

ラット血漿および赤血球膜の被酸化性におよぼすカキ肉エキス摂取の影響

福永健治¹⁾, 吉田宗弘²⁾, 高谷英子³⁾,
松田芳和³⁾, 太田隆男³⁾, 柴田幸雄³⁾

(¹⁾ 関西医大・公衆衛生*, (²⁾ 関西大・生物工**, (³⁾ 日本クリニック(株)中央研究所***)

Effect of oyster extracts supplementation on oxidizability of rats plasma and red blood cells membrane.

Kenji FUKUNAGA¹⁾, Munehiro YOSHIDA²⁾, Eiko TAKAYA³⁾,
Yoshikazu MATSUDA³⁾, Takao OHTA³⁾, Yukio SHIBATA³⁾

¹⁾ *Department of Public Health Kansai Medical University,*

²⁾ *Department Biotechnology, Faculty of Engineering, Kansai University,*

³⁾ *Central Research Institute, Japan Clinic Co., Ltd*

Oyster extracts contain important trace nutrients such as taurine and zinc abundantly, and that it has various physiological function such as platelet aggregation inhibitory function or blood glucose improvement effect is reported. Further, antioxidative activity of oyster extracts has been confirmed using model system.

In this study, we examined the effect of oyster extracts supplementation on oxidizability of rats plasma and red blood cells (RBC) membrane. Rats were fed AIN93G diet containing oyster extracts (0.5,w/w) for 5 weeks. The oxidizability of plasma and RBC membrane, as evaluated *in vitro* by the duration of the lag-phase in hemin-hydrogen peroxide induced oxidation, were significantly decreased. In addition, the total antioxidative activity were significantly increased. On the other hand, a major antioxidative substances and peroxidizability index in plasma and RBC membrane were not changed by oyster extracts supplementation. These results suggest that a certain factors, such as polyphenol, flavonoid, play an important role in antioxidative effects of oyster extracts supplementation.

* 所在地：守口市文園町 10-15 (〒570-8506)

** 所在地：吹田市山手町 3-3-35 (〒564-8680)

*** 所在地：京都市右京区太秦開日町 10-1 (〒616-8555)

目 的

カキ肉エキスはタウリン、亜鉛などをはじめ重要な微量栄養成分を豊富に含み、血小板凝集抑制作用や血糖値改善効果など、さまざまな生理機能を有することが知られている^{1) - 3)}。また、脂質過酸化抑制作用の報告もされているが⁴⁾、カキ肉エキス摂取による抗酸化性発現については十分に解明されていない。そこで本研究では、生体の被酸化性におよぼすカキ肉エキス摂取の影響を知ることを目的にラットを実験動物にもちい、血漿および赤血球膜を対象として検討した。

材料および方法

実験動物にはWistar系雄ラット（4週齢）をもちいた。AIN93G（対照群用）餌料を1週間給餌した後、1群8匹として無作為に群分けをした。AIN93Gをもとに2種類のカキ肉エキスパウダーAおよびB（植物物エキス配合）をそれぞれ含有（0.5%,w/w）するように調製した試験餌料を5週間にわたり給餌した。餌料および水は毎日交換し自由摂取とした。

飼育期間終了後、ネブタール麻酔下でEDTA3Kを抗凝固剤にもちい心臓穿刺によって全血を得た。ついで主要臓器の摘出を行い重量を測定した。血漿および赤血球は遠心分離（1500g, 15min）によって分離した。赤血球膜は赤血球リン酸緩衝生理食塩水で3回洗浄した後、Dodgeらの方法⁵⁾にしたがって調製した。脂質過酸化指標（PI）⁶⁾は総脂質画分抽出後、ガスクロマトグラフ法による脂肪酸組成分析結果から算出した。血漿のビタミンA（VA）、ビタミンC（VC）、ビタミンE（VE）、尿酸、過酸化脂質（マロジアルデヒド：MDA）ならびに赤血球膜のVE、還元型グルタチオン（GSH）、MDAレベルは高速液体クロマトグラフ法にて測定した。血漿および赤血球膜の総抗酸化活性は有色で安定なラジカルである1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl⁷⁾をもちいて測定し、被酸化性はヘミン-過酸化水素系⁸⁾にて脂質過酸化誘導期間（Lag time）を測定した。

結果および考察

飼育期間中の餌料摂取量および体重増加量に差はみられなかった。主要臓器重量を測定したところ、心臓、肺、腎臓および脾臓重量に差はみられなかった。しかし、Fig.1.に示すようにカキ肉エキス摂取群（AおよびB群）で肝臓重量比（g/100g体重）に減少傾向がみられた。そこで肝臓脂質含量を測定したところ、トリグリセリドおよび総コレステロール含量が低下していた。カキ肉エキスの摂取が肝臓におけるそれらの合成、蓄積を抑制したことが考えられる。

血漿および赤血球膜の主要抗酸化性成分、過酸化脂質（MDA）レベルにおよぼすカキ肉エキス摂取の影響を検討した。その結果、血漿VA、VC、VEおよび尿酸レベルに差はみられなかった。赤血球膜VEおよびGSHはB群で微増したが、個体差が大きく有意な差ではなかった。以上の結果からカキ肉エキス摂取は血漿および赤血球膜の主要抗酸化性成分含量に影響をおよぼさないことが示された。MDAはFig.2に示すように赤血球膜では変化がみられなかったが、B群の血漿で減少傾向がみられた。これは植物エキス中に含有するある種の抗酸化性成分が生体に反映した結果、血漿脂質の過酸化あるいは臓器、組織から血漿中に放出される過酸化脂質の生成を抑制したためであると考えられる。

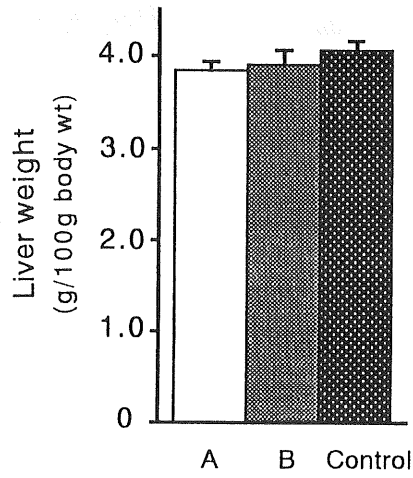


Fig.1 Effect of oyster extracts supplementation on liver weight. Values are means \pm SD (n=8)

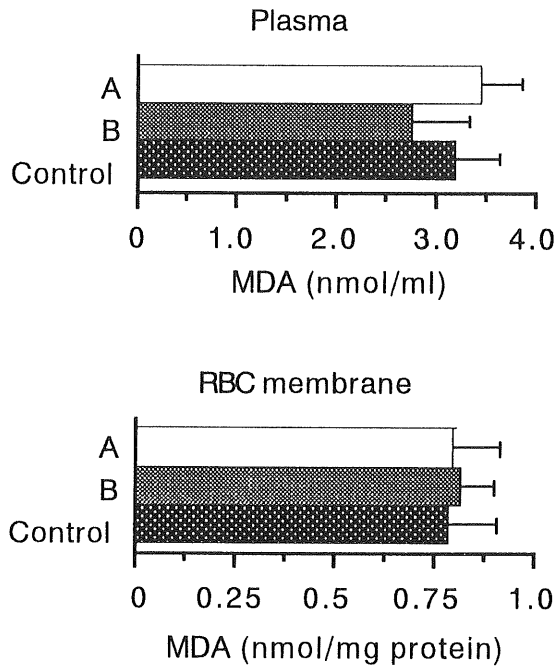


Fig.2 Effect of oyster extracts supplementation on lipid peroxide (MDA) level in rat plasma and RBC membrane. Values are means \pm SD (n=8)

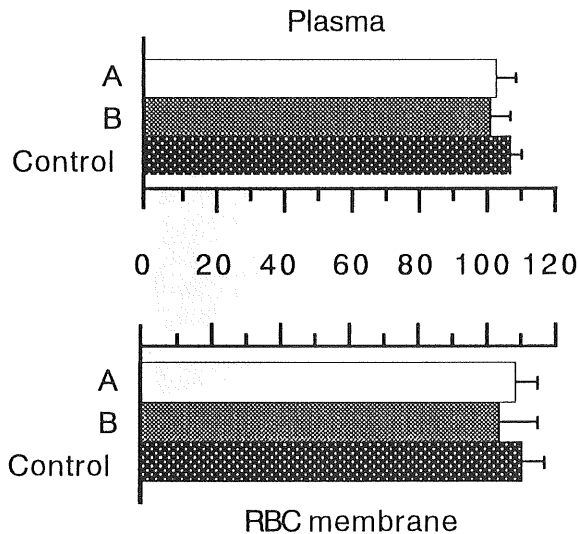


Fig. 3 Effect of oyster extracts supplementation on peroxidizability index * in rat plasma and RBC membrane.

Values are means \pm SD (n=8)

* (% dienoic \times 1) + (% trienoic \times 2) + (% tetraenoic \times 3) + (pentaenoic \times 4) + (hexsaenoic \times 5)

血漿および赤血球膜構成脂肪酸の不飽和度をもとにした被酸化性すなわちPIにおよぼすカキ肉エキス摂取の影響を検討したところFig.3. に示すようにA, B両群ともに有意な差はみられなかった。また脂肪酸の組成比にも差はみられなかったが、血漿脂肪酸のn-6/n-3比には減少傾向がみられた。

カキ肉エキス摂取による血漿および赤血球膜の総抗酸化活性および脂質過酸化誘導期間におよぼす影響を検討した。Fig.4.に示すように総抗酸化活性はA, B両群とも有意に増加した。B群の方が血漿、赤血球膜いずれにおいても増加割合が大きかったが、これはカキ肉エキスBに含有する植物エキスの作用であると考えられる。また、Fig.5.に示すように被酸化性の減少すなわち過酸化誘導期間の増加は総抗酸化活性と同様、カキ肉エキス摂取によって有意に増加した。

血漿、赤血球膜ともに主要抗酸化成分の増加がみられないこと、構成脂肪酸の不飽和度をあらわすPIにも変化がないことから、酸化的ストレスに対する抵抗性の増大、すなわち被酸化性減少にはMurakami⁴⁾らが報告しているポリフェノール、フラボノイド関連化合物など他因子の関与が推察される。

今回は5週間の給餌という短期間の検討であったため明確な結果が得られない項目もあったが、すくなくともカキ肉エキスの摂取による被酸化性の減少が示され、さらに脂肪肝の改善、血漿脂肪酸n-6/n-3比の増加傾向など生活習慣病の予防効果を示唆する結果も得られた。今後、長期間のカキ肉エキス摂取による生体被酸化性ならびに脂質代謝に対する影響を検討することが必要であると考えられる。

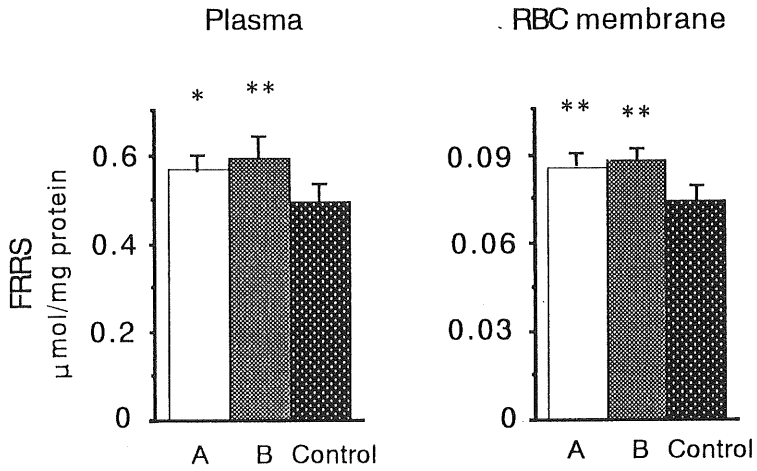


Fig. 4 Effect of oyster extracts supplementation on free radical reactive substances (FRRS) level in rat plasma and RBC membrane. Values are means \pm SD (n=8)

*, **: Significantly different from control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

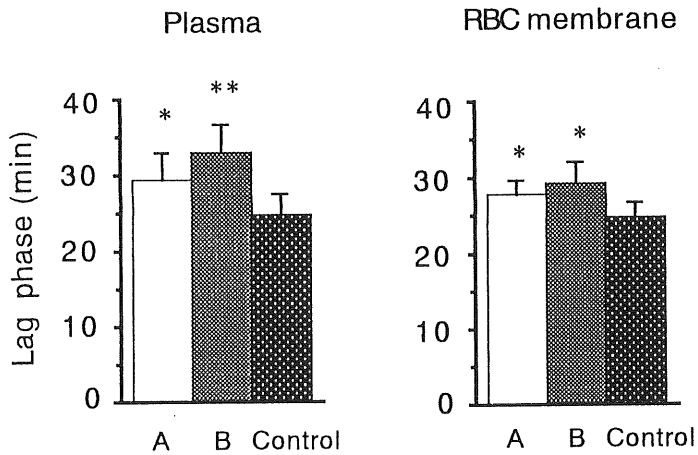


Fig. 5 Effect of oyster extracts supplementation on oxidizability of plasma and RBC membrane. The oxidizability was evaluated by the duration of the lag phase in hemin-hydrogen peroxide induced oxidation. Values are means \pm SD (n=8)

*, **: Significantly different from control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

文 献

- 1) 太田隆男 (1990) 愛知医科大学医学雑誌 18 : 589
- 2) 松田芳和, 出田祐久, 藤田忠義, 太田隆男, 中塚正博, 吉野昌孝, 柴田幸雄 (1995) 微量栄養素研究 12 : 91
- 3) 松田芳和, 高谷英子, 山口雅子, 太田隆男, 真部真理子, 河村幸雄, 広石伸吾, 柴田幸雄 (1998) 微量栄養素研究 15 : 121
- 4) 村上恵子, 松田芳和, 中塚正博, 吉野昌孝 (1997) 微量栄養素研究 14 : 129
- 5) Dodge, J.T., C. Mitchell and D.J. Hanahan (1963) Arch. Biochem. Biophys. 100 : 119
- 6) Cosgrove, J.P., D.F. Church and W.A. Pryor (1987) Lipids 22 : 299
- 7) Saito, M (1990) Biochim. Biophys. Acta. 1046 : 301
- 8) Ujhelyi, L., J. Balla, L. Muszbek, G. Kakuk, J. Belcher, H.S. Jacob, G.M. Vercellotti and G. Balla (1998) Clin. Chem. 44 : 1762