

大豆の成分と食餌性肝臓脂肪蓄積の抑制効果

THE CONTROL EFFECT OF SOYBEAN COMPONENTS
ON THE LIVER FAT DEPOSITION RESULTED FROM FEED
COMBINATION IN RATS

堀井正治・村松百合子・吉川誠次（農林水産省食品総合研究所）

Masaharu HORII, Yuriko MURAMATSU and Seiji YOSHIKAWA

National Food Research Institute, Ibaraki 305

ABSTRACT

Unusual fatty liver was observed in rats fed combined diet of rice and egg yolk at low protein level (6-7%) or high protein level (over 14-15%), and content of liver fat was significantly higher than that caused by diet of egg yolk alone. It was, however, observed that the addition of whole soybean powder to the combined diet containing rice and egg yolk seemed to prevent the fatty liver. This experiment was conducted to study the lipotropic effect of soybean components in rats fed the combination diet. Male Wistar-Imamichi rats weighing 120 g (5 weeks old) were fed 6% protein diets using rice+egg yolk (RE), RE+soy protein isolate (SPI=Fujipro U) (RUE), RE+defatted soybean (RDE), RE+whole soybean (RSE), RE+miso (RME), RUE+1% soy oil (RUoE), RDE+1% soy oil (RDoE) as protein source and supplement for 5 weeks. Protein ratios in diets were R : E=1 : 1 and R : E : another protein=4 : 3 : 3. Liver fat content was significantly higher in RE diet group (55% per dry matter) than in other diet groups ($p < 0.001$). Liver fat contents in RDE and RUE diet groups were 44-45%, and in RSE and RME diet groups they were similar each other, being 33-34%. However values between the former and the latter groups were significantly different at the level of 0.5-0.1%. When 1% soybean oil was supplemented, liver fat content in RDoE diet group was significantly lower than in RDE diet group, but fat contents in RUoE and RUE diet groups were almost the same. In the case of the diet composed of rice+egg yolk+soy oil, we have already observed that liver fat content was almost same with that in RDE diet group. It is suggested that there are some components in the part removed from SPI, which produce significant control effect by interaction with soy oil against unusual deposition of liver fat.

6～7%といった低たん白レベルまたは14～15%以上の高たん白レベルにおいて、米と卵黄粉をたん白質源とする飼料（たん白質比1：1）でラットを飼育した際に、肝臓への異常な脂肪蓄積が観察されるが、飼料中に大豆が共存した場合には肝臓の脂肪含量はほぼ正常値を示す¹⁾。こうした大豆による食餌性肝臓脂肪蓄積の抑制効果は、大豆を脱脂大豆や大豆油に置き換

えたときには減少し、脱脂大豆に大豆油をもどしてやると再び十分な効果を発揮することも観察されている²⁾(Fig.1)。これまでの知見から、大豆による肝臓脂肪蓄積抑制効果は大豆中の特定の成分と大豆油との相乗作用であることが示唆されているが、その有効成分がたん白質であるか否かを確かめるために、無機物以外はほぼ純粋なたん白質であるSPI(フジプロU)を用

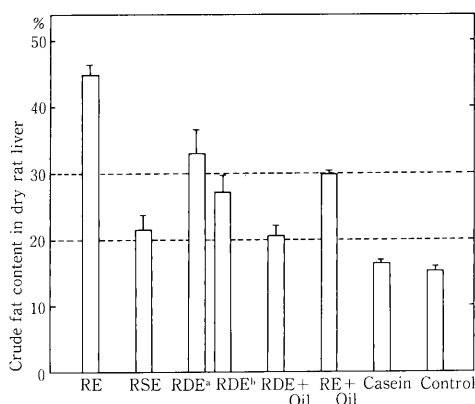


Fig. 1 Liver fat content of rats fed various diets for a period of 5 weeks from five weeks old in previous test (in dry matter)

- The value was obtained in test room with 70~75% humidity.
- The value was obtained in test room with 45% humidity.
- Additional oil is 0.9% in the feed, and no-refined soybean oil.

いて動物実験を行った。

実験方法

1. 飼育実験

動物繁殖研究所（茨城県新治郡出島村）より購入した Wistar-今道系雄ラット (SPF) を Table 1 の飼料で 1 週間、予備飼育したのち、5 週齢から 5 週間、Table 2 の試験飼料を自由に投与し、飼育試験を行った。試験飼料のうち RE 飼料の米と卵黄粉とのたん白質比は 1 : 1 で、米と大豆製品と卵黄粉との組み合わせ飼料

の場合には 4 : 3 : 3 であった。給餌は適量の粉末飼料にビタミン混合液を加え、水で練った形で毎日 11 時まで与え、毎日の残食とこぼし餌とはプールして週ごとに食下量を集計した。各群の検体数は 6 匹とし、別々にケージに入れ、室温 $21 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 2\%$ の部屋で、朝・夕 7 時に明暗を切り換えた。水は自動給水装置により自由に飲ませた。

2. 屠体分析

5 週間の飼育試験後、12 時間絶食させたのち、頸椎脱臼法で 6 時間以内に順次屠殺し、下大静脈より採血、肝臓、腎臓、脾臓、心臓を摘出、計量、肝臓は 1 部を脂質分析用に切り分けたのち凍結乾燥し、エーテル抽出により粗脂肪を測定した。屠体は凍結乾燥して水分を測定した。

なお、飼育試験期間中、Table 1 の予備飼育食を引き続き与えていた 6 匹のラットについても解剖処理を行い、これを対照群とした。

3. 血中成分の測定

血清中の各種成分につき、島津 CL-12 自動分析装置により、和光の試薬キットを用いて測定を行った。用いた方法は、GOT、GPT が UV 法、トリグリセライドが GPO-MEHA 法、リン脂質と総コレステロールが酵素法、総たん白質がビュレット法、アルブミンが BCG 法、尿素窒素、尿酸、グルコースが酵素法、クレアチニンが Jaffé 法であった。

結果と考察

1. 増体重、摂食量、たん白効率

飼育試験の 5 週間を通しての結果を Table 3 に示す。精製大豆油（無添加物）1% の添加により RU₀E 飼料、RD₀E 飼料の脂肪含量は丸大豆を用いたときにほぼ匹敵するが、RU₀E 群、RD₀E 群の方が RUE

Table 1. Composition of breeding diet (kg)

Wheat flour	12.0
Brown rice flour	6.0
Super pig milk*	6.0
Fish flour**	1.6
Casein	0.7
Ebios	0.25

These materials were formed into small cylindrical shape with 6.7kg of water, and were dried in a fan-drying oven at $45-50^{\circ}\text{C}$, 21 hours.

Protein level is about 15.2%.

* Combined feed for infant pig.

** White fish meal (Nissui).

Table 2. Composition of diets¹

(%)

Component ⁵	RE	RUE	RDE	RSE	RME	RUoE	RDoE
Rice	45	36	36	36	36	36	36
Egg yolk	9.4	5.64	5.64	5.64	5.64	5.64	5.64
Fujipro-U		2.38				2.38	
Soybean (defatted)			4.03				4.03
Soybean (whole)				4.73			
Miso					11.52		
Soybean oil ²						1.0	1.0
Rice starch	40.6	50.98	49.33	48.63	41.84	49.98	48.33
Mineral mixture ³	4	4	4	4	4*	4	4
Fiber ⁴	1	1	1	1	1	1	1
Protein level	6.06	6.06	6.06	6.06	6.06	6.06	6.06
Fat content	5.22	3.21	3.25	4.06	4.19	4.21	4.25

1: Diets were supplemented with vitamin mixture solution.

2: Refined soybean oil without additives.

3: Johnson salt mixture (* Johnson salt mixture without NaCl).

4: Avicel PH-101.

5: Crude fat content-Egg yolk: 51.7%, Soybean: 18.0%, Miso: 8.5%, Fujipro-U: 0.09%

Defatted Soybean: 1.1%, Rice: 0.8%

Table 3. Growth, food intake and protein efficiency ratio for a period of five weeks

Groups	Initial weight (g)	Growth (g)	Food intake (g)	Protein intake (g)	P E R
RE	120.2±6.3	218.4±28.1	853.5±56.1	51.7±3.4	4.21±0.19
RUE	120.0±6.6	204.1±13.1	845.7±59.7	51.3±3.6	3.99±0.12*
RDE	120.7±4.6	212.7±26.8	890.8±78.1	54.0±4.7	3.93±0.19*
RSE	120.4±4.5	203.3±17.9	842.6±62.9	51.1±3.8	3.98±0.18
RUoE	120.1±7.0	222.9±19.7	912.4±64.2	55.3±3.9	4.02±0.09
RDoE	120.3±5.0	228.6±30.8	935.2±87.0	56.7±5.3	4.02±0.18

Each value is the mean ± SD of six rats.

* Significantly different from value of RE group at the level of 5%.

群, RDE 群に比べて摂取行動が積極的で、喰いが良いようにみえた。しかし、6 匹平均の食下量は有意の差には至っていなかった。

たん白効率は RE 群と RUE 群, RDE 群との間に有意差がみられるものの ($p < 0.05$), 他の群間には差がなく、たん白質の利用率の面からは、表に掲げた 6 飼料群間に大差はないとみなされる。

2. 臓器の大きさ

体重当たりの各臓器の重量割合を Table 4 に示す。肝臓は RME 群と他の 4 群との間に有意差がみられたが ($p < 0.05 \sim 0.005$), RME 群を除く他の群間には差

がなかった。腎臓と脾臓は対照群と他のすべての群との間に明らかな有意差があり ($p < 0.001$), これは対照群と他群との飼料のたん白質レベルの違いによるものと考えられる。心臓は RME 群が他群より有意に大きく ($p < 0.005 \sim 0.001$), これは飼料の食塩濃度の違い (RME 飼料 2%, 他飼料 0.4%) によるものと推察される。

屠体乾物と屠体との比は屠体中の水を除く成分の割合を示すが、対照群と RME 群は他の 6 群より有意に少なく ($p < 0.001$), 脂肪の蓄積が両グループ間で大差があることが示唆される。この点についてはさらに屠

Table 4. Size of internal organs of rats fed various diets for a period of five weeks

Groups	Liver	Kidney $\times 10^{-1}$	Spleen $\times 10^{-1}$	Heart $\times 10^{-1}$	(weight % per body weight)	
					Dry carcass	Wet carcass %
RE	3.63 $\pm$ 0.45*	6.47 $\pm$ 0.60	*1.74 $\pm$ 0.14	3.04 $\pm$ 0.16****	51.3 $\pm$ 4.5	
RUE	3.34 $\pm$ 0.38	6.76 $\pm$ 0.28	*1.79 $\pm$ 0.15	3.04 $\pm$ 0.17****	48.8 $\pm$ 0.8	
RUoE	3.45 $\pm$ 0.20***	6.82 $\pm$ 0.15	1.83 $\pm$ 0.13*	3.20 $\pm$ 0.12***	49.4 $\pm$ 1.0	
RDE	3.22 $\pm$ 0.29	6.59 $\pm$ 0.43	1.87 $\pm$ 0.21	3.11 $\pm$ 0.06****	49.5 $\pm$ 1.1	
RDoE	3.26 $\pm$ 0.29	6.68 $\pm$ 0.30	***1.59 $\pm$ 0.20°	3.16 $\pm$ 0.14***	50.5 $\pm$ 2.4	
RSE	3.25 $\pm$ 0.14*	*6.62 $\pm$ 0.18	°1.96 $\pm$ 0.07***	3.13 $\pm$ 0.18***	49.9 $\pm$ 1.0	*
RME	3.00 $\pm$ 0.17°	°7.08 $\pm$ 0.38	1.85 $\pm$ 0.15*	3.49 $\pm$ 0.13°	43.7 $\pm$ 1.5	*
Control	3.42 $\pm$ 0.13***	8.07 $\pm$ 0.42(****)	2.23 $\pm$ 0.10(****)	3.17 $\pm$ 0.09****	43.0 $\pm$ 0.4	*

Each value is the mean $\pm$ SD of six rats.

° and others are significantly different at the levels of *:5%, ***:0.5%, ****:0.1%.

(****) mark means significantly different between the value of control and all of other groups at the level of 0.1%.

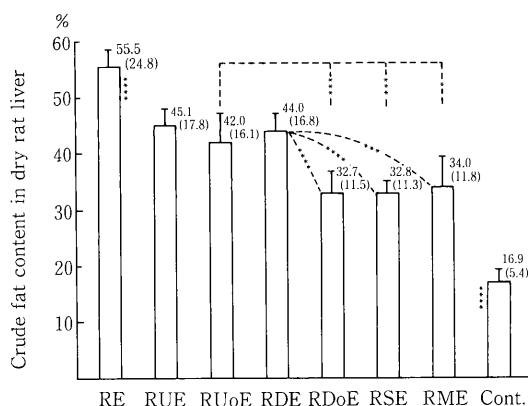


Fig. 2 Crude fat content in rat liver (per dry matter)

Means $\pm$ SD of six rats.

Figures in parentheses represent crude fat content per fresh livers.

Significant difference *: $p < 0.05$,

: $p < 0.005$, *: $p < 0.001$.

Significantly different between RE group and other groups, and between control and other groups at the level of 0.1%.

Significantly different between RUE group and RDoE, RSE, RME, Cont. at the level of 0.1%.

Fig. 2 に示す。RE 群と他の全群との間に明らかな有意差がみられた。(p<0.001)。RUE 群と RDE 群とはほぼ等値を示し、1%の大豆油を加えたとき、RDoE 群は RDE 群に比べて明らかな脂肪蓄積抑制効果の向上を示したのに対し、RUoE 群は RUE 群と大差なく脱脂大豆と SPI との成分上の違いが大きな意味をもつことが示唆された。Fig. 2 の () 内の数字は生肝臓あたりの脂肪の含有割合であるが、群間の比較は対乾物のときと全く同じ傾向であった。

今回の実験では、対照群と RSE 群、RDE 群を含めた他の全群との間に顕著な差がみられた (p<0.001) が、これまで幾度か実験で得られた数値 (Fig.1) と比較して、対照群と RSE 群との差が大きい。また、RE 群も従来の45%前後に較べて約10%高く、その他の試験飼料群もいずれも約10%従来より高値を示しているが、対照群を除く各群間の差は従来と同じになっている。その原因として考えられることは、従来の実験に用いたラットは30年近くにわたって食総研で自家交配して繁殖を続けてきた Wistar-今道系ラットであるが、今回用いたのは同じ系統でも本家の動物繁殖研究所より購入した SPF であり、ラットの出所の違いが食餌性脂肪の蓄積の違いに関係していると考えざるを得ない。もう1つ考えられることは、離乳以後実験開始までの飼料の問題で、従来小麦粉・玄米粉・幼雛用養鶏飼料 (2:1:1, 容量) を混合して水で捏ね水煮した団子を与えていたが、今回は4週齢までおそらく市販の固型飼料を与えられ、購入後1週間も Table 1 の自家製固型飼料で飼っており、予備飼育時の飼料の違いが以後の実験に影響を与えたものと考えられる。

体乾物のエーテル抽出による測定が必要である。

3. 肝臓の脂肪含量

凍結乾燥した肝臓中の粗脂肪含量 (重量比) を

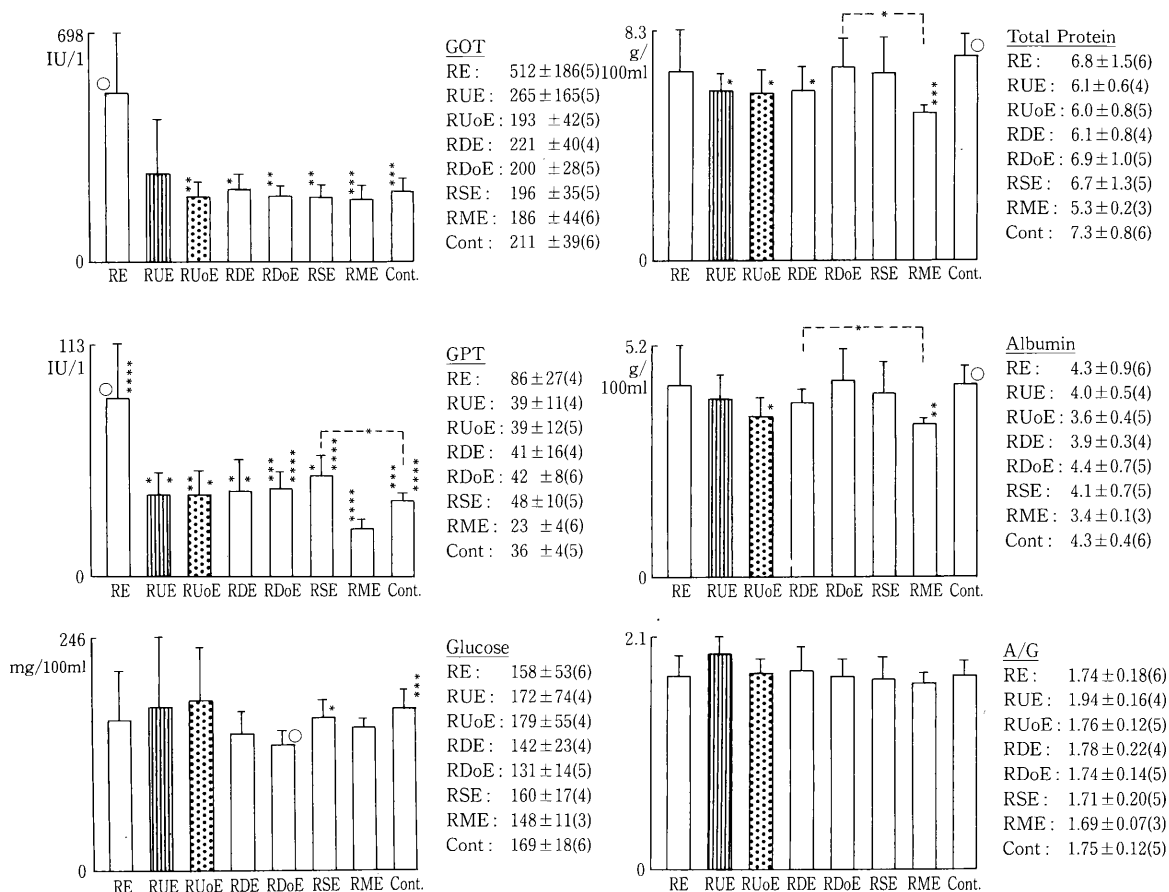


Fig. 3 Concentration of transaminase, glucose, and protein in serum of rats.

Each value is the mean ± SD.

Figures in parentheses represent animal number.

○ and others are significantly different at the levels of *: 5%, **: 1%, ***: 0.5%, ****: 0.1%.

4. 血中成分

肝機能の第1のメルクマールであるトランスアミナーゼは肝臓の脂肪蓄積の顕著なRE群でGOT, GPT共に高く、初期の肝炎が推測される(Fig. 3)。GOTは他の群間には全く有意差がみられず、GPTもRME群で有意に低いものの対照群と他の5群間で差がないことから、RE群以外は肝機能に異常を来すまでには至っていないことが示唆される。肝疾患があるとアルブミンが低下することが多いとされるが、RME群とRUoE群で対照群より有意な低下が認められるものの($p < 0.05$)、それほど大きな意味はなさそうでA/G比には各群間にほとんど差がみられなかった。

脂質3成分についてみると、まずトリグリセリドは対照群やRM群と他の6群との間には大小それぞ

れ $p < 0.05$ で有意差があるが6群間では差がなく、リン脂質にも顕著な差はみられない。総コレステロールにも特別高い群や低い群もなく、5週間程度の飼育試験では顕著な脂肪肝は発生するものの、高度の肝障害には至っていないことが推察される。

腎機能のメルクマールである尿素窒素、尿酸、クレアチニンについては、個々にみると群間で有意差もみられるが、食塩濃度の違うRME群を除いて考えると差はそれほど大きいものではなく、クレアチニンのRUE群で低いのが注目される程度であった。

要 約

被験動物の来歴あるいは予備飼育飼料により量的な面からは差があるものの、脱脂大豆に精製大豆油をも

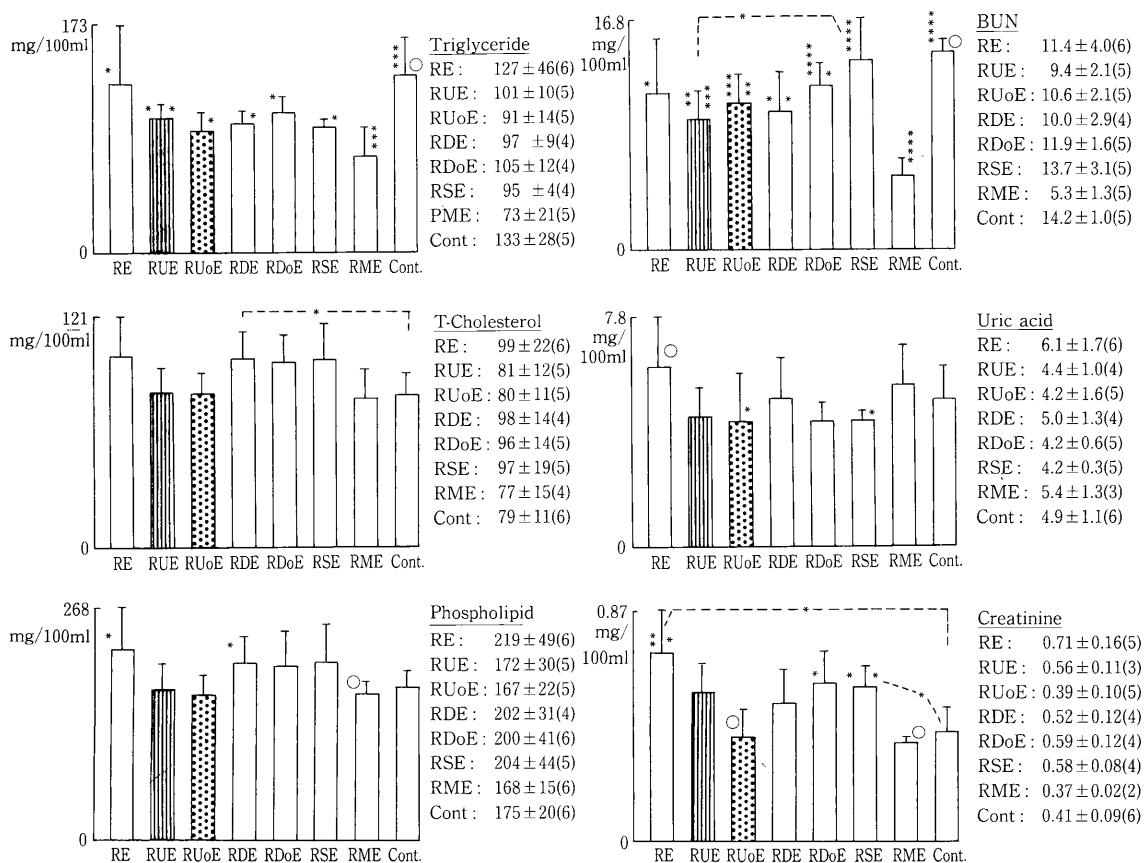


Fig. 4 Concentration of lipids and components in serum of rats, in connection with kidney function.

Each value is the mean ± SD.

Figures in parentheses represent animal number.

○ and others are significantly different at levels of *: 5%, **: 1%, ***: 0.5%, ****: 0.1%.

との大豆に相当する量補足することにより、食餌性の肝臓脂肪を抑制する効果が増進し、煮沸した丸大豆に匹敵することが再確認された。しかし、SPIであるフジプロUについては、それ自体は脱脂大豆と同程度効果はあるものの、これに大豆油を補足してもたいして効果は上がらないことから、SPI製造中に除かれる部分あるいは変質する部分に、大豆油との相乗作用によって肝臓脂肪の蓄積を強く抑制する成分が存在することが示唆された。

文 献

- 1) 堀井正治 (1980) : 米たん白質の栄養効率について. 栄養と食糧, **33**, 127-136.
- 2) 堀井正治, 西野寿子, 吉川誠次(1978) : 大豆による肝臓脂肪蓄積抑制効果の検討. 昭和53年日本農芸化学会大会講演要旨集, p220.