ラットの消化管組織形態に及ぼす食物繊維の影響

青江 誠一郎^{*,**}, 太田 富貴雄^{**}, 綾 野 雄 幸^{**}

^{*} 雪印乳業(株) 技術研究所

^{**} 千葉大学園芸学部農芸化学科

Effects of Dietary Fiber on Histological Changes in the Rat Gastrointestinal Tract

Seiichiro AOE,^{*,**} Fukio OHTA^{**} and Yūkō AYANO^{**}

^{*} Technical Research Institute, Snow Brand Milk Products Co., Ltd., Kawagoe 350

^{**} Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo 271

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 42, 139~145 (1989)

The effects of dietary fiber on histological changes in the gastrointestinal tract of rats were studied. A fiber-free diet was supplied for 17 days to a control group and a diet containing 2% rice bran hemi-cellulose (RBH), high-methoxylated pectin (HMP), or microcrystalline cellulose (MCC) was given to one of three other groups. Weight gain and feed efficiency were greater in the dietary fiber groups than in the control group. Light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM) were used to examine the structural changes in the alimentary tract after these dietary manipulations. Mild swelling of the villi was observed by LM in the jejunum of rats fed the 2% RBH and HMP diets. Irregular villi were found by SEM in the jejunum and ileum of rats fed the water-soluble dietary fiber, especially HMP. Swelling at the villus tips was revealed by LM throughout the small intestine of rats fed MCC. The present results suggest that the structural modifications induced by a 2% level of these dietary fibers did not affect the functional characteristics of the gastrointestinal tract because weight gain and feed efficiency were greater in the dietary fiber groups than in the control group.

(Received August 19, 1988)

食物繊維 (dietary fiber, 以下 DF と略す) が生体に及ぼす効果は、非常に多岐にわたり、そのメカニズムも多様である。疫学的調査により示された DF の抗動脈硬化性作用や抗腫瘍性作用は、おもに、胆汁酸結合能、保水能力、腸管通過時間短縮、腸内菌叢の修飾、栄養成分の吸収阻害などと関連していると考えられている¹⁾²⁾。

DF の生理化学作用は、一般的に、摂取した食事成分および、消化酵素あるいは消化管ホルモンの分泌、腸内菌叢などの内因性あるいは食物などの外因性因子との相互作用を中心に考えられているが、DF が直接的に消化管粘膜に作用し、生体の吸収能力を修飾するという考えもある³⁾。Jacobsら⁴⁾ は、小麦フスマを20% 含む飼料をラットに投与すると、遠位結腸の粘膜内の白血球が増加し、近位結腸の細胞内 RNA が減少する結果、小麦フスマが結腸粘膜細胞の増殖に影響を与えることを報告して

いる。Paulini ら⁵⁾ は、サイリウム 10% 添加食をアフリカミドリザルに長期間与えると、小腸の絨毛の腫張、絨毛構造の不規則化や微絨毛の剝離、不規則化が小腸絨毛先端で観察されることを報告している。これらの実験は、精製ないし半精製された DF を 10~20% 飼料に添加するといった、比較的高レベル投与の際の影響を調べたものがほとんどである。しかし、現実的には、これら DF が摂取される量は、食事摂取量に対し、5% 以下であることが多いと考えられる。摂取すべき DF の質と量が問われるようになってきている現在、種々の添加レベルでの検討は重要である。

水溶性 DF として、すでいくつかの生理効果が報告されている米ヌカヘミセルロース標品 (RBH)⁶⁾⁷⁾ ならびに高メトキシルペクチン (HMP)^{8)~11)} を、不溶性 DF として、微結晶セルロース (MCC) を用いた。RBH および HMP は、1~5% レベルの比較的低レベルの投与でも、ラットのコレステロール代謝や腸内菌叢などに影響

^{*} 〒350 川越市南台 1-1-2

^{**} 〒271 松戸市松戸 648

Table 1. Composition of hemicellulose preparation isolated from defatted rice bran.

Components	% of dry matter
Cellulose ^{a)}	0.2
Non-cellulosic polysaccharide ^{a)}	68.9
Glucose	3.1
Arabinose	25.9
b) Xylose	25.1
Galactose	3.6
Mannose	nd.
Uronic acid ^{c)}	6.0
Lignin ^{a)}	2.4
Total nitrogen	4.1
Ash	4.4

^{a)} Measured by method of Southgate. ^{b)} The individual neutral sugars measured as alditol acetates by gas chromatography. ^{c)} Uronic acid measured by decarboxylation method.

を与えることが知られている⁶⁾⁷⁾¹¹⁾。本研究は、これらの DF を 2% 実験飼料に添加して、ラットに投与した際の消化管組織の形態変化について、組織標本の光学顕微鏡 (LM) ならびに走査型電子顕微鏡 (SEM) による検索を行ったものである。

実験方法

1. 実験試料

水溶性 DF として、RBH ならびに HMP (エステル化度 65%, Brown NF, UNIPLECTIN) を、不溶性 DF として、MCC (RC-591, AVICEL) を用いた。

“ヘミセルロース B”を主体とした RBH の調製は、脱脂米ヌカから以下の方法により抽出、分離した⁶⁾⁷⁾。すなわち、グルコアミラーゼ溶液を用いて、脱脂米ヌカからでんぷんを除去した後、0.5 N 水酸化ナトリウム溶液で抽出した。抽出液を分離後、トリクロロ酢酸にて除タンパクし、中和、透析、アルコール精製、凍結乾燥を行い、標品とした。収量は、脱脂米ヌカ 100 g 当たり約 4.5 g であった。RBH の成分分析は、Southgate 法¹²⁾により行った。また、糖組成については、Southgate 法の加水分解条件で処理した後、アルディトールアセチル化¹³⁾し、ガスクロマトグラフ法で測定した。ウロン酸については、カルパゾール硫酸法により測定した¹⁴⁾。RBH の成分を Table 1 に示す。この RBH は、非セルロース多糖類が大半を占め、構成糖は、キシロースとアラビノースがおもなものであった。

2. 動物実験

実験飼料の組成を Table 2 に示す。DF 無添加飼料は α -コーンスターチを糖質源としたもので、DF 各添加飼

Table 2. Composition of diet (%).

	Fiber-free	Water-soluble DF ^{a)}	Cellulose ^{b)}
Casein	22	22	22
Lard	9	9	9
Corn oil	1	1	1
Salt mixture ^{c)}	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture ^{c)}	1	1	1
Choline chloride	0.2	0.2	0.2
Dietary fiber	—	2	2
α -Corn starch	63.3	61.3	61.3

^{a)} Water-soluble dietary fiber: Rice bran hemicellulose (RBH), High-methoxylated pectin (HMP).

^{b)} Microcrystalline cellulose (MCC). ^{c)} Prepared according to AIN-76 prescription (1977 *J. Nutr.* 107: 1340).

料は、この α -コーンスターチを DF 2% でそれぞれ置換したものを用いた。

体重 80~90 g の Sprague-Dawley 系雄ラット (日本クレア) を、DF 無添加飼料で 5 日間予備飼育した後、1 群 3 匹ずつ 4 群に分け、Table 2 に示した実験飼料をそれぞれ投与して 17 日間飼育した。なお、飼料および水は自由に摂取させた。ラットは、実験終了日の翌日 (一夜絶食させた)、エーテル麻酔下で開腹し、ただちに、胃・十二指腸 (胃下 3 cm)・空腸 (胃下 7~10 cm)・回腸 (盲腸より 5~8 cm 上部)・盲腸・結腸をそれぞれ摘出した。これら部位から、1 cm ずつ切りとり、生理食塩水に浸して切開し、内容物を取り除いた後、10% ホルマリン溶液にて固定した。成長結果ならびに解剖時の結果の統計処理は、分散分析を行い、平均値の差の検定は、Tukey 型の多重比較法を用いた。

3. 組織標本の LM による検索¹⁵⁾

10% ホルマリン固定組織を胃・十二指腸・空腸・回腸・盲腸・結腸の部位に分けて切り出し、常法によりパラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン-エオジン染色 (HE 染色) および封入の操作により組織標本作製し、LM によって検索した。

4. 消化管組織形態の SEM による検索¹⁶⁾

各ホルマリン固定組織を、数 mm² にカミソリで切断し 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) にて 2 回洗浄後、2.5% グルタルアルデヒドで 2 時間前固定し、0.5% オスミウム酸で一夜、後固定した。固定後、50~100% のアルコール系列による脱水、イソアミル酢酸による置換、臨界点乾燥および金-パラジウム合金イオンスパッタコーティングし、SEM (日立 S-800) によって検索し

Table 3. Effect of dietary fibers on body weight gain, feed intake and relative weight of liver to eviscerated carcass.

	Fiber-free	RBH ^{a)}	HMP ^{b)}	MCC ^{c)}
Initial weight (g)	125.9 ± 1.4	125.9 ± 1.0	126.2 ± 1.5	125.8 ± 2.9
Final weight (g)	256.6 ± 10.0	261.7 ± 5.8	261.1 ± 0.7	259.8 ± 10.2
Weight gain (g)	130.7 ± 8.7	135.8 ± 6.0	134.9 ± 2.1	134.0 ± 7.7
Feed intake (g)	308.2 ± 6.8	305.8 ± 9.5	303.7 ± 7.4	307.1 ± 3.7
Feed efficiency ^{d)}	0.42 ± 0.02	0.44 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.44 ± 0.01
Eviscerated carcass (g)	194.6 ± 7.4	195.7 ± 1.9	195.1 ± 0.6	193.5 ± 7.6
Carcass weight/body weight (%)	80.6 ± 7.4	79.9 ± 1.3	80.2 ± 0.4	78.9 ± 0.2
Liver (%)	3.92 ± 0.03	4.10 ± 0.27	4.15 ± 0.06	4.25 ± 0.07

Values are Means ± S.E. (n=3).

^{a)} Rice bran hemicellulose. ^{b)} High-methoxylated pectin. ^{c)} Microcrystalline cellulose. ^{d)} Weight gain/Feed intake.

Table 4. The distribution of histological changes by dietary fibers.

Diet		Small intestine ^{a)}					
		Stomach	Duodenum	Jejunum	Ileum	Cecum	Colon
Fiber-free	(3) ^{b)}	(-) ^{c)}	(-)	2(+)	(-)	(-)	(-)
Rice bran hemicellulose	(3)	(-)	(-)	1(+)	(-)	(-)	(-)
High-methoxylated pectin	(3)	(-)	(-)	1(+)	(-)	(-)	(-)
Microcrystalline cellulose	(3)	(-)	1(+)	2(++)1(+)	2(+)	(-)	(-)

^{a)} The changes in the small intestine were primarily swelling of villi. ^{b)} Number of rats. ^{c)} Values show number of rats affected: (-)=No change; (+)=Slight change; and (++)=Significant change.

た。

実験結果

1. 動物実験

成長結果を Table 3 に示す。RBH, HMP, MCC 各添加群とも、成長は良好であり、DF 添加による下痢などの症状は認められなかった。増体重、屠体重および飼料効率、各群間に有意差は認められなかったが、DF を添加した群のほうが DF 無添加群に比べて、増体重、飼料効率が高い傾向にあった。

2. 組織標本の LM による検索

各飼料投与群のラットの胃・十二指腸・空腸・回腸・盲腸・結腸の組織標本の LM による検索を行った。組織学的に変化の認められた部位について、Table 4 にまとめた。また、空腸および回腸の典型的な LM による像を Fig. 1, 2 に示す。MCC 添加群の空腸～回腸は、絨毛の腫張の頻度が高かった (Fig. 1 d, 2 d)。また、空腸において、DF 無添加群で 2 例、RBH, HMP 添加群でそれぞれ 1 例ずつ若干の腫張が認められた。全群ともに、杯細胞の増生、バイエル氏板 2 次濾胞形成が空腸～回腸に

て認められた。胃・盲腸・結腸は、組織的に著変が認められなかった。

3. 消化管組織形態の SEM による検索

LM によって組織的に変化の認められた空腸および回腸の SEM 像を Fig. 3, 4 に示す。DF 無添加群の空腸は幅が広く、葉状もしくは舌状の絨毛像となっていた (Fig. 3 a)。RBH 添加群は、DF 無添加群と類似した絨毛構造であった (Fig. 3 b)。HMP 添加群は、絨毛の構造がやや不規則になり、丸みを帯びた指状の絨毛像であった (Fig. 3 c)。一方、MCC 添加群の絨毛は、DF 無添加群の絨毛と似た構造をしているが、先端部分が一部開裂した形態が認められた (Fig. 3 d)。

回腸になると、絨毛構造は、飼料間の差が他の部位よりも顕著であった。すなわち、DF 無添加群は、葉状の絨毛が幅せまく、規則正しく配列している (Fig. 4 a) のに対し、HMP および MCC 添加群は、丸みを帯びた指状の構造が不規則に配列していた (Fig. 4 c, d)。HMP 添加群は、不規則な絨毛がかなり広範囲に分布していた。RBH 添加群は、HMP 添加群のような顕著な構造が認められなかった (Fig. 4 b)。

考 察

脂質吸収や代謝実験でよく用いられる条件下で、性質の異なる DF 成分をラットに投与した際に起こる消化管組織の形態変化を、LM ならびに SEM によって検索した。

DF 無添加, RBH, HMP, MCC 各添加飼料を投与したラットは、いずれも発育が良好だったことから、2%程度の DF の添加量では胃腸管に機能的障害を与えないと考えられる。本研究で用いた RBH の添加濃度は、本物質の実用化を考慮した場合、0.5~1% が適当であり、その数倍量の RBH による組織形態への影響を検討することが合理的であることから、2% と決定された。また、これまでの報告でもヘミセルロースの有効濃度は、0.5~2% であるとされている⁶⁾。

RBH, HMP による消化管の形態は、空腸~回腸にかけて一部、絨毛の腫張が LM によって認められ、絨毛構造の形態や間隔・配置が不規則になる傾向があることが SEM によって明らかになった。これらの変化の度合いは HMP のほうが高く、RBH は、むしろ DF 無添加群に類似した構造が多かった。この違いは、HMP は、特定の条件下でゲル形成能の強い DF であるのに対し、RBH は、ホロセルロースの形態から水溶性のヘミセルロース画分を取り出した形態であり¹⁷⁾、ペクチンのような強いゲル形成能がないことに起因していると思われる。一方、MCC は、十二指腸~回腸にかけて、絨毛先

端の腫張の頻度が高くなるのが LM によって認められ、絨毛構造が丸みを帯びた不規則な形態になることが SEM によって明らかになった。LM による所見で認められた絨毛の腫張が、SEM では、絨毛先端部が丸みを帯びた指状の構造あるいは、一部開裂した構造として現れたと考えられる。Gordon ら¹⁸⁾の実験成績によると、セルロース粉末を 0~20% 飼料に添加してラットに与えると、セルロースレベルを上げるに従い、十二指腸・空腸でクリプト上皮細胞の有糸分裂が活性化するが、この状態は、腸全体としては本質的に正常であると述べている。また、Jones ら¹⁹⁾は、MCC 10% 食とペクチン 10% 食をラットに与えて、小腸絨毛パターンを比較している。それによると、MCC 食は、DF 無添加食に比べて、絨毛パターンはほとんど変化しておらず、ペクチン食は絨毛が隆起し、不規則な形をもったさまざまな形態をとったと報告している。一方、片山ら²⁰⁾は、ラットを用いた実験で、4% セルロース食の場合、小腸絨毛は正常で、4% ペクチン食で、小腸絨毛の配列が不規則になり、絨毛先端部の欠損が認められることを報告している。本実験で観察された MCC による形態学的変化は、微結晶形態特有の現象であるのか、これまでの報告が示すように MCC が絨毛細胞の更新を促進し、上皮細胞の変化を誘発したのかは、さらに実験期間の違い、粒度の差、細胞変化の量的な把握などの検討を行うことにより解明されるであろう。

RBH に関しては、消化管組織形態に及ぼす影響を検

Fig. 1. LM micrographs of jejunum from rats fed Fiber-free diet (1a), Rice bran hemicellulose diet (1b), High-methoxylated pectin diet (1c), and Microcrystalline cellulose diet (1d).

Note the swelling at the villus tips in the HMP and MCC group. Hematoxylin and eosin staining, Magnification $\times 16$.

Fig. 2. LM micrographs of ileum from rats fed Fiber-free diet (2a), Rice bran hemicellulose diet (2b), High-methoxylated pectin diet (2c), and Microcrystalline cellulose diet (2d).

Note the swelling at the villus tips in the MCC group. Hematoxylin and eosin staining, Magnification $\times 16$.

Fig. 3. Villus shapes on the jejunum seen in rats fed Fiber-free diet (3a), Rice bran hemicellulose diet (3b), High-methoxylated pectin diet (3c), and Microcrystalline cellulose diet (3d).

Note the cracks at the villus tips in the MCC group and dull finger-like villi in the HMP group. Magnification $\times 200$.

Fig. 4. Villus shapes on the ileum seen in rats fed Fiber-free diet (4a), Rice bran hemicellulose diet (4b), High-methoxylated pectin diet (4c), and Microcrystalline cellulose diet (4d).

Note narrower villus shapes in the ileum of all rats. Finger-like villi are irregular in the HMP and MCC groups, and more prevalent in the former than in the latter. Magnification $\times 200$.

討した報告はないが、HMP や MCC に比べてほとんど影響ないことが認められた。片山ら²⁰⁾は、ペクチン4%添加食をラットに与えた場合、小腸形態の変化が現れるのは2週目以降であると報告している理由から、本実験の飼育期間を17日間とした。しかし、2%のRBHの添加量が長期間投与により消化管の機能に影響を及ぼすかについては、さらに検討する必要がある。

以上のことより、HMP は、2% 程度の添加量では、消化管の機能には影響を及ぼさないと考えられる。また、MCC は、一部、消化管の器質変化が明らかにされたが、RBH や HMP と同様に、ラットの発育に影響がみられなかったことから、腸管の機能にまで影響を及ぼしているとは考えられない。これらの HMP, MCC に比べて、RBH はほとんど消化吸収に影響はないと考えられる。

要 旨

RBH, HMP, MCC を2% 添加した飼料をラットに17日間投与し、消化管組織の形態変化についてSEMおよびLMによる検索を行い、DF無添加飼料を投与したラットと比較した。

1) 水溶性 DF である RBH および HMP を投与したラットの空腸の絨毛に、若干の腫張が起こることがLM検索により認められ、空腸～回腸の絨毛の間隔・配置が不規則になる傾向があることがSEMにより明らかにされた。変化の度合いは、HMP投与ラットのほうが高かった。しかし、ラットの発育がDF無添加群よりも良好であったことから、これら変化が消化管の機能にまで影響を及ぼしているとは考えられない。

2) 不溶性 DF である MCC を投与したラットの十二指腸～回腸の絨毛先端に、腫張が起こることがLM検索により認められた。絨毛形態そのものは、水溶性 DF ほどの変化がSEMにより認められなかった。MCCによるこの消化管の器質変化も水溶性 DF と同様に、腸管の機能にまで影響を及ぼしているとは考えられない。

本研究を実施するにあたり、走査型電子顕微鏡検索において、雪印乳業(株)技術研究所 相良康重氏に、組織標

本検索においては、雪印乳業(株)生物科学研究所 侍岡貞雄氏の協力に感謝します。また、本論文を作成するにあたってご指導をいただきました理研 水谷武夫博士に感謝いたします。

文 献

- 1) Kay, R.M. and Strasberg, S.M. : *Clin. Invest. Med.*, **1**, 9 (1978)
- 2) Krichevsky, D. : *Am. J. Pathol.*, **84**, 615 (1976)
- 3) Cassidy, M.M., Lightfoot, F.G., Gram, L.E., Story, J.A., Krichevsky, D. and Vahouny, G.V. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 218 (1981)
- 4) Jacobs, J.R. and Schneeman, B.O. : *J. Nutr.*, **111**, 798 (1981)
- 5) Paulini, I., Mehta, T. and Hargis, A. : *J. Nutr.*, **117**, 253 (1987)
- 6) 綾野雄幸, 太田富貴雄, 渡辺幸雄, 三田浩三, 中村 強 : 食物繊維(印南 敏, 井上五郎 他編), 201 (1983), 篠原出版(東京)
- 7) 青江誠一郎, 太田富貴雄, 綾野雄幸 : 栄食誌, **41**, 203 (1988)
- 8) Keys, A., Grande, F. and Anderson, J.T. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **106**, 555 (1961)
- 9) Palmer, G.H. and Dixon, D.G. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **18**, 437 (1966)
- 10) Kay, R.M. and Truswell, A.S. : *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 171 (1977)
- 11) 石井静江, 長谷川忠雄, 鈴木隆雄 : 栄養と食糧, **33**, 297 (1980)
- 12) Southgate, D.A.T. : The analysis of Dietary Fiber in Food (James, W.P.T. and Theander, O., eds), **1** (1981) Marcel Dekker, Inc. (New York)
- 13) 上野民夫 : 化学と生物, **8**, 114 (1970)
- 14) Bitter, T. and Muir, H. : *Anal. Biochem.*, **4**, 330 (1962)
- 15) 日本病理学会(編) : 病理組織標本作製技術(上, 下) (1981), 医歯薬出版(東京)
- 16) 日本電子顕微鏡学会関東支部(編) : 電子顕微鏡生物試料作製法 (1975), 丸善(東京)
- 17) 綾野雄幸 : 食物繊維(印南 敏, 桐山修八 編) (1982) 第一出版(東京)
- 18) Gordon, D.T., Williford, C.B. and Ellersieck, M.R. : *J. Nutr.*, **113**, 2545 (1983)
- 19) Jones, C.T., Owen, R.L. and Jones, A.L. : *Dig. Dis. Sci.*, **27**, 6 (1982)
- 20) 片山(須川)洋子, 菊崎泰枝, 泉田明子 : 栄食誌, **40**, 64 (1987)

(1988年8月19日受理)