報 文

[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.65, No.9, pp.1337~1342, 1991]

アマランス（食用赤色2号）長期投与ラットの 成長と脂質代謝におよぼすビート食物繊維の影響

有塚 勉, 武田秀敏*, 桐山修八**

(日本甜菜製糖株式会社総合研究所,
*今治明德短期大学, **北海道大学農学部農芸化学科)

平成3年3月4日受理

Effects of Beet Dietary Fiber on Growth and Lipid Metabolism of Rats Fed an Excess Dose of Amaranth (Food & C Red No.2)

Tsutomu ARITSUKA, Hidetoshi TAKEDA* and Shuhachi KIRIYAMA**

Research Center, Nippon Beet Sugar Manufacturing Co., Obihiro 080

* Imabari Meitoku Junior College, Imabari 794

** Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Hokkaido
University, Sapporo 060

Dietary fiber-mediated protection of amaranth (Food & C Red No.2, Am) toxicity was examined in young male rats for a period of 12 weeks. The dietary fiber source was prepared from roots of beet (BDF). Three kinds of diets were used: a 25% casein-sucrose basal diet (CS diet), the basal diet plus 5% Am (CSA diet), and the basal diet plus 5% Am plus 5% BDF (CSAB diet). The initial growth of rats fed the CSA diet during the first week was slow, and then increased rapidly up to week 3. After that, however, their growth followed by an increase at decreasing rate until week 12. The growth curve of rats fed the CSAB diet was very similar to that of rats fed the CS diet. The final body weights of rats fed CS, CSA and CSAB diets were 481 ± 9.9 , 357 ± 12.0 and 463 ± 14.7 g, respectively. The food efficiency in rats fed the CSA diet was also significantly lower than that in rats fed the CS or CSAB diet; although the food intake for 12 weeks was not significantly different among the three groups. Therefore, the growth retardation in the CSA diet-fed group may be due mainly to decreased food efficiency, while the anti-Am activity of BDF in the CSAB diet-fed group would have improved nutrient utilization. Serum cholesterol and triglyceride concentrations in CS diet-fed rats gradually increased with time, while their concentrations in rats fed the CSA diet decreased significantly. These lipid concentrations in rats fed the CSAB diet were relatively constant. The changes in nutrient utilization probably depends on the toxicity levels of Am and the anti-Am activity of BDF.

(Received March 4, 1991)

緒 言

アマランス（食用赤色2号, Am）をラットの精製基本飼料に5%添加すると、著しい成長阻害をひき起こすが、これに食物繊維（Dietary fiber, DF）を5%~10%添加すると成長はほぼ完全に回復する^(1,2)。DFのこの効果の発現に関しては、現在数種の機構が推定されてい

る⁽³⁾。著者らは、この効果は、栄養素とAmが消化管を通過していくとき、DFが消化管腔内内容物の移動を遅らせるので、その間に栄養素の消化・吸収が改善され、ひいては、成長回復を示すものと推定している⁽²⁻⁵⁾。

Am毒性の阻止効果に関するこれまでの研究報告をみると、Amを単独にあるいはDFと同時に添加した飼料を2~3週間ラットに与えて、成長速度などを比較して

いる。この期間内の成長応答を観察すると、Am による成長抑制は投与後 1 週間以内に最も著しく現われ、その後は“適応的”に緩和されている。これは初期の飼料摂取量の著しい低下により説明されているが⁽⁹⁾、その後摂取量の増加につれて成長の遅れは徐々に縮まる傾向を示す。しかし、3 週間以後の成長の推移を調べた報告はなく、DF の Am 毒性阻止効果の持続性を調べた報告も見当たらない。本実験では、こうした点を検討する目的で、12 週間の長期飼育を試み、この間の成長応答を調べた。また、過去の報告⁽⁶⁾でタンパク質の利用率変動を調べ、DF は Am のようにタンパク質の消化性を悪くするような物質と共存した場合には、むしろ利用を改善することを明らかにしたが、他の栄養素の利用も Am で低下している可能性も考えられるので、今回は脂質代謝を比較した。その結果、飼育が長期になるにつれて Am 投与による成長抑制はふたたび強まるが、一方、DF の効果は、12 週間ほぼ完全に持続することもわかったので報告する。

実験方法

実験動物には 3 週齢の SD 系雄ラット（静岡県実験動物農業協同組合）を用いた。食物繊維源にはビートの砂糖抽出残渣から調製した乾燥粉末（beet dietary fiber, “ベタス”，日本甜菜製糖）を用い、本文中では以下これを BDF と略す。BDF の使用時の粒度は 100 メッシュ通過物とした。

BDF の成分組成はすでに報告⁽²⁾したとおりである。ラットは精製基本飼料（Table I）で 10 日間予備飼育した後、3 群（1 群 8 匹）に組分けした。すなわち、基本飼料群（Basal）、基本飼料にアマランス（食用赤色 2 号，Am と略、三栄化学工業）を 5% 添加した対照群、および基本飼料に Am 5% と BDF 5% を同時に添加した群（BDF 同時添加群）である。なお、Am や BDF の添加は基本飼料に置き換えて行った。ラットはステンレス製個別ケージに入れ、12 時間交替の照明下 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ に調整した動物室で飼育した。飼料、水は自由に与え、週 3 回体重と飼料摂取量を記録した。なお、みかけの飼料効率率は体重増加量/飼料摂取量 (g/g)、真の飼料効率率は体重増加量/(飼料摂取量-Am 摂取量-BDF 摂取量) (g/g) で算出した。

飼育開始から 3 週ごとにラットの尾静脈より採血し、血清中の総コレステロール (Chol)、中性脂肪 (TG) を

Table I. Composition of Basal Diet

Constituent	Content (%)
Casein	25
Corn oil ¹	5
Salt mixture ²	4
Vitamin mixture ³	1
Choline chloride ⁴	0.2
Vitamin E granule ⁵	0.05
Sucrose	to make 100

¹ Mixed with 0.2 ml of Chocola A which contained retinyl palmitate and ergocalciferol dispersed in water to provide 6000 IU and 600 IU, respectively, just prior to preparing the diet. Chocola A was purchased from Eisai Co., Ltd., Tokyo.

² This was identical with Mineral Mixture 2 (MM 2) formulated by Ebihara *et al.*⁽⁶⁾.

³ This was identical with Harper's Mixture⁽⁷⁾ with sucrose as a diluent.

⁴ Four milliliters of a 50% solution in 50% ethanol were added.

⁵ Trade name is “Juvela granule,” purchased from Eisai Co., Ltd., Tokyo and it contained 200 mg of all-rac- α -tocopheryl acetate per gram.

測定した。Chol は久城らの α -フタルアルデヒド法⁽⁸⁾に従い、TG は GK-GPO 酵素法 (TG-Five, カイノス) のキットを用いて測定した。なお、採血は午前 9 時より 4 時間絶食させた後行った。

飼育終了後、ラットを断頭により殺し各臓器ならびに脂肪組織を摘出し、おのおのの湿重量を測定した。肝臓については、凍結保存 (-38°C) した後、総脂質ならびに Chol 量も測定した。前者は Folch らの方法⁽⁹⁾を用い、重量法で行い、後者は Pearson らの方法⁽¹⁰⁾により行った。

結果は、一元配置分散分析を行い、有意差 ($p < 0.05$) 検定は Duncan の multiple range test⁽¹¹⁾を採用した。

結 果

ラットを 3 種の飼料で 12 週間飼育したときの成長曲線を Fig. 1 に示した。5% Am 添加群（対照群）は、飼育開始から 1 週間くらい著しい成長抑制を受けるものの、その後好転して直線的な成長を示した。しかし、4 週目ころより成長速度はふたたび低下し始め、基本飼料群との成長の差は日を追うごとに拡大していった。一方 5% BDF 同時添加群は、同量の Am を含むにもかかわ

Fig. 1. Effects of Beet Dietary Fiber (BDF) on Growth of Young Male Rats Fed 25% Casein-Sucrose Basal Diet (CS diet), CS Diet plus 5% Amaranth (CSA Diet) and CSA Diet plus 5% BDF (CSAB Diet) for 12 Weeks. ●, CS diet; ▲, CSA diet; ○, CSAB diet.

らず、飼育期間中有意な成長抑制はみられなかった。すなわち、BDF による成長の完全回復は、12 週の長期においても持続することがわかった。次に各週の試料摂取量は群間で差はなく、12 週間の摂取量でも群間で差は

なかった (Table II)。飼料中の Am や BDF を除いた正味の栄養素摂取量と比較しても同様であった。飼料効率は、対照群では実験期間を通して有意に低い値を示した。BDF 同時添加群では、飼料効率の面でも完全回復し、栄養素の摂取量に基づいて計算した場合この傾向は一層明瞭であった (Table II)。Fig. 2 は、週ごとの飼料効率の変化を示したものである。すなわち、基本飼料群や BDF 同時添加群の飼料効率は、週を追うごとにほぼ同じ速度で低下していくのに対し、対照群では1週目に著しく低下し、3週目まで一時的に上昇するもののその後ふたたび急激に低下することがわかった。なお、みかけの飼料効率と真の飼料効率において、その傾向は変わりなかった。

次に期間中の血清 TG およびコレステロールレベルの変化を Fig. 3 に示した。対照群の血清 TG およびコレステロールレベルは、飼育開始時と変わらないがそれ以下なのに、基本飼料群では、両者とも加齢につれて上昇する傾向がみられた。一方 BDF 同時添加群では、基本飼料群とほぼ等しい成長を示したにもかかわらず (Fig. 1)、TG ならびにコレステロールレベルの上昇は明らかに抑えられていた。また同群の肝臓単位重量当たりの総脂質、体重当たりの副睪丸および腎臓周囲の脂肪組織重量パーセントは、基本飼料群に比べ有意に低い値であった (Table III)。臓器重量 (体重単位パーセント) では、対照群は他の群に比べ消化管は肥大傾向を示し、とくに胃、小腸、盲腸で顕著であった。また、BDF 同時添加群は、他の群に比べ肝臓は有意に低い値を示した (Table III)。

Table II. Body Weight Gain, Food Intake and Food Efficiency in Rats Fed Three Kinds of Diets for 12 Weeks¹

	Basal diet	Basal+5% amaranth ²	Basal+5% amaranth +5% BDF ³
Body weight gain (g/12 weeks)	344.3±9.12 ^{a,4}	220.7±12.6 ^b	326.0±14.1 ^a
Food intake (g/rat)	1712±52.3	1700±45.3	1708±58.2
Nutrient intake ⁵ (g/rat)	1712±52.3	1615±43.1	1538±52.4
Apparent food efficiency	0.202±0.00 ^a	0.130±0.01 ^b	0.190±0.00 ^a
True food efficiency ⁶	0.202±0.00 ^a	0.137±0.01 ^b	0.212±0.00 ^a

¹ Average initial body weight, 136.8 g (range: 128.3 to 148.0 g).

² Food Red No.2 (trisodium salt of 1-(4-sulfo-1-naphthylazo)-2-naphthol-3,6-disulfonic acid).

³ Dietary fiber prepared from beet root, which had a particle size less than 100 mesh.

⁴ Mean±SEM (n=8); values not sharing a common superscript letter within a line are significantly different (p<0.05).

⁵ Amaranth and BDF were regarded as non-nutritive components.

⁶ This value is calculated according to the following equation: body weight gain/nutrient intake (g/g, for 12 weeks).

Fig. 2. The Time-Dependent Changes in Weekly Apparent Food Efficiency and True Food Efficiency of Young Male Rats Fed 25% Casein-Sucrose Basal Diet (CS Diet), CS Diet plus 5% Amaranth (CSA Diet) and CSA Diet plus 5% BDF (CSAB Diet) for 12 Weeks. ●, ▲, ○; apparent food efficiencies of rats fed CS, CSA and CSAB diets. ▲—▲, ○—○; true food efficiencies of rats fed CSA and CSAB diets. Apparent and true food efficiencies were calculated as follows; (weight gain)/(food intake) (g/g) and (weight gain)/(food intake—amaranth intake—BDF intake) (g/g).

考 察

Am 毒性に伴うラットの成長抑制に対し、ある種の DF の同時投与による成長回復現象は、これまで数多く報告^(9,13)されている。また、この DF の Am 毒性阻止作用の発現については、現在、数種の機構が考えられている⁽³⁾。著者らは、小腸灌流時、流速を下げれば Am 共存時でも、グリシルグリシン、シュクロースの消化・吸収

は飛躍的に改善されること⁽⁶⁾、また DF による成長回復と小腸腔内移動速度 (SITS) の間に強い負の相関があること^(2,12)などより、DF の効果発現は、DF が消化管腔内で Am と共存するとき、小腸との相互作用を通じて、腔内容物の移動速度が緩和され、栄養素の消化・吸収が改善され、ひいては成長の完全回復が得られると推定している⁽¹³⁾。しかし、DF 摂取時にどんな機構で SITS の遅延が起こるか、まだ明瞭な解答はえられていない⁽¹⁴⁾。

本実験で、12 時間の長期飼育をこころみたと、飼育が長期になるにつれて Am 投与による成長抑制はふたたび強まる傾向を示した。一方、DF の効果は、12 週間ほぼ完全に持続することがわかった。また、Am 過剰投与による成長抑制は、主として飼料効率の低下⁽¹²⁾によってもたらされるものであり、DF の同時投与による成長抑制の阻止効果は、飼料効率の改善によることを示している。また、本実験で、基本飼料群に対し 5% Am 添加群 (対照群) は、試験期間確実に成長抑制が持続されるが、経目的にわずかず体重増加を続けており、これより、Am による栄養素の消化吸収の阻害は、消化吸収機能の不可逆的な、また進行性の阻害によるものではなく、栄養素の吸収量低下に基づくものであることが再確認された。

一方、Am 投与時の脂質代謝においては、対照群が基本飼料群より有意に血清脂質の低下、肝臓および体組織への脂質蓄積抑制を示したことは、栄養素の消化・吸収の低下および成長抑制からみても容易に推定できる。とくに血清脂質において、対照群の顕著な低下は成長上昇回復後も続き、これはエネルギーおよび栄養素の持続的な利用率低下によるものと推測する。またわれわれは、通常の基本飼料 (25% カゼイン飼料) 摂取時にも、ビートファイバーは血清脂質の低下作用、肝臓および体組織への脂質蓄積抑制作用を示すことをすでに報告⁽¹⁵⁾しているが、BDF 同時添加群の血清脂質において、Am 共存時においてもそれら作用を発現することは、Am 添加飼料時にも BDF は消化管腔内で類似な挙動をしていることを示唆するものである。

なお、対照群の飼料効率が一時的に回復した現象については、適応作用と考えることは本実験では困難である。このような一時的な“適応”反応に似た現象は多数観察されている。著者らが行った他の実験でも、たとえば、コレステロール無添加カゼイン飼料時の、ベクチン添加に伴う血清脂質の一時的低下と上昇⁽¹⁵⁾、また、分離

Fig. 3. Effects of Beet Dietary Fiber (BDF) on the Serum Cholesterol and Triglyceride Concentrations of Young Male Rats Fed Three Kinds of Diets. ●, CS diet; ▲, CSA diet; ○, CSAB diet. For details, see legend to Fig. 1.

Table III. Liver Lipids and Organ Weights in Rats Fed Three Kinds of Diets for 12 Weeks

	Basal diet	Basal+5% amaranth ¹	Basal+5% amaranth +5% BDF ²
Liver lipids			
Total lipids (mg/g tissue)	91.6±4.71 ^{a,3}	75.6±3.13 ^b	63.7±3.30 ^c
Total lipids (mg/liver)	1883±136 ^a	1156±61.2 ^b	1145±85.3 ^b
Cholesterol (mg/g tissue)	3.0±0.14	2.9±0.13	2.8±0.08
Fad pads (% of B.W.)			
Epididymal fat pads	3.07±0.13 ^a	1.28±0.12 ^c	2.18±0.10 ^b
Perirenal fat pads	4.72±0.21 ^a	2.11±0.22 ^c	3.36±0.12 ^b
Organ weight (% of B.W.)			
Liver	4.25±0.11 ^a	4.28±0.07 ^a	3.86±0.09 ^b
Spleen	0.17±0.01	0.19±0.01	0.17±0.01
Pancreas	0.27±0.01 ^b	0.36±0.01 ^a	0.33±0.01 ^a
Kidney	0.65±0.01 ^b	0.76±0.01 ^a	0.66±0.01 ^b
Stomach	0.27±0.01 ^c	0.36±0.01 ^a	0.30±0.00 ^b
Small intestine	1.07±0.03 ^b	1.45±0.03 ^a	1.08±0.03 ^b
Cecum with content	0.45±0.02 ^b	2.02±0.13 ^a	1.73±0.08 ^a
Cecum tissue	0.11±0.00 ^c	0.31±0.01 ^a	0.18±0.01 ^b
Colon and Rectum	0.23±0.01 ^c	0.28±0.01 ^b	0.32±0.01 ^a

¹ See footnote 2 in Table II.

² See footnote 3 in Table II.

³ See footnote 4 in Table II.

大豆タンパク飼料給与時の血清トリグリセライドの同様な変化⁽¹⁶⁾にも観察される。これらは、食物と生体との相互作用に伴う一時的な変動であり、生物学的適応反応とは考えにくいものである。本研究の結果から、Am 毒性の発現と BDF の Am 毒性阻止作用の研究は短期のみでなく、長期の実験もさらに続けることによって、その

機構が明らかになるものと考えている。

要 約

ラットの長期飼育における、ビートファイバー (BDF) の Am 毒性阻止効果を調べた。また、この間の成長応答と血清脂質の変動についても合わせて検討した。

(1) 精製基本飼料へ 5% の Am を添加したときの毒性は、この飼料にさらに 5% BDF を添加することによって完全に回復し、この効果は 12 週間の長期にわたって持続した。

(2) 12 週間の全飼料摂取量は群間に差がなく、5% Am 添加群の飼料効率、実験期間を通して有意に低い値を示した。Am 添加飼料に 5% BDF を同時添加した群では、みかけの飼料効率の面でも完全回復し、栄養素の摂取量に基づいて計算した正味の飼料効率の比較では、この傾向は一層明瞭であった。

(3) 精製基本飼料群の血清コレステロール、中性脂肪は、加齢につれて上昇するのに対し、5% Am および 5% BDF を同時添加した群は、有意な血清脂質上昇抑制作用を示した。

- (1) B. H. Ershoff and E. W. Thurston : *J. Nutr.*, **104**, 937 (1974).
- (2) 有塚 勉, 田中勝三郎, 桐山修八 : 農化, **63**, 1213 (1989).
- (3) 桐山修八 : 「食物繊維」, 印南 敏・桐山修八編, 第一出版, 1982, P. 193.
- (4) H. Takeda, J. Tsujita, K. Ebihara and S. Kiriya : *Nutr. Rep. Int.*, **24**, 481 (1981).
- (5) H. Takeda, J. Tsujita, T. Emoto, K. Ebihara and S. Kiriya : *Nutr. Rep. Int.*, **25**, 169 (1982).
- (6) K. Ebihara, Y. Imamura and S. Kiriya : *J. Nutr.*, **109**, 2106 (1979).
- (7) A. E. Harper : *J. Nutr.*, **68**, 405 (1959).
- (8) 久城栄一, 水口葉子, 福井 巖 : 臨床病理, **20**, 573 (1972).
- (9) J. Folch, M. Lees and G. H. Sloane-Stanley : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
- (10) S. Pearson, S. Stern and T. H. McGavack : *Anal. Chem.*, **25**, 813 (1953).
- (11) 柴田寛三 : 「生物統計学序説」, 創文社, 1974, p. 64.
- (12) H. Takeda and S. Kiriya : *J. Nutr.*, **109**, 388 (1979).
- (13) 武田秀敏, 桐山修八 : 「非栄養素と生体機能」, 吉田 昭・杉本悦郎編, 光生館, 1987, p. 22.
- (14) 桐山修八 : 「機能食品」, 学会出版センター, 1988, p. 214.
- (15) 有塚 勉, 田中勝三郎, 桐山修八 : 栄食誌, **42**, 295 (1989).
- (16) 有塚 勉, 桐山修八 : 第 43 回日本栄養食糧学会講演要旨集, 1989, P. 151.