

シヨ糖摂取ラットの脂質代謝変動に対する食餌フィチン酸レベルの影響

大 吞 尚 子, 片 山 徹 之

(広島大学教育学部栄養学研究室*)

Effect of dietary level of phytic acid on lipid metabolism in rats fed on sucrose.

Shoko Onomi, Tetsuyuki Katayama

Laboratory of Nutritional Science, Faculty of Education, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima 739, Japan

Sucrose-fed rats elevate hepatic concentrations of total lipids or triglyceride and hepatic activities of lipogenetic enzymes in comparison with corn starch-fed rats. In general, the elevations that had been caused by sucrose feeding were gradually suppressed by the increasing dietary phytate. Activities of intestinal enzymes in sucrose-fed rats were unaffected by dietary phytate. The curative effect of dietary phytate on fatty liver in rats caused by sucrose feeding may be mediated through the depression of hepatic lipogenesis, but not involving the alteration in the activities of intestinal enzymes. These results also suggest that practical level of dietary phytate may affect hepatic lipid metabolism in animals fed on sucrose.

フィチン酸とは、ビタミン様物質であるミオイノシトールに6個のリン酸が結合したミオイノシトールヘキサホスホリックアシッドのことで¹⁾、穀類、豆類及び種実類に1~3%存在している²⁾。これは主に、植物のリン酸主要貯蔵物質として存在していると考えられている³⁾。

栄養的效果としては、一般的に低栄養状況下での亜鉛や鉄、カルシウム等のミネラル吸収を阻害し欠乏症を引き起こすことがよく知られており⁴⁾⁵⁾、抗栄養素因子と考えられている¹⁾。これは、フィチン酸のリン酸基に亜鉛や鉄などがキレート作用により結合し吸収が妨げられるためと思われる³⁾。このようにフィチン酸は人におけるミネラルの生物学的利用率を阻害する可能性があったため、長年、健康に対して何らかの利点を示す可能性についての研究は見られず、主として無機質の利用抑制との関連の研究が行われてきた。しかし実際多くの穀類、豆類を摂取している日本人においても、フィチン酸によるミネラルの欠乏症についての報告は見られない。

一方、ここ数十年の間に、フィチン酸が鉄などと結合することから抗酸化能を持つ可能性が認められ、過酸化脂質が原因のひとつと考えられる癌の予防への応用も検討されつつある。近年、食物繊維が大腸

*所在地：東広島市鏡山1-1-2 (〒739)

癌の発生を抑制することが報告されているが、食物繊維と同様の場所に多く存在するフィチン酸のほうがかむしろ抑制効果を持っているのではないかと考えられはじめています。また、フィチン酸の抗酸化剤、保存料、発酵促進剤としての研究も報告されています。このように現在、医科歯科領域、化粧品領域への応用など多方面への応用が検討されつつある²⁾³⁾。

他方、フィチン酸の骨格部分であるミオイノシトールは臨床研究により抗脂肪肝作用を有することがよく知られており⁶⁾、ミオイノシトールの研究は主として脂質代謝との関連であった。

現在までの研究をみてみると、フィチン酸の基本骨格はミオイノシトールであるにも関わらず、ミオイノシトールとの共通性に関する研究はほとんど見られない。

ところが⁵⁾、最近我々は、ショ糖摂取ラットの肝臓総脂質、トリグリセリド、コレステロール及び血清トリグリセリド、リン脂質の増加や、脂質合成の指標となる肝臓のNADPH産生酵素活性の促進に対して、0.5%食餌フィチン酸がそれと等モルである0.1%食餌ミオイノシトールと同様の抑制効果を有することを示した⁷⁾⁸⁾。

そこで本研究では、食餌フィチン酸ナトリウムの添加レベルをより生理的レベルに近い状態である0.1%から0.5%及び2.5%と段階的に振り分けることにより、ショ糖摂取ラットの肝臓脂質増加、肝臓脂質合成系酵素活性の増大をより詳細に検討することとした。また試験管内ではフィチン酸がリパーゼ、トリプシン及びアミラーゼ等の膵臓消化酵素の活性を阻害することが報告されているため²⁾、食餌フィチン酸の影響がショ糖摂取ラットにおいて小腸での吸収抑制として及んでいるのではないかという仮定にも焦点を当てて、小腸粘膜のシュークラーゼ等の酵素活性を測定し、この現象の機構を検討することとした。

実験方法

実験動物として、初体重約90gのウィスター系の雄ラット（広島実験動物株）を用い、1群を6匹ずつとし、飼育室の温度は 24 ± 1 ℃、明暗周期は12時間（明期は8:00~20:00）とした。飲水及び食餌は自由に摂取させた。

固形飼料（オリエンタル酵母工業社）で4日間予備飼育後、実験食で12日間飼育した。実験食はAIN-76の組成を基に調整し、炭水化物源はすべてショ糖とした。フィチン酸ナトリウム添加食群には、ショ糖と置き換えてフィチン酸ナトリウム（ナカライテスト株）をそれぞれ0.1%、0.5%及び2.5%添加した（Table 1）。

屠殺後、採血した血液は遠心し血清を採り、肝臓と小腸は素早く取り出し、肝臓は湿重量の5倍量の0.14M-KClを加え、ホモゲナイズし、超遠心によりサイトゾルを分画した。

肝臓と血清の脂質含量および各酵素活性はすべて前報⁸⁾⁹⁾に従って測定した。データの有意差検定はDuncanの多重検定法を用い、危険率5%以下を有意とした。

実験結果

成長および食餌摂取量は、2.5% Ph群において抑制される傾向にあったが、他の添加レベルでの影

Table 1. Composition of experimental diets.

Ingredients	Sucrose (%)	Suc+0.1%Ph (%)	Suc+0.5%Ph (%)	Suc+2.5%Ph (%)
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Sucrose	65.2	65.1	64.7	62.7
Cellulose powder	5.0	5.0	5.0	5.0
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Salt mixture ¹	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture ¹	1.0	1.0	1.0	1.0
Sodinm Phytate	—	0.1	0.5	2.5

¹AIN-76 prescription (J. Nutr., 107, 1340 (1977)).

Table 2. Effects of dietary sodium phytate on hepatic lipids status in rats fed on the sucrose diet¹.

Group	Sucrose	Suc+0.1%Ph	Suc+0.5%Ph	Suc+2.5%Ph
Food intake (g/12 days)	205±5 ^{a2}	217±11 ^a	208±7 ^a	196±4 ^a
Gains in body wt. (g/12 days)	107±3 ^{ab}	114±6 ^b	108±4 ^{ab}	97±2 ^a
Liver wt. (% of body wt.)	6.38±0.22 ^b	5.85±0.16 ^{ab}	5.43±0.09 ^a	5.46±0.25 ^a
Liver total lipids (mg/g tissue)	105.2±8.1 ^c	74.8±7.8 ^b	60.6±2.1 ^{ab}	5.31±1.0 ^a
Liver triglyceride (mg/g tissue)	54.1±8.8 ^c	31.1±7.9 ^b	14.8±2.3 ^{ab}	10.1±1.4 ^a
Hepatic G6PD (mU/mg protein)	127.6±5.3 ^c	117.2±15.4 ^{bc}	91.5±10.0 ^{ab}	68.1±6.8 ^a
Hepatic ME (mU/mg protein)	100.4±4.8 ^c	92.3±6.4 ^{bc}	79.1±5.6 ^{ab}	56.0±6.4 ^a
Hepatic FAS (mU/mg protein)	4.92±0.82 ^b	3.63±0.78 ^{ab}	2.95±0.63 ^{ab}	1.71±0.13 ^a

¹Initial body weight was an average of 90 g (87~100 g), and the feeding period was 12 days.

²Mean ± SE (N =6). Means not followed by the same letter are significantly different (p < 0.05).

響は見られなかった。肝臓重量は Ph 添加により抑制され、この抑制は 0.5% Ph で最大限に達した。肝臓の総脂質量およびトリグリセリド含量は 0.1% Ph で有意に抑制され、2.5% Ph レベルまで段階的に抑制された。また、肝臓の G6PD、ME 及び FAS 活性も Ph の添加レベルに従って抑制された (Table 2)。一方、血清脂質に対する Ph の顕著な効果は認められなかった (Table 3)。

小腸粘膜酵素活性はシュクラーゼ、マルターゼの活性は添加レベルにしたがって若干増大する傾向を示したが、有意な差ではなかった。フィターゼとロイシンアミノペプチダーゼは各群間での有意差は見られなかった (Table 4)。しかしながら、フィターゼは成長や食餌摂取量との相関が有意にあった (Table 5)。

考 察

本研究において、シヨ糖摂取ラットにおいて比較的生理的レベルに近い含量の食餌フィチン酸が、肝臓脂質量および脂質合成に関与する酵素の活性に影響することが示された。また最近、我々は、食餌オロト酸が短期間飼育で肝臓からのリポタンパク質放出を抑制することで、シヨ糖摂取の場合とは異

Table 3. Effects of dietary sodium phytate on serum level of lipids in rats fed on the sucrose diet¹.

Group	Sucrose	Suc+0.1%Ph	Suc+0.5%Ph	Suc+2.5%Ph
Serum triglyceride (mg/100 ml)	225±36 ^{a2}	177±24 ^a	154±16 ^a	151±13 ^a
Serum free fatty acid (mEq/l)	0.663±0.039 ^b	0.498±0.027 ^a	0.603±0.056 ^{ab}	0.598±0.046 ^{ab}
Serum cholesterol (mg/100 ml)	143±7 ^a	134±10 ^a	138±6 ^a	122±4 ^a
Serum phospholipid (mg/100 ml)	257±6 ^b	250±15 ^b	235±11 ^{ab}	208±5 ^a

¹Initial body weight was an average of 90 g (87~100 g), and the feeding period was 12 days.

²Mean ± SE (N =6). Means not followed by the same letter are significantly different (p <0.05).

Table 4. Effects of dietary sodium phytate on enzyme activity of intestinal homogenate in rats fed on the sucrose diet¹.

Group	Sucrose	Suc+0.1%Ph	Suc+0.5%Ph	Suc+2.5%Ph
Sucrase (U/mg protein) ²	7.63±0.63 ^{a4}	7.97±1.12 ^a	8.66±0.89 ^a	10.18±0.60 ^a
Maltase (U/mg protein) ²	47.2±5.6 ^a	49.4±6.7 ^a	48.6±5.2 ^a	53.9±7.0 ^a
Leucine aminopeptidase (mU/mg protein) ²	8.24±1.45 ^a	10.57±1.43 ^a	8.28±1.23 ^a	7.60±1.01 ^a
Phytase (U/mg protein) ³	0.179±0.031 ^a	0.204±0.053 ^a	0.173±0.033 ^a	0.093±0.015 ^a
Protein (mg/g tissue)	68.9±2.6 ^a	61.4±1.6 ^a	67.2±3.2 ^a	65.2±1.7 ^a

¹Initial body weight was an average of 90 g (87~100 g), and the feeding period was 12 days.

²U = Micromoles of substrate hydrolyzed per hour.

³U = Micromoles phosphate liberated per hour.

⁴Mean ± SE (N =6). Means not followed by the same letter are significantly different (p <0.05).

Table 5. Relationships between Activities of Intestinal Enzymes and Growth

	Sucrase	Maltase	LAP	Phytase
Growth	r =0.039201	0.2909	0.645 (p <0.01)	0.848 (p <0.01)

なった肝脂質蓄積を引き起こすという事を利用し、オロト酸摂取ラットにおける肝臓脂質蓄積に対する食餌フィチン酸の影響について肝臓脂質量、肝臓脂質合成関連酵素及び血清脂質量を検討したが、フィチン酸による脂肪蓄積緩和効果を示さないことを報告した⁹⁾。したがって食餌フィチン酸が肝臓の脂質合成上昇の結果生じる肝臓脂質蓄積に対して、脂質合成を抑制することにより防御するのではないかと推定した (Table 2)。

一方、この時の小腸粘膜酵素活性はショ糖の吸収に関与するシュクラーゼにおいては、フィチン酸添加による影響が見られないため、必ずしもフィチン酸がシュクラーゼを阻害しその結果ショ糖の吸収を抑制することにより脂質蓄積を防御していないものと推定した。

シュクラーゼ以外の小腸粘膜酵素活性に対しても、フィチン酸による顕著な影響は認められなかった。従って、フィチン酸の小腸粘膜に対する影響は少ない可能性が考えられる (Table 4)。

一方、亜鉛酵素であるフィターゼの活性と成長との相関は非常に高く、食餌にフィチン酸を添加した

時のフィターゼの活性値が、フィチン酸の要求量あるいは亜鉛吸収阻害による害作用の指標となるのではないかとも考えられる (Table 5)。

以上のことより、フィチン酸がショ糖による肝臓脂質蓄積を防御する現象は、小腸粘膜酵素の活性阻害によるものではなく脂質合成関連酵素活性を抑制することに少なくとも部分的に起因していることが確認された。さらに、この現象が比較的生理的レベルに近い含量の食餌フィチン酸においても引き起こされる可能性が示された。

そこで今後は、フィチン酸が体内でミオイノシトールとミオイノシトール1リン酸に変化することが報告されているため⁹⁾、肝臓脂質蓄積抑制においてフィチン酸がそのままの形態で作用しているのか、吸収時にいくつかの、あるいは、すべてのリン酸基がはずれた形態で作用しているのか、また、脂質合成関連酵素蛋白質に直接作用しているのか、各酵素の合成段階で速度や形態に影響を示しているのか等について検討していく必要があると考えられる。またフィチン酸がインシュリン等のホルモンへ影響を及ぼすことによって脂質の合成が抑制されている可能性についても検討していくことが必要であると考えている。

引用文献

- 1) Holub, B. J. : Ann. Rev. Nutr., 6, 563 (1986)
- 2) Thompson, L. M. : in "Phytic acid" ed. by Graf, E., Pilatus Press, Mineapolis, Minnesota, p.173 (1986)
- 3) 早川利郎, 伊賀上郁夫 : 日本食品工業学会誌, 第39巻, 第7号, 647 (1992)
- 4) Miyazawa, E., Iwabuchi, A. and Yosida, T. : Nutr. Res., 16, 603 (1996)
- 5) 菊永茂司, 有森三和子, 高橋正侑 : 栄食誌, 37, 77 (1984)
- 6) Beach, D. c. and Flick, P. K. : Biochim. Biochem. Acta, 711, 452 (1982)
- 7) Katayama, T. : Nutr. Res. 17, 721 (1997)
- 8) 大呑尚子, 片山徹之 : 栄食誌, 50, 267 (1997)
- 9) Shamsuddin, A. M. : J. Nutr. 125, 725S (1995)