

# 食物繊維のアマランス毒性防止作用と 小腸機能正常化効果に関する研究

〈STUDIES ON DIETARY FIBER AND ITS MECHANISMS  
IN COUNTERACTING AMARANTH TOXICITY〉

## 学位論文内容の要旨

食物繊維（DF）は、元来食物中の非消化成分を表現するのに使われていた用語である。DF の定義として『ヒトの消化酵素によって消化されない食品成分の総体』が現在のところ受け入れられている。したがって、DF の生理的効果発現の場は主に消化管腔内であり、消化管との物理的・化学的相互作用を介しての消化管機能の調節、消化管腔内の内部環境（pH、腸内の細菌の量・質など）の調節、他の食物成分との相互作用などに影響を与えることにより効果を示すと考えられる。DF の生理的効果は、DF の有する物理・化学的特性ならびに消化管各部位の機能と密接に関連している。この DF の生理作用のなかに、様々な有害物質に対する毒性軽減効果がある。この効果の発現機構を解明することは、DF の新しい未知の栄養的な役割を明らかにするうえで重要な課題であると思われる。そこで、本研究はラットにおけるアマランス（食用赤色2号、AM）過剰毒性をモデルとしてこの毒性に対する DF の防止効果の発現機構を解明することを目的とし、多角度から実験を行なった。その概要を示すと、以下の通りである。

### 1) ラットにおける AM 毒性の性差及び系統特異性の検討。

Sprague-Dawley 系（日本 SLC）の離乳期の雌雄ラット及び2種 Wistar 系（日本 SLC、徳島実験動物研究所）雄ラットを用いて、AM 毒性発現、dose response を観察した。その結果、AM 5%以上で、毒性が強く発現し、激しい下痢、飼料摂取低下、成長阻害が見られた。3種の strain の中では、徳島 Wistar にもっとも AM 毒性が強く現れた。そこで以後は実験動物として徳島 Wistar 雄ラットを選んだ。

2) 各種食物繊維の AM 毒性防止効果と水中沈定体積〈settling volume (SV)〉の相関。

徳島 Wistar 系雄ラットを用いて、AM 毒性防止効果に対して DF の SV 〈DF 1 g が水中で占める体積 (ml)〉が重要であると考えられたため、この効果と SV との関係を明らかにすることを目的として、異なる SV を持つ DF (野菜、豆類、ナッツ類、根菜類、穀類から調製した DF と木材 cellulose, guar gum, これらの人工複合体、及び単なる混合物)を用いて、有効性を比較した。全ての DF 摂取ラットで AM 毒性による症状から回復が見られた。すなわち、体重増加、飼料摂取量、及び飼料効率が顕著な回復を見せた。DF の SV と AM 毒性からの回復率との間には正の相関が見られた。特に SV の高い DF では、完全な回復が見られたが、SV の低い DF には、わずかな効果しかみられなかった。この関係を説明し、DF の AM 毒性防止効果を規定する正確な機構を知るために、DF のモデルとして SV の異なる種々の発泡スチロール末 (PSF, 発泡度20-90倍)を用いて実験を行なった。発泡スチロール末は AM 毒性阻止能において、DF と同様の効果を示した。PSF の発泡度が高い、すなわち SV が高い方が AM 毒性阻止能も強くなる事が明らかになった。以上の実験では SV は DF の AM 毒性阻止能を定める上で重要なファクターであり、その効果の critical point は、SV 値で10ml/gであった。特に PSF の実験より、AM 毒性防止効果は小腸腔内における DF の bulk-formation effect に依存する事が分かった。

3) DF の AM 毒性阻止と小腸通過速度 (small intestinal transit speed, SITS) との関係。

小腸腔内において、DF は bulk を形成し、SITS を低下させている可能性がある。この実験では、消化管内での DF の役割について、その腸管内での食物粥の動態、特に AM 毒性防止効果と SITS との関係を調べた。初めに、予備実験として、種々の DF を用いて、AM 毒性防止効果を確認しつつ、胃内への試験食の強制投与により SITS を測定した。マーカーとして試験食中に indigo carmine を添加して、diet front 法で測定した。DF 投与群では、有意に SITS が低下しており、AM 毒性防止効果との関係が示唆された。次に、十二指腸にマーカー (indigo carmine と radioactive chromium,  $^{51}\text{Cr}$ ) 投与用カテーテルを留置したラットを用いて、leading edge 法と geometric center 法で小腸腔内の SITS を測定した。DF としては、beet DF (BDF) を用いた。その結果、AM 投与により SITS は有意に上昇し、DF 投与で有意に低下した。さらに AM 投与群に DF を添加した群の SITS は、完全に抑制されていた。DF と同様 SITS を低下させる作用を持っているモルヒネを用いて、SITS 低下と AM 毒性防止効果との関係を調べた。モルヒネを mini-osmotic pump により腹腔内に2週間持続投与することにより、AM 毒性が部分的に回復した事により、SITS が AM 毒性阻止に一部関与していることが確認

された。以上の結果により SITS は、DF の AM 毒性阻止及びラットの成長回復のメカニズムを説明するうえで、重要なファクターであることが示された。AM による毒性は、SITS 上昇による栄養素の消化吸収障害が関与し、DF 添加による SITS の低下により、この消化吸収障害が回復することによって、AM 毒性が阻止されたことを示唆している。

#### 4) 門脈血中アミノ酸濃度の上昇を指標としたタンパク質の消化・吸収に対する AM と DF の影響。

SITS の実験より、DF の栄養素の消化吸収への影響が AM 毒性阻止と関係している事が示唆された。そこで、タンパク質の吸収速度に対する AM と DF の影響を検討した。門脈にカテーテルを留置したラットを用いて、小腸内に AM 及びタンパク質源として Na-CASEIN を投与し、経時的に門脈血を採取し、アミノ酸濃度の変化を指標としてタンパク質の吸収速度を測定した。DF の効果は、BDF の経口摂取時と同様、Na-CASEIN、及び AM を経腸投与し、門脈吸収を見る事により検討した。その結果、AM 投与により Na-CASEIN の消化・吸収速度は、明らかに抑制された。また、BDF 摂取時においては、AM 投与による Na-CASEIN の消化・吸収の抑制は、観察されなかった。以上の結果より、BDF の摂取により AM によるタンパク質の消化吸収の障害は、防止される事が示された。

以上の研究に基づいて、ラットにおける AM 過剰毒性に対する DF の防止効果の発現には、DF の SV すなわち小腸内の体積が重要なファクターであり、SV が大きいほど AM による小腸通過速度の昂進を防ぐ能力が大きく、それに関連して、AM による摂取タンパク質の消化吸収障害を DF が、回復させると結論している。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 桐 山 修 八

副 査 教 授 水 谷 純 也

副 査 教 授 千 葉 誠 哉

本論文は、総頁数319ページの英文論文で、表60、図39、写真68、参考文献255を含み、5章で構成されているものである。

食物繊維 (DF) は、様々な有害物質に対して毒性軽減効果があることはよく知られている。本論文は、この DF の毒性防止効果発現機構の解明をめざし実験的な研究を行い、ラットにおけるアマランス (食用赤色 2 号, AM) 過剰毒性をモデルとしてこの毒性に対する DF の防止効果の発現機構を一部明らかにしたものである。

### 1) ラットにおける AM 毒性の性差及び系統特異性の検討。

Sprague-Dawley 系 (日本 SLC) の離乳期の雌雄ラット及び 2 種 Wistar 系 (日本 SLC, 徳島実験動物研究所) 雄ラットを用いて、AM 毒性発現, dose response を観察した。その結果、AM 5% 以上で、毒性が強く発現し、激しい下痢、飼料摂取低下、成長阻害が見られた。3 種の strain の中では、徳島 Wistar にもっとも AM 毒性が強く現れた。そこで以後は実験動物として徳島 Wistar 雄ラットを選んだ。

### 2) 各種食物繊維の AM 毒性防止効果と水中沈定体積 (settling volume (SV)) の相関。

徳島 Wistar 系雄ラットを用いて、AM 毒性防止効果に対して DF の SV (DF 1 g が水中で占める体積 (ml)) が重要であると考えられたため、この効果と SV との関係を明らかにすることを目的として、異なる SV を持つ DF (野菜、豆類、ナッツ類、根菜類、穀類から調製した DF と木材 cellulose, guar gum, これらの人工複合体、及び単なる混合物) を用いて、有効性を比較した。全ての DF 摂取ラットで AM 毒性による症状から回復が見られた。すなわち、体重増加、飼料摂取量、及び飼料効率が顕著な回復を見せた。DF の SV と AM 毒性からの回復率の間には正の相関が見られた。特に、SV の高い DF では、完全な回復が見られたが SV の低い DF には、わずかな効果しか見られなかった。この関係を説明し、DF の AM 毒性防止効果を規定する正確な機構を知るために、DF のモデルとして SV の異なる種々の発泡スチロール末 (PSF, 発泡度 20-90 倍) を用いて実験を行った。発泡スチロール末は AM 毒性阻止能において、DF と同様の効果を示した。PSF の発泡度が高い、すなわち SV が高い方が AM 毒性阻止能も強くなる事が明らかになった。以上の実験で SV は DF の AM 毒性阻止能を定める上で重要なファクターであり、その効果の critical point は、SV 値で 10 ml/g であった。特に PSF の実験より、AM 毒性防止効果は小腸腔内における DF の bulk-formation effect に依存することが分かった。

### 3) DF の AM 毒性阻止と小腸通過速度 (small intestinal transit speed, SITS) との関係。

小腸腔内において、DF は bulk を形成し、SITS を低下させている可能性がある。この実験

では、消化管内での DF の役割について、その腸管内での食物粥の動態、特に AM 毒性防止効果と SITS との関係を調べた。初めに、予備実験として、種々の DF を用いて、AM 毒性防止効果を確認しつつ、胃内への試験食の強制投与により SITS を測定した。マーカーとして試験食中に indigo carmine を添加して、diet front 法で測定した。DF 投与群では、有意に SITS が低下しており、AM 毒性防止効果との関係が示唆された。次に、十二指腸にマーカー (indigo carmine と radioactive chromium,  $^{51}\text{Cr}$ ) 投与用カテーテルを留置したラットを用いて、leading edge 法と geometric center 法で小腸腔内の SITS を測定した。DF としては、beet DF (BDF) を用いた。その結果、AM 投与により SITS は有意に上昇し、DF 投与で有意に低下した。さらに AM 投与群に DF を添加した群の SITS は、完全に抑制されていた。DF と同様 SITS を低下させる作用を持っているモルヒネを用いて、SITS 低下と AM 毒性防止効果との関係を調べた。モルヒネを mini-osmotic pump により腹腔内に 2 週間持続投与することにより、AM 毒性が部分的に回復した事より、SITS が AM 毒性阻止に一部関与していることが確認された。以上の結果は、AM による毒性は SITS 上昇による栄養素の消化吸収障害が関与し、DF 添加による SITS の低下により、この消化吸収障害が回復することによって、AM 毒性が阻止されたことを示唆している。

#### 4) 門脈血中アミノ酸濃度の上昇を指標としたタンパク質の消化・吸収に対する AM と DF の影響。

SITS の実験より、DF の栄養素の消化吸収への影響が AM 毒性阻止と関係している事が示唆された。そこで、タンパク質の吸収速度に対する AM と DF の影響を検討した。門脈にカテーテルを留置したラットを用いて、小腸内に AM 及びタンパク質源として Na-CASEIN を投与し、経時的に門脈血を採取し、アミノ酸濃度の変化を指標としてタンパク質の吸収速度を測定した。DF の効果は、BDF の経口摂取時と同様、Na-CASEIN、及び AM を経腸投与し、門脈吸収を見る事により検討した。その結果、AM 投与により Na-CASEIN の消化・吸収速度は、明らかに抑制された。また、BDF 摂取時においては、AM 投与による Na-CASEIN の消化・吸収の抑制は、観察されなかった。以上の結果より、BDF の摂取により AM によるタンパク質の消化・吸収の阻害は、防止される事が示された。

以上のように、本研究は小腸部位における DF の栄養的役割に関して、新しい知見を加えたものである。よって審査員一同は、別に行なった最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者パイロート ラウンピタクサは博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。