

ガラクトサミン肝障害ラットへのSPIを含む飼料の投与効果

SPI as the Principal Nitrogen Source of a Designed Diet for Galactosamine-Induced Hepatitic Rats

野口 忠・竹中麻子・日高智美（東京大学大学院農学生命科学研究科）

Tadashi NOGUCHI, Asako TAKENAKA and Tomomi HIDAKA

Department of Applied Biological Chemistry, Division of Agriculture and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113

ABSTRACT

A diet containing soy protein isolate (SPI) as the principal nitrogen source was designed for galactosamine-induced hepatitic rats. This SPI diet contained high branched-chain amino acids and low aromatic and sulfur amino acids and was of low value nutritionally because the normal rats given this diet did not grow practically. However, when the SPI diet was given to the rats which received galactosamine (0.3 g per kg body weight) every day for 8 days, these rats showed a slightly but not significantly higher body weight than those fed on a 12% casein-based diet. There was no significant difference in plasma GOT or GPT between the two groups of rats. The results show that it is possible to improve the symptoms of hepatitis by taking amino acid-modulated diets. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **16**, 115-118, 1995.

肝臓は、分岐鎖アミノ酸を除く大部分のアミノ酸を代謝する臓器であることから、肝臓の疾患では、アミノ酸の代謝が大きな影響を受け、その結果、特定のアミノ酸の血中濃度の上昇などが引き起こされる。例えば、肝障害時の芳香族アミノ酸の濃度上昇と分岐鎖アミノ酸の濃度低下はよく知られている。この両群のアミノ酸の比はFischer比と呼ばれ、肝障害の指標にも用いられており、また、この比の低下による肝性脳症は、分岐鎖アミノ酸の投与によって、顕著に改善されることが知られている。このような、重症の場合でなくても、肝障害において血中のアミノ酸の濃度に影響が現れるのか、また、それが食餌のアミノ酸組成を制御することで改善されるのか、等については、栄養学の立場からは関心がもたれるところである。

そこで本研究では、やや軽症の肝障害のモデル動物を作製し、アミノ酸組成を調節した飼料により、症状の改善が可能であるのかを明らかにしようとした。

まず、ガラクトサミンを用いる肝障害について、条

件を標準化することを試み、次に、食餌特に分離大豆たん白質（SPI）による障害の軽減を検討した。

方 法

ガラクトサミン肝障害モデルラットの作製条件の標準化

まず、ガラクトサミン投与の影響を調べた。急性試験として、初体重約180 gのWistar系雄ラットに体重1 kgあたり1 gのガラクトサミンを1回投与して、4日間にわたりラットの状態を観察する実験を行った（実験1）。

次に、体重1 kgあたり0.1, 0.2, 0.3, 0.4 gのガラクトサミンを19日間毎日投与する実験を行った。同時に、体重1 kgあたり0.5 gを隔日与える実験も行った（実験2）。

ガラクトサミン肝障害モデルラットに対するSPI投与の効果

前項の条件を参考にして、軽度の肝障害のモデルとして、体重1 kg当たり0.3 gのガラクトサミンを1週間毎日投与した。初体重約170 gのWistar系雄ラットを1群5頭4群にわけ、2元配置法で、ガラクトサミン投与の影響およびそれに対する食餌の影響（カゼイン食対SPI食）を解析した。飼育期間は1週間とした（実験3）。

肝障害の判定指標

肝障害の指標としては、通常用いられる血漿の

GOT、GPTのほか、インスリン様成長因子（IGF）関連の指標を採用した。まず、血漿を酸-エタノール処理し、IGF結合タンパク質（IGFBP）とIGF-Iを解離させた後にradioimmunoassay法により血漿中の全IGF-I濃度（total IGF-I, tIGF-I）を測定した。また、我々が、栄養条件の判定にtIGF-Iよりよい指標であると提案している、血漿を直接希釈してIGF-Iを測定するimmunoreactive IGF-I（irIGF-I）濃度も測定した。その他、血漿中のIGFBP-1、-3、-4の濃度をimmunoblot法、Western ligand blot法により測定した。また、血漿の遊離アミノ酸濃度も、必要に応じて測定した。さらに、

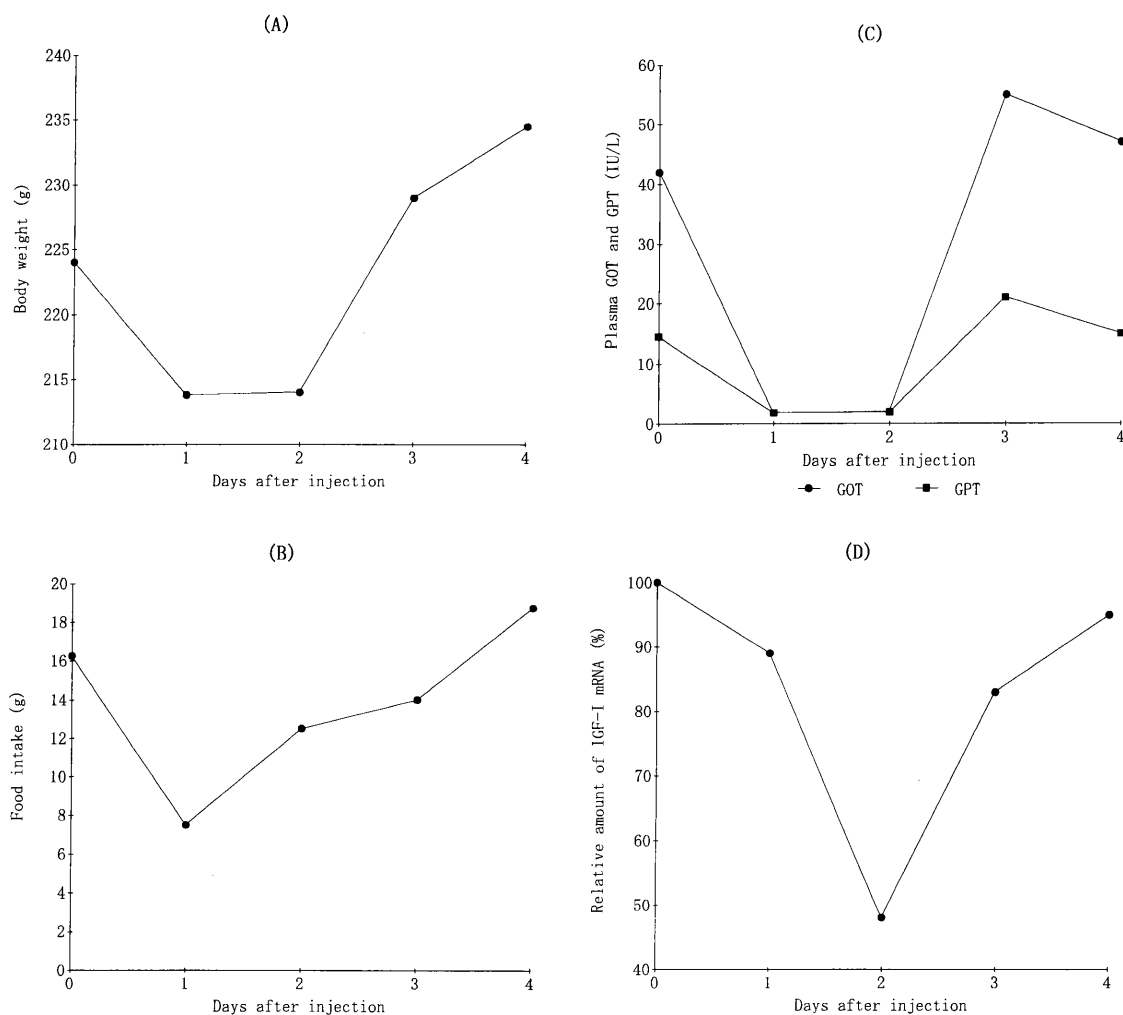


Fig. 1. Changes in the body weight (A), feed intake (B), plasma GOT and GPT concentrations (C), and liver IGF-I mRNA content (D) in the rats given a single shot of galactosamine (1 g/kg body weight).

肝臓中のIGF-I, IGFBP-1, -3, -4のmRNA量をNorthern blot法により測定した。

Body weight gain (g)

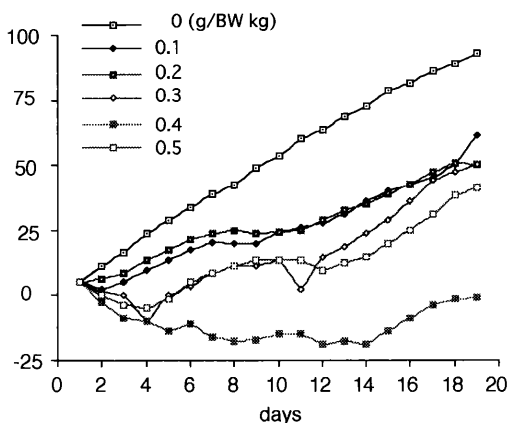


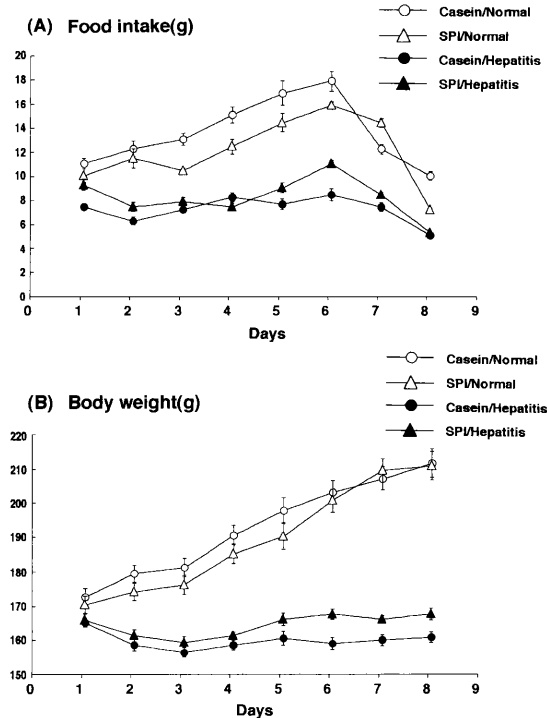
Fig. 2. Changes in the body weight of the rats given graded levels of galactosamine. Rats were given 0.1, 0.2, 0.3, or 0.4 g per kg body weight of galactosamine daily or 0.5 g per kg body weight every other day for 19 days.

SPIを主成分とする飼料の作製

肝障害時に、芳香族アミノ酸やメチオニンの血漿中濃度が上昇し、分岐鎖アミノ酸濃度が減少するとの知

Table 1. Diet composition (g/kg diet)

	Casein diet	SPI diet
Casein	125	
Fujipro R		100
His		1
Ile		5
Leu		9
Val		8
Thr		2
Glu		2
Met	2	
Cornstarch	671	671
Vitamin mix.	10	10
Mineral mix.	40	40
Cellulose	100	100
Soybean oil	50	50
Choline chloride	2	2



(C)

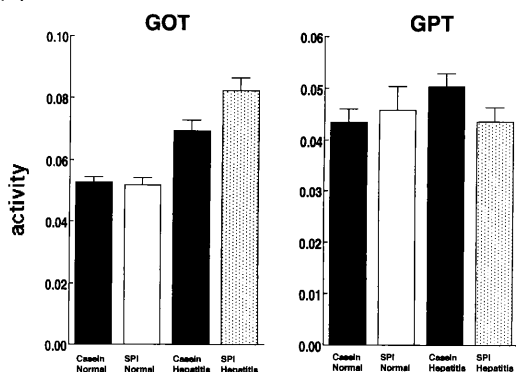


Fig. 3. Effect of taking a SPI-based designed feed for hepatitis on food intake (A), body weight (B) and plasma GOT and GPT concentrations (C) in the rats given galactosamine. Rats administered D-galactosamine or the vehicle intraperitoneally were given the designed feed or a 12% casein-based diet for 8 days.

見をもとに、飼料中の芳香族アミノ酸やメチオニンの含量を減らし、分岐鎖アミノ酸含量を増やすという、Table 1に示した飼料を新しく設計した。

結 果

【実験1】ガラクトサミン肝障害モデルラットの標準化

ラットに、体重1 kgあたりガラクトサミン1 gを1回投与すると、体重の大きな減少、血中のGOT, GPTの一時的な消失、黄疸、肝臓のIGF-ImRNAの減少など顕著な影響が認められた (Fig. 1)。

このように、1 gのガラクトサミンの投与は、重症の肝障害を引き起こすことから、飼料の違いによる症状の改善を検討するには不適當であることが判明した。

【実験2】 Fig. 2の体重変化の結果を示した。体重1 kgあたり、0.1 g以上のガラクトサミンを連続投与すると、体重の減少が認められた。特に、0.4 g投与した場合には、成長阻害は顕著であった。0.5 gを隔日投与すると、効果は0.2 gもしくは0.3 gの連続投与とほぼ同等であった。これらの結果から、ガラクトサミン0.5 g以上の連続投与は、ラットにかなり直接的な影響を及ぼすことが明らかになった。そこで、以下の実験では、体重1 kgあたり0.4 gもしくはそれ以下のガラクトサミンを連続投与することにより、慢性の肝疾患に近い状態を作り出そうとした。

【実験3】ガラクトサミン肝障害モデルラットに対するSPI投与の効果

Fig. 3にガラクトサミン肝障害ラットに対するSPIを主たる窒素源とする実験食の効果を示した。

ガラクトサミン投与群にSPI食を与えた区ではカゼイン食区に比べてやや増体重が大きかったが、有意な差は認められなかった。この飼料は、肝障害を目的に

した極端な組成のものであるので、正常な動物にとっては栄養価の悪いものとなっている。ガラクトサミンを体重1 kgあたり0.3 g連続投与し、1週間飼育したラットの血漿中のGOTおよびGPTは、対照群に比べて明確な上昇を示していないことから (Fig. 3(c))、きわめて軽度の肝障害の状態と考えられる。さらに投与期間を延長し、GOT, GPTに影響がでる程度の障害を発生させれば、より明確な結果が得られると考えられる。

考 察

今回の条件 (実験3) において、ラットは軽度の肝障害を起こしていると考えられ、この点では、目的を達することができた。しかし、投与期間が短かったために、障害が軽度であり、GOT, GPTといった指標にも大きな変化が現れなかった。その結果、本来指標として採用することが大きな目標であったSPIを含む食餌を給与した場合のIGF関連の指標の変化にまで、研究を進めることができなかった。この点は今後の研究で解決していきたいと考えている。

一方肝障害の条件を標準化する実験では、IGF関連の指標が有効であることが明らかになった。例えば、血中のirIGF-I濃度は、ガラクトサミン肝障害で有意に減少しており、また、IGF結合たん白質にも、特徴ある変化が認められた。

このように、IGF関連の指標はモデル系での症状の判定に有効であると考えられる。

今後は、今回の検討事項をもとに、ガラクトサミン投与期間を延長するなどの処置を行い、設計された飼料の効果についてより明確な結果を得るべく実験を進めたいと考えている。