コンブ (*Laminaria japonica* Areschoug) または シイタケ (*Lentinus edodes* Sing.) 投与による ラット消化酵素の変化

藤田 修三, 不破 英次

大阪市立大学生活科学部食品化学研究室

The Influence of Konbu (*Laminaria japonica* Areschoug) and Shiitake (*Lentinus edodes* Sing.) on Digestive Enzymes of Rats

Shuzo FUJITA, Hidetsugu FUWA

Department of Food and Nutrition, Faculty of Science of Living,
Osaka City University, Osaka, 558

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 36, 265~271 (1983) The influence of konbu (*Laminaria japonica*) and shiitake (*Lentinus edodes*) on digestive enzymes and digestive functions of rats were observed. Rats were paired-fed the diet containing 25% of casein and 30% of either konbu or shiitake instead of pregelatinized potato starch of control diet for 8 days. Results obtained are as follows :

1) Total α -amylase activity in pancreas on feeding the diet containing konbu was similar to that on feeding the control-diet, and the activity on shiitake-diet was significantly increased compared with that of the control. Protease activity on either feeding of konbu or shiitake-diet was higher than that on feeding the control-diet.

2) Total lactase and sucrase activities in the small intestinal mucosa on feeding the konbu-diet was higher than those of feeding the control-diet, and total glucoamylase activity of feeding the shiitake-diet was lower than that of feeding the control-diet.

3) By scanning electron microscopy, samples of konbu and shiitake recovered from several portions of rat digestive tracts at the end of the experiment suggested that these materials were decomposed by physical and chemical actions in the digestive tracts.

(Received December 30, 1982)

食物繊維研究の歴史は古いが、最近とくに先進国で、糖尿病、高脂血症、大腸ガンなど、いわゆる文明病と食物繊維の関連性が問題視されている^{1)~4)}。わが国においても、食物繊維を含む食品の生理的効果について多くの研究者により検討がなされており、一方では、それらの食品の人体での消化吸収率の検討が急がれている。

著者らは、食物繊維を含む食品のうち、まずコンブとシイタケをとりあげた。藻類食品のマコンブ (*Laminaria japonica* Areschoug) は、褐藻類の一種であり、きのこ類食品のシイタケ (*Lentinus edodes* Sing.) は担子菌類に属し、いずれも日本人にとって、古くからなじみの深い食品である⁵⁾⁶⁾。成分の面からは、コンブは、一般

陸上植物に含まれるセルロース、ヘミセルロース等のほかに、アルギン酸、ラミナランそしてフコイダンを含み、粘性および保水性に富む食品である。シイタケは、一般的な植物炭水化物成分以外に、ラミナラン様物質 (β -1, 3-グルカン) を含んでいる。これら食品の粗繊維量は、四訂日本食品標準成分表によれば、素干しマコンブで、100 g 中に 3.3 g、乾しシイタケで、8.9 g である。また、いわゆる食物繊維量は、マコンブで乾物 100 g 中に、Southgate 法⁷⁾により 13 g、またシイタケは、乾物 100 g 中に、Van Soest 法⁸⁾による中性デタージェントファイバー (NDF) として 40 g 含まれている⁹⁾¹⁰⁾。このように両食品の成分が異なり、食物繊維の供給源として摂食した場合にも、消化酵素活性や消化機能に異なった影響を与えるものと考えられる。そこで本報告では、

マコンブおよびシイタケを実験材料として、それら食品を含む食餌がラットの消化機能におよぼす影響と、消化管内で分解される過程について研究を行なった。

実験方法

1. 実験動物と飼料

実験動物は、Sprague-Dawley 系 (SD; JCL), 4 週齢, 雄ラットを, 室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ の動物飼育室で数日間, 固型飼料と水を自由に与えて, 一定範囲の体重 (約 100 g) になったものを, 1 群 6 匹ずつ実験に供した。実験材料のマコンブ (以下コンブと略す) は樺太産, シイタケは大分県産のものをを用いた。シイタケは, 人間が摂食している場合と同様, 柄の部分を除いて材料とした。各材料は, 密閉系のブレンダー (Osterizer 890, USA) を用いて粉碎した。粉碎後, 篩を通し, ラット消化管内での分解過程観察のため, 20~80 メッシュ間のものを材料とした。なお Wang ら¹¹⁾により, 食塩は唾液分泌には直接強く影響しないことが報告されており, 今回のコンブは塩抜きを行わずに用いた。調製後の水分含量は, コンブで 11.1%, シイタケで 12.0% であった。また両食品の燃焼エネルギー値は, 島津オートボンブカロリーメーターで測定した結果, コンブで 2.54 kcal/g, シイタケで 3.85 kcal/g であった。食餌組成は, Table 1 に示す合成粉末飼料を, 水とこねてだんごの形で与えた。投与方法は, ペアードフィーディングで 8 日間飼育観察を行なった。すなわち, 最も摂食量の少ない対照食群に合わせて, 他の実験食投与量を定めた。屠殺直前までペアードフィーディングを続け, 午前 9 時より解剖を始めた。

2. 脾臓ならびに小腸粘膜からの酵素標本の調製

実験期間を終えたラットは, エーテル麻酔下で解剖し分析に供する臓器を摘出した。脾臓分析は, 脂肪を除き 0.5% (w/v) Triton-X 100 と 5 mM 塩化カルシウムを含む生理的食塩水を加えてホモジナイズし, 遠心分離 ($10,000 \times g$, 20 分間, 0°C) にかけ上清を酵素溶液とした。小腸粘膜をスライドガラスでスクレイプし, 粘膜を 1% (w/v) Triton-X 100 と 1 mM 塩化カルシウムを含む, 50 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5) に懸濁し, 氷冷下で 60 分間, 酵素を攪拌溶出させ, ホモジナイズ後, 遠心分離 ($10,000 \times g$, 20 分間, 0°C) にかけて, 上清を酵素溶液とした。

3. 酵素活性の測定

α -アミラーゼ活性, プロテアーゼ活性は前報¹²⁾に述べた方法に従った。ただし α -アミラーゼ活性単位は, 1 分間に $1 \mu\text{mole}$ の色素を遊離させる酵素量を 1 単位とした。

二糖類水解酵素活性は, Dahlqvist の方法¹³⁾に従い, マルトース (25 mM), イソマルトース (20 mM), シュ

Table 1. Composition of experimental diets.^{a)}

	Experimental diets (g) ^{b)}		
	Diet-(C)	Diet-(K)	Diet-(S)
Casein	25.00	25.00	25.00
Corn oil	5.00	5.00	5.00
Pregelatinized potato starch	59.00	34.00	34.00
Cellulose ^{c)}	5.00	—	—
Konbu	—	30.00	—
Shiitake	—	—	30.00
Mineral mixture ^{d)}	5.00	5.00	5.00
Vitamin mixture ^{d)}	0.85	0.85	0.85
Choline-HCl	0.15	0.15	0.15

^{a)} Diet also contained per 100 g : 600 IU retinyl palmitate, 60 IU ergocalciferol and 10 mg all-rac- α -tocopheryl acetate.

^{b)} C : Control diet, K : Konbu diet and S : Shiitake diet.

^{c)} Avicel (American Viscose Co., Ltd.).

^{d)} Harper, A.E. : *J. Nutr.*, 68, 405 (1955).

クロース (25 mM) あるいはラクトース (25 mM) を含んだ, 50 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5) に適量の酵素溶液を加えて, 37°C で反応を行なった。活性単位は, 1 分間に $1 \mu\text{mole}$ の基質を水解する酵素量を 1 単位とした。

“グルコアミラーゼ”活性は, Schlegel らの方法¹⁴⁾に従い, 0.5 ml の酵素溶液に, 1.0 ml の 100 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5, 5 mM EDTA, 2.5 mM NaCl を含む) を加えて, 50°C , 25 分間反応させて, α -アミラーゼを失活させた後, 0.5 ml の 1% 糊化アミロース (アベベ社, オランダ) を加えて, 37°C で “グルコアミラーゼ”活性を測定した。アミロースより水解生成したグルコースは, グルコースオキシダーゼ法¹⁵⁾で定量した。活性単位は上記の条件下で 1 分間に $1 \mu\text{mole}$ のグルコースを生成する酵素量を 1 単位とした。タンパク質量は, 牛血清アルブミンを標準物質として, Lowry らの方法¹⁶⁾で測定した。

4. 走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察

飼育期間終了後の, 各群ラットの消化管内容物を部位別に回収し, 凍結乾燥後, イオンスパッタリングで金を蒸着し, 日立 HHS-2R 形走査型電子顕微鏡で観察した。投与前のサンプルについても, 消化管内容物を標本とする場合と同様の処理を行なった。

実験結果

飼育期間終了後の, ラットの消化管内容物を除いた体

Table 2. Body weight and tissue weight of rats fed on the diet containing konbu(K) or shiitake(S).

	Experimental group		
	Diet-(C)	Diet-(K)	Diet-(S) ^{a)}
Gained weight (g)	68.7±10.5	58.7±4.5	49.0±6.4*
Gained weight without contents in digestive tract (g)	64.0±9.5	47.3±4.7*	39.0±7.3*
Small intestine (weight, g)	6.69±0.91	8.07±1.10**	6.62±0.64
(length, cm)	105±5	114±4*	105±5
Colon (g)	1.18±0.25	1.75±0.10*	1.44±0.16
(cm)	11.7±0.8	15.3±0.8*	12.6±1.6
Cecum (g)	0.96±0.14	1.38±0.22**	1.15±0.17
Pancreas (weight, g)	0.51±0.12	0.68±0.10**	0.74±0.09
(protein content, mg)	81.0±15.3	106.5±15.7**	117.7±12.6*

^{a)} See the legend ^{b)} to Table 1.*,** Significantly different from control; * $p<0.01$ and ** $p<0.05$.

Table 3. Enzyme activities in pancreas of rats fed on the diet containing konbu(K) and shiitake(S).

	Experimental group ^{a)}		
	Diet-(C)	Diet-(K)	Diet-(S)
α -amylase activity in pancreas			
(mmole dye/min/total)	690±125	670±159	1212±289*
(mmole dye/min/g pancreas)	1410±310	1010±320	1640±290
(mmole dye/min/mg protein)	8.71±1.86	6.38±1.82	10.23±1.72
Protease activity			
(mg released protein/min/total)	236±40	324±78**	405±39*
(mg released protein/min/g pancreas)	474±50	472±72	552±51**
(mg released protein/min/mg/protein)	2.93±0.20	3.02±0.42	3.45±0.24*

^{a)} See the legend ^{b)} to Table 1.

*,** See the legend to Table 2.

重増加量は、コンブ食群、シイタケ食群とも、主としてカロリーの不足分だけコントロール食群より低い値を示した。小腸と大腸の大きさは、コンブ食を与えることにより重量および長さともに増加した。しかし、シイタケを与えた場合には、重量、長さともにコントロール群と変わらなかった。膵臓重量は、コンブ食群、シイタケ食群ともに、コントロール食群よりも増加しており、膵臓のタンパク質量も重量に比例して増加していた (Table 2)。

コンブ食群の膵臓中 α -アミラーゼ活性は、コントロール食群と等しい総活性値を示した。これは前報¹²⁾で難消化性のジャガイモデンプン粒を、コントロール食群とペアーデッドした場合と同様である。シイタケ食の場合は、セルロース食を与えた結果¹²⁾と同様、コントロ

ール食群よりも高い総活性値を示した。単位膵臓重量当たり、および膵臓の単位タンパク質当りに換算すると、コンブ食群は、コントロール食群より、むしろ低くなる傾向を示し、シイタケ食群は単位膵臓重量当たり、および単位タンパク質当りに換算しても高くなる傾向を示した (Table 3)。なお前報¹²⁾のペアーデッドフィーディングの結果と比較できるように体重 100 g 当たりの各酵素活性 (血液の場合は 100 ml 当たり) を Fig. 1 に示す。なお参考までに血中 α -アミラーゼ活性を測定したところ、コンブ食を与えることにより低下し、そしてシイタケ食を与えることにより低下の傾向が認められた。

次に小腸粘膜重量は、コンブおよびシイタケ食を与えることにより、コントロールよりも増加した。しかし粘膜タンパク質含量を求めると、コントロール食群とほと

Fig. 1. Amylase and protease activities in pancreas or blood of rats fed on the diet containing either konbu or shiitake instead of pregelatinized potato starch.

C : Control, K : Konbu, S : Shiitake.

Groups of 6 rats each were used. Enzyme activities are described as unit per 100 g of body weight (see the materials and methods).

The asterisk shows significantly different from the control (* $p < 0.01$).

Table 4. Disaccharidase and "glucoamylase" activities in small intestinal mucosa of rats fed on the diet containing konbu(K) or shiitake(S).

	Experimental group ^{a)}		
	Diet-(C)	Diet-(K)	Diet-(S)
Mucosa (weight, g)	1.43±0.19	1.90±0.19*	1.70±0.21**
(protein content, mg)	68.2±5.4	73.4±7.4	72.6±7.9
Maltase activity (A) ^{b)}	23.9±1.7	24.0±1.9	25.8±0.8
(B)	3.25±0.43	3.26±0.26	3.59±0.33
Isomaltase activity (A)	13.7±1.9	14.3±1.7	11.6±2.0
(B)	2.00±0.13	2.06±0.30	1.59±0.17*
Sucrase activity (A)	3.97±0.79	4.69±0.59	3.71±0.81
(C)	5.82±1.14	6.42±1.03	5.10±0.81
Lactase activity (A)	0.82±0.43	1.47±0.41**	0.42±0.09**
(C)	1.20±0.61	2.04±0.68**	0.58±0.12**
"Glucoamylase" activity (A)	0.78±0.33	0.78±0.12	0.45±0.02*
(C)	1.16±0.57	1.08±0.24	0.63±0.08**

^{a)} See the legend ^{b)} to Table 1.

^{b)} (A) : μ mole hydrolyzed substrate/min/total, (B) : 1×10^{-1} μ mole hydrolyzed substrate/min/mg protein and (C) : 1×10^{-2} μ mole hydrolyzed substrate/min/mg protein.

*,** See the legend to Table 2.

んど変わらなかった。マルターゼ総活性量は、ほとんど実験材料の影響をうけることなく、コントロール食群と同様の値を示した。イソマルターゼ総活性量も、マルターゼと同様の傾向を示したが、単位タンパク質量あたりに換算すると、シイタケ食群のイソマルターゼ活性は、コントロール食群より低下していた。シュクラーゼ総活性値はコンブ食を与えることにより活性上昇を示したが、しかしジャガイモデンプン粒を与えた場合ほど顕著ではなかった。それを体重 100 g あたりに換算すると、

コントロール食群に対して有意な差があらわれた。ラクターゼ活性は、総活性量、単位タンパク質当たりの活性量とも、コンブ食を与えることにより活性上昇を示し、シイタケ食を与えることによりラクターゼ活性のみならず"グルコアミラーゼ"活性も低下した (Table 4)。

ラットに与えた各実験材料が、消化管通過に伴って変化していく様子を SEM で観察し、Fig.2 および3に示した。Fig.2 はコンブの観察写真で、投与前のサンプル(2-1)と比較すると、小腸上部(2-2)、下部(2-3)そし

Fig.2. SEM of konbu isolated from several portions of digestive tracts in rat ($\times 50$).
2-1 : Native, 2-2 : Small intestine (proximal), 2-3 : Small intestine (distal), 2-4 : Cecum.

Fig.3. SEM of shiitake isolated from several portions of digestive tracts in rat ($\times 50$).
3-1 : Native, 3-2 : Small intestine (proximal), 3-3 : Small intestine (distal), 3-4 : Cecum.

て盲腸(2-4)と消化管通過に伴い、コンブの組織が崩れていくのが観察された。また同様のことがシイタケの電顕写真についても観察された。

考 察

われわれは難消化性のジャガイモデンプン粒やセルロースのような、比較的単一な構成成分から成る食物繊維および食物繊維を含む食餌をラットに与え、その場合の消化酵素ならびに消化機能全体への影響を、自由摂食とペアードフィーディングで比較するため、短期ならびに長期あるいはラットの週齢を変えて検討を行ってきた¹²⁾。これらの結果のうち、ペアードフィーディングで摂取タンパク質量をほぼ一定とした場合の結果と、今回の結果とを比較すると、コンブ食を与えた場合は、ジャガイモデンプン粒を与えた場合と同様の結果が得られ、またシイタケ食を与えた場合は、セルロースを与えた場合と比較的よく似た消化酵素活性の変化が観察された。

すなわち、コンブ食を比較的短期間ペアードフィーディングで与えると、膵臓中の α -アミラーゼと小腸粘膜中のマルターゼ、イソマルターゼ活性はほとんど影響をうけず、膵臓中のプロテアーゼと小腸粘膜中のシュクラゼ、ラクターゼ、“グルコアミラーゼ”活性は上昇する。これは、ジャガイモデンプン粒食を、自由摂食で与えた場合の初期の変化、すなわち膵臓中の α -アミラーゼの活性低下とは異なっていた。一方、シイタケ食をペアードフィーディングで比較的短期間与えると、セルロース食投与の場合と同様、膵臓中の α -アミラーゼ、プロテアーゼの上昇が起こり、また小腸粘膜中のマルターゼ、イソマルターゼ、シュクラゼ、ラクターゼおよび“グルコアミラーゼ”活性は、ほとんど影響をうけなかった。またコンブ食を与えた場合の盲腸部は、ジャガイモデンプン粒食を与えた場合と同様に膨大しており未消化物が蓄積していた。しかしシイタケ食を与えた場合には、盲腸は膨大したが、その膨大は未消化物の蓄積も関与していると思われるが、むしろガスにより膨大していることが観察された。この点は、セルロース食投与で盲腸部の膨大が起こらず、むしろ消化管全体が縮小する傾向が観察されたこととは異なる¹⁷⁾。

一連の消化酵素活性の変化は、摂取した食物の消化に対応した結果と思われるが、個々の消化酵素活性の動きについては、現在はっきりとした関連性を述べることはむずかしい。しかしながら、食物繊維を含む食品の構成成分および組織構造が保水性、粘性等を決定し、消化管内での移動速度、消化性の差の原因となり、ひいては消化酵素活性に影響を与えるものと予想される。さらに、食物繊維成分の腸粘膜への吸着が影響する可能性も考慮する必要がある。すなわち、小腸粘膜の重量は、コンブ

食およびシイタケ食を与えるとコントロール食群より重くなるが、粘膜タンパク質量は各群とも差がみられなかった。このことは、粘質物が消化管粘膜の表面をコーティングし、消化酵素活性になんらかの影響を与えていることを示唆するものである。

本報告では、膵臓 α -アミラーゼおよびプロテアーゼ活性は、臓器中の酵素活性を測定しているが、池上ら¹⁸⁾は粘性多糖類をラットに与えた場合、実際に消化管に放出される酵素活性を測定しており、その結果アルギン酸ナトリウムとコンニャクマンナン¹⁹⁾の長期投与が、 α -アミラーゼ分泌量を促進させることを報告している。Schneeman らは¹⁹⁾、また、小麦ふすまをラットに与えることにより、摂食時に膵臓重量が大幅に減少することを報告している。これらの報告より、今回の実験結果を考えると、コンブやジャガイモデンプン粒食を、自由摂食で与えた場合には、消化管への α -アミラーゼの放出量は増大し、その結果膵臓中の α -アミラーゼ量が減少する。また、消化管へのプロテアーゼの放出は減少し、臓器中に多量に存在する。さらに、膵臓重量の増加を考慮すれば、これらの実験食投与により、かなりの α -アミラーゼの放出が考えられる。一方、ペアードフィーディングで与えた場合でも、膵臓重量が増加することより消化管への α -アミラーゼの放出量は多くなっている可能性が考えられる。シイタケおよびセルロース食を投与した場合でも、現象は異なるが同様の推論がたてられる。

各実験材料の消化管通過に伴う変化を、走査型電子顕微鏡(SEM)で観察したが、両材料とも消化管通過に伴い、物理的、化学的変化をうけていることが推定された。岸ら²⁰⁾は、藻類およびきのこ類のヒトにおける利用エネルギー値を求め、コンブの消化吸収率は $57.6 \pm 25.4\%$ 、シイタケは $45.5 \pm 18.4\%$ であることを報告しており、これらの値はSEM観察の結果を支持するものである。

要 約

食物繊維を供給する食品である、コンブおよびシイタケを含む食餌をラットに、ペアードフィーディングで、8日間与え、消化酵素活性と、消化機能におよぼす影響を検討した。また、それら食品の消化管内での形態観察をSEMで行なった。その結果、

1) 膵臓中の α -アミラーゼの総活性は、コントロール食群と比較して、コンブ食群では同様の活性、シイタケ食群では約2倍上昇した。プロテアーゼ総活性は、両実験食群とも上昇した。

2) 小腸粘膜中の糖類水解酵素活性について、シュクラゼ、ラクターゼ総活性は、コンブ食を与えることにより上昇した。“グルコアミラーゼ”総活性は、シイタケ食を与えることにより低下し、一方、マルターゼ、イ

ソマルターゼ総活性は、ともに実験材料に影響されなかった。

3) 実験材料の消化管内での SEM による形態観察より、いずれも消化管通過に伴い、徐々にその形態が崩れていくようすが観察された。

以上より、コンブおよびシイタケは、同じ食物繊維を含む食品ではあるが、それらの性質により、消化酵素活性に異なった影響を与えることがわかった。

文 献

- 1) 印南 敏：臨床栄養，57，605 (1980)
- 2) 鈴木和枝，池田義雄：臨床栄養，57，615 (1980)
- 3) 中村治雄：臨床栄養，57，624 (1980)
- 4) 渡辺嘉久，渡辺正敏：臨床栄養，57，630 (1980)
- 5) 江上不二夫編：多糖生化学 (生物学編)，605 (1969)，共立出版 (東京)
- 6) 原田篤也編：総合多糖類科学 (下)，310 (1973)，講談社 (東京)
- 7) Southgate, D.A.T.: *J. Sci. Food. Agric.*, **20**, 326 (1969)
- 8) Van Soest, P.J. and Wine, R.H.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **50**, 50 (1967)
- 9) 森 文平，久島和美，岩崎富生，大宮弘道：農化，55，787 (1981)
- 10) 倉沢新一，菅原龍幸，青柳康夫，林 淳三：第34回日本栄養・食糧学会大会 (東京) 要旨集，86 (1980)
- 11) Wang, C.C. and Grossman, M.L.: *Am. J. Physiol.*, **164**, 527 (1951)
- 12) 藤田修三，高谷友久，不破英次：栄養と食糧，34，287 (1981)
- 13) Dahlqvist, A.: *Anal. Biochem.*, **22**, 99 (1968)
- 14) Schlegel-Haueter, S., Hore, P., Kerry, K.R. and Semenza, G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **258**, 506 (1972)
- 15) 不破英次，田中三恵，西尾久子：澱粉科学，20，172 (1973)
- 16) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1957)
- 17) 竹久文之，鈴木 徹，木村修一：栄養と食糧，33，27 (1980)
- 18) Ikegami, S., Tsuchihashi, N., Nagayama, S. and Innami, S.: *Nutr. Rep. Int.*, **26**, 239 (1982)
- 19) Sheard, N.F. and Schneeman, B.O.: *J. Food Sci.*, **45**, 1645 (1980)
- 20) Kishi, K., Inoue, G., Yoshida, A., Fuwa, H., Koishi, H., Koike, G., Miyoshi, T., Inoue, T., Yoshida, M. and Omori, A.: *Nutr. Rep. Int.*, **26**, 183 (1982)

(昭和57年12月30日受理)