

ガラクトサミン肝障害ラットへの分離大豆たん白質を たん白質源とする飼料の効果

野口 忠*・日高智美

東京大学大学院農学生命科学研究科

Effect of a Diet with Soy Protein Isolate as the Principal Source of Nitrogen to Rats with Galactosamine-Induced Hepatitis

Tadashi NOGUCHI and Tomomi HIDAKA

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo,
Tokyo 113

ABSTRACT

A diet for rats with galactosamine-induced hepatitis was formulated using soy protein isolate (SPI) as the primary source of dietary nitrogen. The diet was formulated as that of high branched-chain amino acids and low methionine contents. The validity of the diet was assessed by plasma concentrations of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT), total insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF-binding proteins and particularly dirIGF-I which has been elucidated to correlate well with the status of protein nutrition. The rats injected with galactosamine showed increased plasma concentrations of GOT and GPT. The rats given casein (control) diet showed a significantly decreased plasma IGF-I concentration by galactosamine injection. However, in the case of the rats given SPI diet, there was no difference in the IGF-I concentration between the rats injected with galactosamine and those not injected with it. Other indices also gave favorable results to the protective effect of SPI diet on galactosamine-induced hepatitis rats. We concluded that SPI diet has an enough possibility to suppress the deteriorative effect of galactosamine to rats. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 71-76, 1996.

Key words: insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding proteins, galactosamine-induced hepatitis, SPI diet, high branched-chain amino acid diet

分離大豆たん白質 (SPI) の栄養学的特性を生かして、種々の疾病の進行の遅延や予防に役立つ飼料を設計することをここ数年試みている¹⁻³⁾。昨年度は、ガ

ラクトサミン肝障害を起こしたラットに、SPI をたん白質源とする飼料を与えて、その効果を調べる実験を行い、カゼイン食に比べて遜色ない効果を示すことを明らかにした³⁾。本年度の研究では、予め SPI をたん白質源とする飼料を与えたラットにガラクトサミンを

*〒113 東京都文京区弥生1-1-1

投与した場合に、カゼインを投与した動物に比べて、肝臓が受ける影響が少ないこと、すなわち SPI をたん白質源とする飼料が、ガラクトサミンによる肝障害を予防する効果があるかを明らかにしようとした。

方 法

実験動物としては Wistar 系の雄ラット（平均体重 250 g 前後のもの）を用い、昨年度と同様の飼料、すなわち Table 1 に示したカゼイン飼料（C）と SPI 飼料（S）³⁾を用いた。ガラクトサミンによる肝障害の誘導は真田らの方法⁴⁾を用いた。すなわち、ラットに飼料を 2 週間自由摂取させ、4 時間飼料を与えない時間をとった後、D-ガラクトサミンを体重 kg あたり 800 mg 腹腔に投与した。さらに 4 時間飼料を与えない状態にした後、20 時間飼料を自由摂取させた。その後、ラットを屠殺して血液をとり、血漿を調製した。実験期間中の体重の変化、飼料摂取量の変化を測定するとともに、血漿について、GOT、GPT を測定して、ガラクトサミンによる肝障害の指標とした。また、動物の肝機能の指標として、インスリン様成長因子-I (IGF-I)、インスリン様成長因子結合たん白質 (IGFBP) の -1, -3, -4 および 30 kDa 複合体として示される IGFBP を測定した。血漿中の IGF-I 濃度は、試料を酸性条件下で高速液体クロマトグラフィーにかけ、IGF-I と IGFBP を分離した後、

IGF-I 画分をとって radioimmunoassay 法により定量する全 IGF-I 濃度の測定法⁵⁾と、われわれが動物のたん白質代謝の良い指標となると提案している血漿を直接希釈して radioimmunoassay 法により定量する方法（この方法で得られた IGF-I の見かけの濃度を dirIGF-I と呼ぶ）⁶⁾の 2 つの方法で定量した。なお、

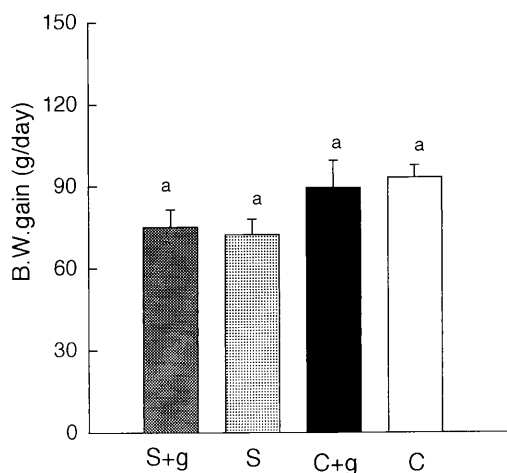


Fig. 1. Body weight gain of the rats during 2 weeks of the experimental period. C, rats given the casein diet without galactosamine injection; C+g, rats given the casein diet with galactosamine injection; S, rats given the SPI diet without galactosamine injection; S+g, rats given the SPI diet with galactosamine injection.

Table 1. The composition of the experimental diets (g/kg diet)

	Diet	
	C	S
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

*AIN-76. C, casein diet; S, SPI diet.

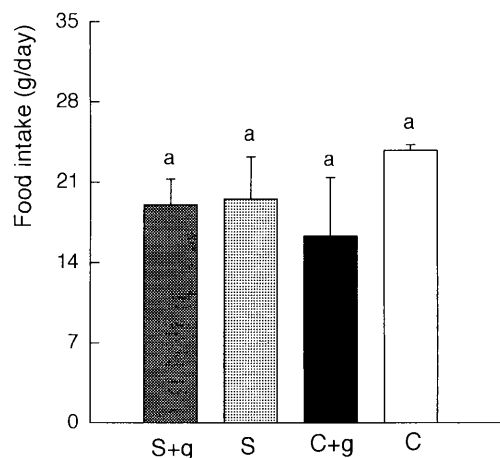


Fig. 2. Food intake of the rats during 2 weeks of the experimental period. For symbols, see Fig. 1.

IGFBP-1は radioimmunoassay 法により, またその他の IGFBP は ligand blot 法により定量した。

結 果

Fig. 1 に動物の 2 週間の体重増加量を示した。群

間に有意差は認められなかったが, SPI 食群でやや体重が低い傾向が認められた。これは, SPI 食がそのアミノ酸組成から, 成長しつつあるラットにとっては栄養価のやや低い飼料になっていることによるものと考えられる。

Fig. 2 には, 飼料摂取量を示した。いずれの群間

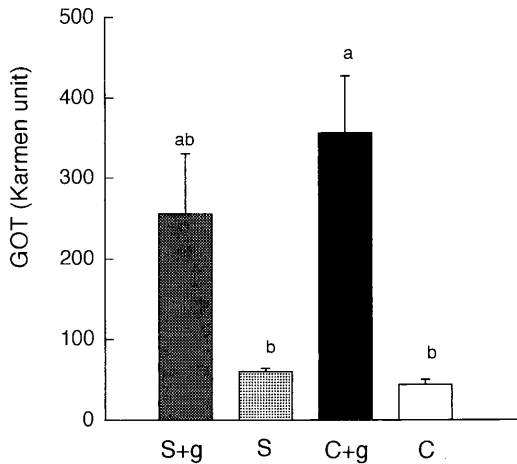


Fig. 3. Plasma glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) concentration in the rats given C or SPI diet and injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

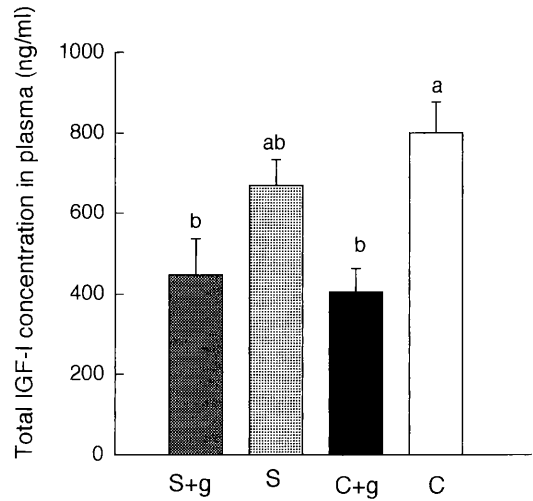


Fig. 5. Plasma total insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentration in the rats given C or SPI diet and injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

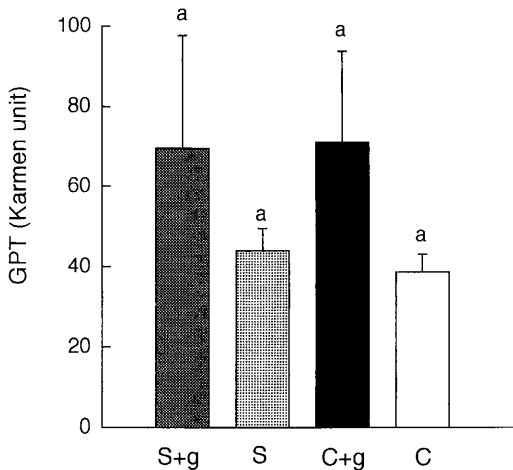


Fig. 4. Plasma glutamic-pyruvic transaminase (GPT) concentration in the rats given C or SPI diet and injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

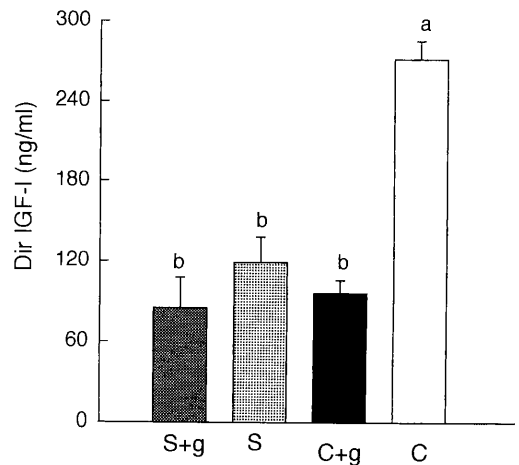


Fig. 6. Plasma directly immunoreactive IGF-I (dir IGF-I, see the text) concentration in the rats given C or SPI diet injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

にも差は認められなかった。

Fig. 3は、血漿中の GOT の活性を示している。ガラクトサミン投与により GOT 活性は上昇したが、対照区と比較すると、分散に差があり、通常の統計的分析はできなかった。すなわち、動物は異なる生理的狀態に陥っていることが明らかであった。GPT につい

ても同様である (Fig. 4)。この結果は、ガラクトサミンがこれらの酵素活性を上昇させる方向に作用することを示しており、従来の知見と一致している。しかし、ガラクトサミンに対する応答には動物間の感受性に差が大きいことが推察される。

Fig. 5は、血漿の全 IGF-I 濃度を示している。カ

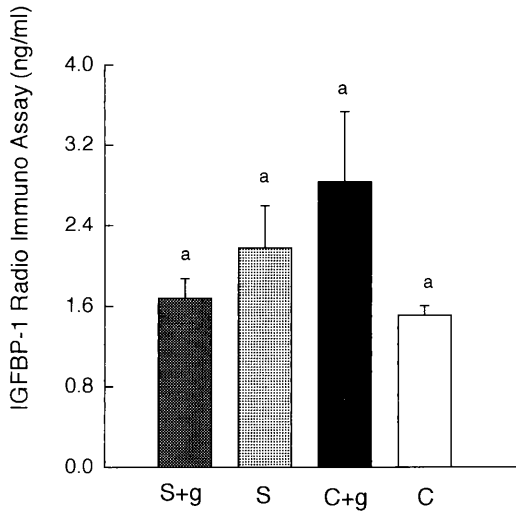


Fig. 7. Plasma insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) concentration in the rats given C or SPI diet injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

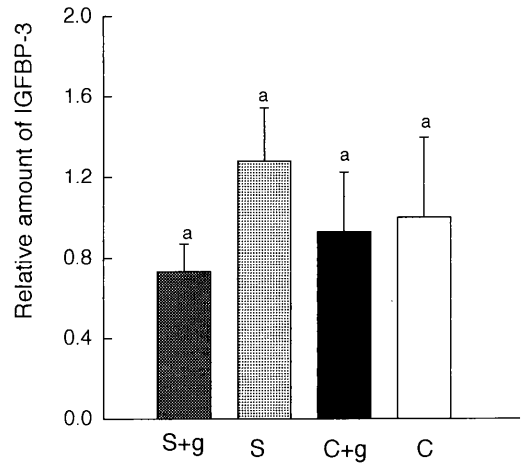


Fig. 9. Plasma IGFBP-3 concentration in the rats given C or SPI diet injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

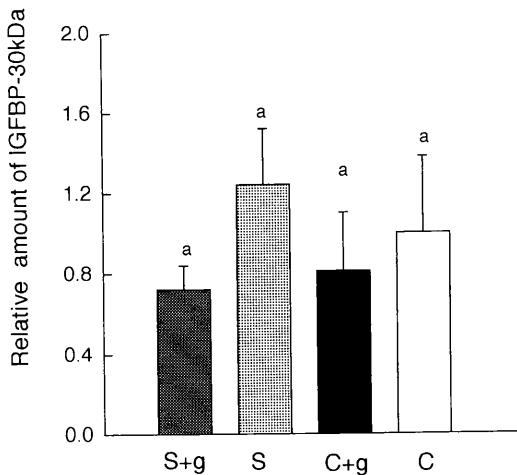


Fig. 8. Plasma 30 kDa IGFBP concentration in the rats given C or SPI diet injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

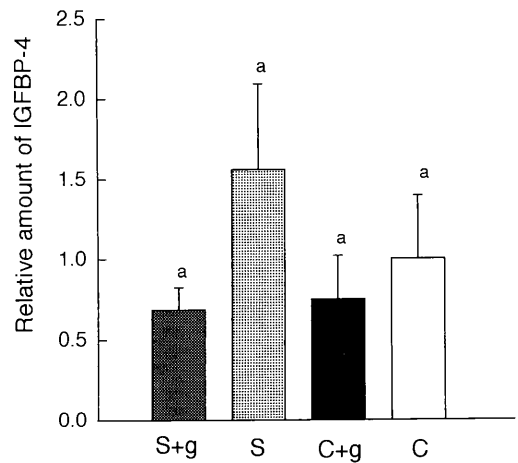


Fig. 10. Plasma IGFBP-4 concentration in the rats given C or SPI diet injected with galactosamine or not. For symbols, see Fig. 1.

ゼイン群では、ガラクトサミン投与により、有意に IGF-I 濃度が減少したが、SPI 群では有意差は認められなかった。特に、ガラクトサミン投与によっても、SPI 群の動物がカゼイン群の動物と差がなかったことは注目に値すると考えられる。

Fig. 6には、血漿中の dirIGF-I 濃度を示した。カゼイン群ではガラクトサミン投与によって、dirIGF-I 濃度は大きく減少したが、SPI 食を与えてガラクトサミンと投与した群では、カゼイン群と有意差は認められなかった。ガラクトサミンを投与せずに SPI を飼料とした群でも dirIGF-I 濃度が低かったことから、今回用いた SPI 飼料は、栄養学的にはむしろカゼイン群に劣る特殊な目的で設計したものであることが追認された。いずれにしても、ガラクトサミンを与えたカゼイン群と SPI 群で dirIGF-I 濃度に有意差がなかったことは、ガラクトサミン肝障害という条件下では、SPI 食は十分設計の目的を果たしていると解釈することができる。dirIGF-I 濃度の変化は、血漿中の各 IGFBP の濃度と、それらに IGF-I がどの程度結合しているかによって決定されると推測されている。このことも含めて、肝臓の状態や生体のたん白質代謝の状態を推定するためには IGFBP の濃度を測定する必要があると考えられている。このような観点から、各群の血漿中の IGFBP 濃度を測定した。

Fig. 7には、IGFBP-1の濃度を示した。この IGFBP の濃度は、栄養条件が悪くなると著しく上昇することが知られている。Fig. 7から明らかなように、カゼインを与えた動物ではガラクトサミンの投与によって IGFBP-1の濃度の上昇が認められるのに対して、SPI を与えた動物では、ガラクトサミンの影響が認められなかった。この結果は、ガラクトサミンを与えた動物では、むしろ SPI 食の方が有用であることを示唆しており、興味深い。

Fig. 8には、30 kDa の IGFBP の血漿中の相対的濃度を示している。結果はカゼイン群でガラクトサミンを投与しない群の平均値を 1 として示してある。いずれの群にも有意差はなかったが、ガラクトサミン投与によりやや低下する可能性が大きい。なお、この方法により測定される IGFBP の内容は明らかではない

が、栄養条件等の悪い場合にはこの IGFBP 濃度は一般的に低下することをわれわれは明らかにしている。

Fig. 9は、IGFBP-3の血漿中の濃度におよぼすガラクトサミンの影響を示している。この IGFBP の濃度も、栄養条件が悪くなると著しく低下することを明らかにしている。結果が示すように、カゼイン群、SPI 食群いずれにおいても、顕著な変化は認められなかった。このような結果は Fig. 10に示した IGFBP-4についても同様であった。しかし、この IGFBP の血漿中の濃度については、個体差が大きく、明確な結論を得るには至らなかった。

考 察

今回の実験では、SPI 食を摂取していることがガラクトサミン肝障害の誘発に対して有効であるかを明らかにしようとした。ガラクトサミン投与は、多くの指標で判断した結果、カゼインを摂取している動物には大きな影響をおよぼしたが、SPI を摂取している動物では顕著な変化を示さなかった。特に、IGFBP-1の血中濃度に対する影響などを見ると、SPI 食を摂取している動物の方が、むしろよい状態にあると推察することも可能であった。SPI 食は、もともと、ガラクトサミンによる肝障害の場合に血漿中の分岐鎖アミノ酸濃度が減少し、芳香族アミノ酸濃度やメチオニンの濃度が上昇するという観察をもとに、高分岐鎖アミノ酸、低芳香族アミノ酸、低メチオニンの飼料として設計されたものである。従って、成長中のラットについては、必須アミノ酸必要量から判断して、望ましい飼料ではない。しかし、このような飼料がガラクトサミンの投与でモデル化される肝障害の誘発には抵抗を示したことは興味深い。

食餌のアミノ酸の調節によって、諸種の疾病をどの程度緩和できるのかといった課題は、まだ十分な研究が行われていない。少なくとも、今回の結果は、肝障害の誘発に対して、食餌に十分な配慮をすることは、十分意義のあることであることを示している。今後とも、より優れたアミノ酸組成の食餌を諸種の疾病モデルについて開発していきたいと考えている。

要 約

SPI を主たる窒素源とする飼料 (SPI 食) を作成した。この飼料は、ガラクトサミンを投与した場合に血漿中の分岐鎖アミノ酸濃度が減少すること、メチオニン濃度が上昇することを考慮して、分岐鎖アミノ酸含量を高く、またメチオニン含量を低く設定した。メチオニン含量を

低く設定する上で特に SPI は有効であった。この飼料を 2 週間ラットに給与した後、D-ガラクトサミンを投与して、24 時間後にラットを屠殺し、血漿をとり、GOT, GPT, IGF-I (インスリン様成長因子-1), IGF 結合たん白質-1, -3, -4 等の濃度を測定し、これらを指標にガラクトサミン肝炎に対する SPI 食の有効性を評価した。対照としたカゼイン食を摂取したラットでは、いくつかの指標から判断して、ガラクトサミンは明らかに障害を与えていたが、SPI 食を摂取したラットでは、いくつかの指標についてガラクトサミンの障害の影響が顕著でなかった。今回設計した SPI 食は特殊なアミノ酸組成であるので、健康なラットに対する栄養価では決して良好な飼料ではないが、ガラクトサミン肝炎に対する飼料としては、十分有効である可能性が大きいと結論した。このように、SPI の特性を生かして特徴のある食餌を設計することは、成人病を予防する上で、十分に価値のあることと考えられる。

文 献

- 1) 金 鍾姫, 高橋伸一郎, 野口 忠 (1993): 実験的糖尿病動物への SPI の給与効果. 大豆たん白質研究会会誌, **14**, 76-78.
- 2) 野口 忠, 団野 浩, 竹中麻子, 高橋伸一郎 (1994): 分離大豆たん白質 (SPI) を主たるたん白質源とする糖尿病モデル動物に対する食餌の設計とその評価. 大豆たん白質研究会会誌, **15**, 120-123.
- 3) 野口 忠, 竹中麻子, 日高智美 (1995): ガラクトサミン肝障害ラットへの SPI を含む飼料の給与効果. 大豆たん白質研究会会誌, **16**, 115-118.
- 4) 王 濱濱, Cheng Chewchuang, 江頭祐嘉合, 太田剛雄, 真田宏夫 (1995): オリゴ糖のラットのガラクトサミン肝障害発症に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌, **48**, 181-187.
- 5) Crawford BA, Martin JL, Howe CJ, Handelsman DJ and Baxter RC (1992): Comparison of extraction methods for insulin-like growth factor-I in rat serum. *J Endocrinol*, **134**, 169-176.
- 6) Takahashi S, Kajikawa M, Umezawa T, Takahashi S-I, Kato H, Miura Y, Nam TJ, Noguchi T and Naito H (1990): Effect of dietary proteins on the plasma immunoreactive insulin-like growth factor-1/somatomedin C concentration in the rat. *Br J Nutr*, **63**, 521-534.