mucin-1を5%添加した際controlに対し23.5%, SM群に対し17.2%大きな体重増加がみられ、かつ摂取飼料当たりの体重増加量、すなわち飼料効率においても最も高い値を示した。Mucin-1に比べてMucin-2投与の際に顕著な体重増加のみられなかった事は、両ムチンの間における化学的組成(特に、シアル酸含量、ヘキサミン含量)および構造上の差異、物理化学的性質の差異等に起因することが推察されるがその詳細については今後の研究に俟ちたい。しかしながら Mucin-1の成長促進作用はSM群に対しても有意差 ($p>0.01$) のあることから、ただムチン添加による蛋白態窒素あるいは非蛋白態窒素増加の点のみからは説明不可能であり、一方 Tomarelli ら³⁾ も加水分解したムチンでは、成長促進作用を認めなかったと報告している事、および Miyahara ら¹²⁾ はムチンがアミノ酸の腸管吸収を促進する事を認め、特にその粘度との関係を強調していることを考慮すれば、ムチンが mucopolysaccharide 或いは mucoprotein としての構造を維持している時にこの体重増加などの生理作用がみられるものとも推察される。

このようにムチンを添加すれば明らかに体重の増加が

認められるが、一方ムチンがラットの活力にどのような影響を及ぼすかを明らかにする事は、ムチンの栄養価の評価上重要な問題であろう。そこで活力判定の一方法としてトレッドミルにより、それらラットの運動能力を測定したところ、Fig. 3から明らかなように、ムチン添加群は対照群に対していずれも有意差をもってすぐれており特に体重増加のあまり良くなかったMucin-2投与群もMucin-1投与群と同じ程度走り、体重当たりの走行距離の比ではむしろ最高値を示した点は興味ある事である。これらの結果からムチンは単に体重増加に好影響があるのみならず動物に活力を附与する特殊な効果を有するものとも推察されるがその詳細については引続き研究したい。なお運動負荷直後の体重減少は3~5gであった。疲労の回復という観点からそれらの回復速度について検討することは今後に残された興味深い問題であろう。

一方、体重増加の最も大きかった M-1 群は若干ながら肝臓重量および血清蛋白量(総窒素量)の増加傾向が見られ、それらのラット体内蛋白代謝がより高められているものと考えられる。

総 括

ムチンのラット成長に及ぼす影響について検討し次の如き結果を得た。

- 1) Mucin-1を 5%添加したラット群では control に対し23.5%, SM 5%添加群に対し 17.2%大きい体重増加がみられ、Food efficiency も高められた。一方粘度の低い Mucin-2 を添加したM-2群には体重増加作用は見られなかった。
- 2) トレッドミルによる運動能力測定ではムチン添加群が control よりも1.5~1.7倍大きな走行距離を示した。
- 3) 臓器重量においては何ら顕著な差異は認められなかった。
- 4) Mucin-1 添加群において、若干の血清蛋白量の増加傾向が見られたが、その他には顕著な変動は見られなかった。

本研究結果の要は、第21回日本栄養・食糧学会総会(1967年)において発表した。

文 献

- 1) György, P., Kuhn, R., Norris, R. F., Rose, C. S. & Zilliken, F.: *Am. J. Dis. Child.*, **84**, 482(1952)
- 2) Tomarelli, R. M., Norris, R. F., György, P., Hassinen, J. B. & Bernhart, F. W.: *J. Biol. Chem.*, **181**, 879 (1949)
- 3) Tomarelli, R. M., Linden, E., Durbin, G. T. & Bernhart, F. W.: *J. Nutr.*, **51**, 251 (1953)
- 4) Miyahara, H.: *Studies of Seinan Jogakuin Junior College*, **9**, 45 (1963)
- 5) 井上: 福岡医学雑誌, **53**, 783 (1962)
- 6) 西野: 医学研究, **28**, 2345 (1958)
- 7) Critz, J. B., & Merrick, A. M.: *J. Appl. Physiol.*, **17**, 566 (1962)
- 8) Hirano, S., Hayashi, H., Masuda, F. & Onodera, K.: *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 212 (1966)
- 9) 古谷, 前原: 日産婦誌, **16**, 523 (1964)
- 10) Hadházy, iva Horváth & Gergely, L.: *Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, **13**, 193 (1966)
- 11) Schmidt, E. und Janssen, M.: *Z. Kinderh.*, **98**, 307 (1967)
- 12) Miyahara, H. & Tanahashi, Y.: *Kyushu J. Med. Sci.*, **15**, 159 (1964)

(森永乳業中央研究所)
(経 費 著 者 負 担)

シロネズミ試験によるカニ肉の栄養評価

シロネズミを用いて、カニおよびエビのタンパク質の栄養価を測定した。体重 130~140 g のネズミを無タンパク食で1週間飼育したのち、2群に分け、カニ肉またはカゼインを唯一のタンパク質源(10%)とする飼料を1週間与え、毎日の飼料摂取量と体重増加量を記録した。無タンパク食および試験食の2週間にわたって毎日尿尿を採取して窒素を測定し、体重増加量と窒素の収支から定義に従って生物価(BV)、真の消化吸収率(TD)、タンパク効率(PER), net utilization, net protein valueを計算した。カニ肉食はカゼイン食と同じBVを示し(88)、飼料摂取量も等しかった。次に離乳雄シロネズミを3群に分け、カゼイン食、カニ肉食、エビ肉食(タンパク質含量10%)のどれかを3カ月にわたって与え、毎日の摂食量と1週間毎の体重増加量をみた。10~12日頃か

らカゼイン食区はカニ肉食、エビ肉食区より体重増加量が少なくなり、次第に差は大きくなって(摂食量は同じ)BVを測定した試験のときとはやや様子が違った。このように成長に差が出たのは、アミノ酸組成、殊にメチオニン含量に起因するものと考えられる。以上より、メチオニン、リジンの不足している植物性タンパク質の補足食品としてカニ肉タンパク質は適しているといえる。なお従来、カニ肉の消化吸収率は70.7%とされていたが、本実験では90.4%であった。(図2、表4)

Biological Evaluation of Crab Meat (*Scylla-Serrata*) in the Rat.

by Gangal S. V. and Magar N. G.: *Brit. J. Nutr.*, **21**, (1), 1~6 (1967)

(堀井)