肝障害に及ぼす大豆サポニンの作用

大南 宏治*, 奥田 拓道*, 浜井 藤次郎**
北川 勲***, 吉川 雅之***, 有地 滋****
林 輝 明****

* 愛媛大学医学部第2医化学

** 愛媛大学医学部共同研究施設

*** 大阪大学薬学部生薬学教室

**** 近畿大学東洋医学研究所

Effects of Soyasaponins on Liver Injury

Hiroji OHMINAMI,* Hiromichi OKUDA,* Tojiro HAMAI,**

Isao KITAGAWA,*** Masayuki YOSIKAWA,***

Shigeru ARICHI,**** Teruaki HAYASHI****

* 2nd Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University, Shigenobu, Ehime

** Central Research Laboratory, School of Medicine, Ehime University, Shigenobu, Ehime

*** Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Yamada-cho, Suita, Osaka

**** Oriental Medicine Research Institute, Kinki University, Nishiyama, Sayama-cho, Minami Kawachi, Osaka

It was found that peroxidized corn oil induced elevation of rat serum transaminases after 5 weeks oral administration, indicating that liver injury was caused by the peroxidized oil. When crude soya-saponins were added to the peroxidized process of corn oil as well as it was orally administered to rats with peroxidized corn oil, such elevation of transaminases was not observed. In addition to these actions, crude soya-saponins were found to reduce serum cholesterol and triglyceride. Purified soya-saponins, such as I, II, III, A₁ and A₂ was found to inhibit peroxidation of salad oil. It was shown that liver injury caused by peroxidized salad oil was protected by the addition of soya-saponin A₁ to the process of peroxidation.

(Received July 7, 1980)

サポニンは表面張力を減少させる物質として知られている植物グリコシドである。疎水性部分としてサポゲニンを親水性部分として糖をもつ両性物質としてのサポニンは水溶液中で、脂質の界面をひろげる界面活性物質としての作用をもっている。サポニンの生理作用については多くの研究がなされている。あるサポニンは溶血作用をもつことで知られているが、溶血を阻止することで知られているサポニンもある。

高木¹⁾らは薬用人参に含まれる各種サポニンの生理作

用を報告している。Rg₁は中枢神経系に対して刺激作用をもち、一過性に血圧を上昇させるが、同じく薬用人参に含まれる Rb₁は中枢神経抑制作用を示すとともに、血圧低下作用をもっていることなどが報告されている。最近、われわれ²⁾は脂肪細胞を用いて薬用人参に含まれる各種サポニンの生理作用について検討し、Rb₁, Rb₂, Rc, Re, Rg₁, Rg₂等は副腎皮質刺激ホルモンによる脂肪分解を著明に抑制することおよび、インスリンによる脂肪合成を Rb₂, Rc, Rg₁, Rg₂, Rh₁は抑制するが、Rb₁, Re は抑制しないことなどを見いだした。

林ら³⁾はサイコサポニンの生理作用について検討し、サイコサポニン d, a が抗炎症作用をもつとともに血清コレステロール、中性脂肪およびリン脂質の低下作用を

* 〒791-02 愛媛県温泉郡重信町大字志津川

** 〒791-02 愛媛県温泉郡重信町大字志津川

*** 〒565 大阪府吹田市山田上 133-1

**** 〒589 大阪府南河内郡狹上町西山

示すことを報告している。大豆に含まれるサポニンについても多くの関心もたれ、これまでに溶血作用、魚や昆虫に対する毒性等が報告されている^{4)~6)}。

北川らは大豆に含まれるサポニンのうち、大豆サポニン I, II, III の構造について報告したが⁷⁾、最近、他の 2 種のサポニン A₁, A₂ の構造を決定することに成功した⁸⁾。

一方、佐藤らは不飽和脂肪酸を多く含むコーンオイルを 40% 含有する高脂肪食をラットに投与することにより、形態学的には異常は認められないが、血清 GPT (glutamic pyruvic transaminase) が上昇する軽度肝障害が発症することを見だしている⁹⁾。このような肝障害の発症は不飽和脂肪酸含量の低い牛脂ではおこらないこと、およびパンテチンやカルニチン投与で肝および血清中の過酸化脂質を減少させることにより、肝障害の発生が阻止できる事実からコーンオイルに含まれる不飽和脂肪酸が過酸化され、この過酸化脂質によって、軽度肝障害が発生したものと推測されている。

本研究は過酸化された高脂肪食によって誘導される軽度肝障害に対して大豆サポニンがどのような作用を示すかを明らかにすることを目指して行なわれたものである。

実験材料および方法

1. 使用動物

Wistar 系雄性ラット、初体重 70~80 g を用いた。

2. 過酸化脂質

コーンオイルまたはサラダオイルに酸素を注入しながら 180°C で 40 分加温することによって、不飽和脂肪酸の過酸化を行なう。このような操作で過酸化脂質量は 6 nmoles/ml から 60 nmoles/ml に増加する。

3. サポニン

大豆サポニンは粗サポニン (I, II, III, A₁, A₂) の混合物および精製したサポニン (I, II, III, A₁, A₂) を用いた。

4. 高脂肪食

飼料 (2 kg 中) の配合は次のとおりである。

カゼイン	720 g
コーンスターチ	380 g
コーンオイル	800 g
塩混合	80 g
ビタミン混合	20 g
チョコラ A	2 ml
50% コリンクロライド	8 ml

上記配合飼料に大豆粗サポニンを加えた。

5. 過酸化脂質の測定

八木法¹⁰⁾で測定した。

6. 血清 GOT (glutamic oxaloacetic transaminase [EC. 2.6.1.1.]) 活性の測定

血清 GOT 活性は和光純薬社製 GOT 測定キットを用い、Reitman-Frankel 性により測定した。

7. 血清 GPT (glutamic pyruvic transaminase [EC. 2.6.1.2.]) 活性の測定

血清 GPT 活性は和光純薬社製 GPT 測定キットを用い、Reitman-Frankel 法により測定した。

8. 血清総コレステロールの測定

血清総コレステロールは和光純薬社製総コレステロール測定キットを用い測定した¹¹⁾。

9. 中性脂肪の測定

中性脂肪は和光純薬社製中性脂肪キットを用い測定した¹²⁾。

10. 遊離脂肪酸の測定

遊離脂肪酸は和光純薬社製遊離脂肪酸測定キットを用いて測定した¹³⁾。

11. 肝障害に及ぼす大豆粗サポニンの作用

A 群：コーンオイルを過酸化し配合飼料とし、10 匹のラットに投与した。

B 群：コーンオイルを過酸化し、大豆粗サポニン (50 mg/kg 摂取量) を加え配合飼料とし、10 匹のラットに投与した。

C 群：コーンオイルに大豆粗サポニン (50 mg/kg 摂取量) を加えたのち過酸化操作を行ない (コーンオイルの過酸化は防止される) 配合飼料とし、10 匹のラットに投与した。

A, B, C の各群を 5 週間飼育したのち、ラットをただちに屠殺し、血漿中の GOT, GPT, 総コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸を測定した。

12. サラダオイルの過酸化に及ぼす各種大豆サポニンの作用

サラダオイルおよびサラダオイルに懸濁した各大豆サポニンを 180°C で、40 分間加温する。この溶液を冷却後、八木法によって過酸化脂質の測定を行なった。

実験結果と考察

1. 肝障害に及ぼす大豆粗サポニンの作用

不飽和脂肪酸を多く含むコーンオイル投与により、発生する肝障害に対する大豆粗サポニンの影響を調べるため、ラットを 3 群にわけおのおのについて以下のような操作を行なった。

コーンオイルを実験方法の部で述べた方法で過酸化した後、これを 40% 含む配合飼料を 10 匹のラットに 5 週間投与した (A 群)。過酸化したコーンオイルを 40% 含む高脂肪食とともに大豆粗サポニンを 50 mg/kg の割合で 10 匹のラットに 5 週間経口投与した (B 群)。コー

Table 1. Effect of crude soyasaponins on serum transaminases and lipids.

Units	A group	B group	C group
GOT (Karmen units)	136±12	109± 7 ^{a)}	94± 8 ^{b)}
GPT (Karmen units)	39± 5	24± 2 ^{a)}	15± 2 ^{c)}
Total cholesterol (mg/dl)	137± 3	107± 4 ^{c)}	107± 3 ^{c)}
Triglyceride (mg/dl)	94± 6	54± 4 ^{c)}	63± 6 ^{b)}
Non-esterified fatty acid (mEq/l)	0.42±0.02	0.32±0.04 ^{a)}	0.34±0.04

^{a)} $p < 0.05$, ^{b)} $p < 0.01$, ^{c)} $p < 0.001$

Table 2. Effect of various soyasaponins on peroxidation of salad oil.

	Lipoperoxide (nmoles/ml)
Salad oil	9.4
Peroxidized salad oil	61.3
Salad oil+Soyasaponin I (1 mg/ml)	→Peroxidation 10.3
Salad oil+Soyasaponin I (0.1 mg/ml)	→Peroxidation 45.6
Salad oil+Soyasaponin II (1 mg/ml)	→Peroxidation 46.5
Salad oil+Soyasaponin II (0.1 mg/ml)	→Peroxidation 80.6
Salad oil+Soyasaponin III (1 mg/ml)	→Peroxidation 8.8
Salad oil+Soyasaponin III (0.1 mg/ml)	→Peroxidation 45.6
Salad oil+Soyasaponin A ₁ (1 mg/ml)	→Peroxidation 13.8
Salad oil+Soyasaponin A ₁ (0.1 mg/ml)	→Peroxidation 22.5
Salad oil+Soyasaponin A ₂ (1 mg/ml)	→Peroxidation 38.8
Salad oil+Soyasaponin A ₂ (0.1 mg/ml)	→Peroxidation 60.0

ンオイルを過酸化する過程に大豆粗サポニンを加え、配合飼料を作成し、10匹のラットに5週間投与した。この際、摂取するサポニン量は1日当たり、50 mg/kg になるように調整した (C群)。

このようなA, B, C, 3群のラットについて、血清GOT, GPT, 総コレステロール, 中性脂肪, 血清遊離脂肪酸を測定したのが、Table 1である。

A群に比べ、B群、C群では、血清GOTおよびGPTがともに有意に低下していることがわかる。ラットでは血清GOTの正常値は約100単位であり、また血清GPTの正常値は約20である。このような成績は過酸化したコーンオイル投与による軽度肝障害の発症をサポニンが阻止したことを示すものである。また、総コレステロール, 中性脂肪もA群に比べ、B, C群では有意に低下していることがわかる。血清遊離脂肪酸もA群に比べ、B群、C群でともに低下しているが、統計的に有意な低下はB群で認められた。

このような成績は大豆粗サポニンは肝障害の発症を阻止するばかりでなく、高脂血症を改善する作用をもって

いることを示すものである。大豆粗サポニンによる肝障害の発症の阻止効果はすでに過酸化されたコーンオイルをラットに投与する過程でサポニンを与えた場合も、コーンオイルを過酸化する過程にサポニンを加えた場合もともに認められる。

このような事実は大豆粗サポニンの作用については、二つの可能性を推測させる。その1は大豆粗サポニンが *in vitro* および *in vivo* でコーンオイルが過酸化される過程を抑制することによって肝障害の発生を阻止した可能性と、すでに過酸化されたコーンオイルによって肝細胞が障害される過程にサポニンが働く可能性である。

そこで不飽和脂肪酸の過酸化に対するサポニンの作用を精製標品を用いて検索するとともに肝障害に対する精製サポニンの影響を調べることにした。

2. 各種大豆サポニンのサラダオイルの過酸化および肝障害に及ぼす作用

不飽和脂肪酸の過酸化の過程に各種大豆サポニンを添加し、その効果を検討した。不飽和脂肪酸を多く含む油脂としてサラダオイルを用いた。サラダオイルに各大豆

Table 3. Effect of soyasaponin A₁ on serum glutamate pyruvate transaminase (GPT).

Conditions	p	
Salad oil→Peroxidation	145.5 ± 5.0	<0.001
Salad oil+Soyasaponin A ₁ →Peroxidation	92.5 ± 6.1	

Salad oil was peroxidized in the presence and absence of soyasaponin A₁. The preparation of salad oil thus obtained, were orally administered to rats.

Serum transaminase was estimated 24 hr after the administration.

サポニンを 1 mg/ml または 0.1 mg/ml の割合で加え、酸素を注入しながら、180°C、40 分加熱した後、サラダオイルの過酸化脂質量を測定した (Table 2)。Table 2 から明らかなように各種大豆サポニン (I, II, III, A₁, A₂) のすべてに過酸化を抑制する作用が認められたが、とくに大豆サポニン A₁ において著明な過酸化阻止作用が認められた。コーンオイルを過酸化する過程に大豆サポニンを添加した場合も同様な結果が得られた。次にもし過酸化脂質がラットの肝細胞を障害し、トランスアミナーゼを遊離させるとすれば、過酸化したサラダオイルを投与した動物に比べ、大豆サポニンで過酸化の過程を抑制したサラダオイルを投与した動物では、トランスアミナーゼの上昇は低く抑えられるはずである。そこで、過酸化したサラダオイルと過酸化の過程に大豆サポニン A₁ を 100 µg/ml の割合で添加したサラダオイルを 5 ml/ラットの割合で、経口投与し、24 時間後の血清 GPT 値を測定したのが Table 3 である。

表から明らかなように過酸化の過程で、大豆サポニン A₁ を添加した群では明らかに GPT の上昇の程度は低く抑えられている。したがって、肝障害の発症を阻止する大豆サポニンの作用機序の一つは、過酸化を抑制することにあると思われるのである。しかし、Table 1 において、すでに過酸化されたコーンオイルをラットに投与する過程で大豆サポニンを与えた場合 (B 群) でも肝障害の発症が抑制されたことから、生体内で過酸化脂質が肝細胞を傷害する過程に大豆サポニンが作用する可能性も考えられる。

今後、大豆サポニンの過酸化抑制作用の分子機構および生体内での本サポニンの作用についてさらに検討する予定である。

要 約

1) コーンオイルに酸素を注入しながら 180°C、40 分加熱して過酸化させた後、配合飼料に加えラットに経口投与すると 5 週間後に血漿中の GOT、GPT の上昇が認められた。

2) 上述のコーンオイルの過酸化の過程に大豆粗サポ

ニンを添加することにより血漿中の GOT、GPT の上昇が抑制された。

3) 1) の方法に従ってコーンオイルを過酸化した後、大豆粗サポニンとともにラットに投与することによっても血漿中の GOT、GPT の上昇を抑制した。

4) 大豆粗サポニンには、血清コレステロールおよび中性脂肪を低下させる作用が認められた。

5) 大豆サポニン I, II, III, A₁, A₂ のすべてにサラダオイルの過酸化を抑制する作用が認められたが、とくに A₁ で強い抑制作用が認められた。

6) 大豆サポニン A₁ で過酸化の過程を抑制したサラダオイルを投与したラットでは、GPT の上昇の程度は低く抑えられた。

文 献

- 1) Takagi, K., Sato, H. and Nabata, H.: *Jap. P. Pharmacol.*, 22, 245 (1972); 22, 339 (1972)
- 2) Ohminami, H., Kimura, Y. and Okuda, H.: *Planta Medica* (in press)
- 3) 林 良明, 山本昌弘, 牧野英一, 板谷喬起, 鈴木豊, 大島仁士, 熊谷 朗: 第 6 回和漢薬シンポジウム, 72, 19 (1972)
- 4) Ishaaya, I., Brirk, Y., Bondi, A. and Tencer, Y.: *J. Sci. Food Agric.*, 22, 433 (1969)
- 5) Su, H.C.F., Speirs, R.D. and Mahany, P.G.: *J. Econ. Entomol.*, 65, 844 (1972)
- 6) Liener, I.E.: *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, p. 169 (1969), Academic Press (New York)
- 7) Kitagawa, I., Yoshikawa, M. and Yoshioka, I.: *Chem. Pharm. Bull.*, 24, 121 (1974)
- 8) 北川 勲, 吉川雅之, 斉藤雅之, 滝野吉雄, 大南宏治, 有地 滋, 林 輝明: 第 3 回天然薬物の開発と応用のシンポジウム抄録, p. 16 (1980)
- 9) 佐藤文代, 水沼俊美, 岸野泰雄, 奥田拓道: 栄養と食糧, 30, 313 (1977)
- 10) Yagi, K.: *Biochemical Medicine*, 15, 212 (1976)
- 11) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, p. 54 (1968), 金原出版 (東京)
- 12) 福井 巖, 曾根 淳, 久城英人, 正木清孝, 高畑 譲二: 日本臨床, 31, 117 (1973)
- 13) 川出真坂, 奥山 理: 臨床検査, 12, 574 (1969)

(昭和55年7月7日受理)