

琉球大学学術リポジトリ

食餌性肥満モデルラットおよび小麦ふすま摂取がメタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学教育学部附属教育実践総合センター 公開日: 2017-09-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大西, 竜子, Ohnishi, Ryuko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/37068

食餌性肥満モデルラットおよび小麦ふすま摂取が メタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響

大西 竜子*

Generation of Rat Model for Obesity and Effects of Wheat Bran on Metabolic Syndrome Markers

Ryuko Ohnishi*

要旨：食餌性肥満モデルラットを作製し、その成長過程とメタボリックシンドローム関連指標に及ぼす影響を検討した。SD系雄性ラットを3群に分け、基本飼料（B群）、高脂肪およびコレステロール添加飼料（FC群）、この飼料に10%小麦ふすま（食物センイを豊富に含む）を添加した飼料（FCD群）を与え、21日間飼育した。その結果、FC群ではB群に比べ体重増加量、最終体重は高い傾向を示し、飼料効率は有意に高かった。腹腔内脂肪組織重量も高い傾向がみられ、肝臓の肥大、脂肪肝の発症が観察された。一方、血中脂質値には各群間に有意な差はみられなかった。本実験から、日常的に脂肪やコレステロールを過剰に摂取すると、メタボリックシンドローム病態基盤である肥満が誘発されることが確認された。一方、小麦ふすまを加えたFCD群では、これらを改善する効果はみられなかったが、盲腸は大きくなり、糞便の排泄を促進する効果がみられた。

はじめに

本実験は栄養生化学実験の授業の一環として行った。対象は、栄養士、栄養教諭養成コースの学生10名である。

沖縄県には「健康・長寿県の復活」という重要な課題がある。沖縄は長らく健康長寿の県として知られてきたが、2010年には平均寿命は男性30位、女性3位となった。2013年12月に報告された沖縄県医療費適正化計画実績評価¹⁾によると、メタボリックシンドロームおよびその予備群人口は全国平均26.8%に対し33.9%であり、これは47都道府県の中で最悪の数値である。県内の肥満者は過去のデータよりも増加傾向にあり、この現状は「沖縄クライシス」²⁾とも呼ばれている。

県では2001年から健康増進計画として「健康おきなわ2010」プロジェクトを発足させ、現在は「健康おきなわ21（第二次）」³⁾に取り組んでいる。多くの取り組むべき事項の中でも優先度が高く、かつ効果が大きいものとして、特定検診・がん検診の受診率向上、アルコール対策と並んで肥満の改善が挙げられた。

肥満とは体脂肪が過剰に蓄積された状態であり、エネルギー過剰な状態では脂肪細胞はエネルギーを中性脂肪として貯蔵し、細胞は肥大化ならびに増殖する⁴⁾。このような内臓脂肪蓄積型肥満がベースとなり、インスリン抵抗性、脂質代謝異常、高血圧症などを併発する状態がメタボリッ

*琉球大学教育学部

クシンドロームである。メタボリックシンドロームの発症を防ぐためには、基盤病態である内臓脂肪蓄積型肥満を予防、抑制することが重要である。

一方、2011年の県の調査³⁾では野菜の摂取量は全国平均並みではあるものの、各年代ともに厚生労働省の1日あたりの目標摂取量である350 g⁵⁾に及ばず、果物に至っては全国平均の6割程度で1日の目標摂取量の200 gを大きく下回っている。野菜や果物はセルロース、ヘミセルロース、ペクチンなどの食物センイを含む。これらのデータから、食生活の低食物センイ化が沖縄県のメタボリックシンドローム増加の一因になっている可能性がある。食物センイは、「ヒトの消化酵素で消化されない食物中の難消化性成分の総体」⁶⁾と定義され、消化管を移動する過程で物理的機能を有することや小腸での消化を免れ、結腸に到達することで多くの有効な生理機能を発揮することが知られている。

本実験では、上述のような沖縄県の健康問題を強く意識した。具体的な実験内容は、様々な生活習慣病発症リスクとなる肥満（メタボリックシンドローム）を取り上げ、高脂肪およびコレステロールを添加した飼料を与えることにより実験的肥満モデルラットを作製した。さらに、この飼料に沖縄の島やさいや伝統食にも豊富に含まれる食物センイを加える飼料と、対照として基本飼料を与える計3群でのラット飼育実験を行った。食物センイ源には、特定保健用食品として認可されており、コレステロール低下作用、整腸作用および糖質吸収低下を強調表示することができる小麦ふすま⁷⁾を用いた。体重を指標とする日々の成長過程の観察記録のほか、7日毎にラットの尾静脈より採血し、血漿コレステロール濃度の経日変化を観察した。糞の排泄量や形状なども観察した。飼育期間終了後には臓器の色調や大きさの観察、脂肪組織重量の測定、脂質代謝マーカを中心とする血液の生化学的分析を行った。

学生達が基礎的な動物飼育実験を通じて、食の質的違いが健康に与える影響を観察し、脂質代謝に関連する指標を分析するとともに、得られたデータから栄養と代謝のしくみやその機能を考察することで、科学的な根拠と視野をもって栄養指導のできる能力を養うことを目的とした。さらに、栄養（つまり他の生物の生命）を摂取することでヒトは生かされていることについても理解させ、倫理的視点から動物実験を考えさせる機会も設けた。

実験方法

本実験は琉球大学動物実験委員会（2015年5月27日承認：承認番号第6027号）において定められた「琉球大学動物実験規則」に則り、学長の承認を得て行った。

1. 動物実験に関する一般事項

1.1 実験動物 実験動物には4週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用い（日本 SLC（株）、浜松）、室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 50-60%、明暗サイクルは明期を 8:00-20:00、暗期を 20:00-8:00 とし、ステンレス製ケージ内で個体別に飼育した。

ラットは搬入後、基本飼料（Table 1）で4日間馴化して実験に供した。体重および血漿コレステロール濃度が均一化するように1群5匹に分け、試験飼料を21日間与えた。全飼育期間を通じて飼料と水は自由摂取とし、毎日新しいものに交換した。床敷きも毎日交換し、衛生的な飼育環境を保った。

1.2 飼料 基本飼料は米国国立栄養研究所（American Institute of Nutrition, AIN）-76 組成⁸⁾を用いて調製した（Table 1）。コーンスターチとコーンオイルは、日本食品化工（株）（東京）よりご恵与いただいた。カゼイン（製品名 Edible Acid Casein 30-60 Mesh）は、メグレ・ジャパン（株）（東京、本社ドイツ）より購入した。小麦ふすま（製品名ウィートブラン DF）は、（株）日清製

粉グループ本社（東京）よりご恵与いただいた。この製品は食用ふすまを脱脂、焙焼したもので、食物センイを約50%含む。

1. 3 実験 ラットを馴化した後、3群に分け、対照群（Basal; 以下B群）は基本飼料を与えた（Table 1）。肥満モデルラット群（High fat and cholesterol; 以下FC群）は、基本飼料にラードを15%、コレステロールを1%加えた高脂肪およびコレステロール添加飼料、食物センイを与えた群（High fat and cholesterol

with dietary fiber; 以下FCD群）には、この高脂肪およびコレステロール添加飼料に小麦ふすまを10%加えた。ラード（雪印メグミルク（株）、北海道）、コレステロール（和光純薬工業（株）、大阪）、小麦ふすまは、基本飼料のコーンスターチ部分と各々置き換えた（Table 1）。本飼育開始から0, 7, 14, 21日目に尾静脈血をヘパリン処理したヘマトクリットキャピラリーに採取した。血液を遠心分離（8,000 rpm, 5 min）して得られた血漿中の総コレステロール濃度を測定した。飼育終了前3日間、ラットの糞の形状観察と個数をカウントした。最終日にはソムノペンチルを生理食塩水で10倍希釈し、ラットの体重100 gあたり0.6-0.8 mL（30-40 mg/kg, ペントバルビタールナトリウム換算量）を腹腔内に投与した。ラットが深麻酔下にあることを確認した後、腹部大動脈より採血を行った。放血により完全に心肺を停止させた後、直ちに肝臓、盲腸、副睾丸脂肪組織、後腹壁脂肪組織を摘出し、重量を測定した。その際、肝臓と盲腸は臓器周囲脂肪を除去し、付着した血液は生理食塩水で洗浄した後、ろ紙で水分を完全に拭き取った。腹部大動脈血は遠心分離（3,000 rpm, 15 min, 4°C）し、血漿をマイクロチューブに採取して血中脂質を測定するまで-30°Cで凍結保存した。

2. 分析方法

血漿の総コレステロール濃度はコレステロールE-テストワコー、トリグリセリド濃度はトリグリセライドE-テストワコー（いずれも和光純薬工業（株）、大阪）を用いて、各々酵素法により分析を行った。

3. 統計解析

統計処理にはPrism version 6（GraphPad Software, Inc.）を用いた。3群について等分散性を確認した上で一元配置分散分析（One-way ANOVA）を行い、有意差が認められた場合には *post hoc* テストとして Tukey-Kramer の多重比較を行った。

Table 1. Composition of diets (g/kg)

	B	FC	FCD
Casein	250	250	250
Corn oil	50	50	50
Lard	-	150	150
Cholesterol	-	10	10
Mineral mixture*	35	35	35
Vitamin mixture*	10	10	10
Choline bitartrate	2	2	2
<i>t</i> -butyl hydroquinone	0.014	0.014	0.014
Corn starch	653	493	393
Wheat bran	-	-	100

*Based on AIN76, purchased from Oriental Yeast Co., Tokyo.

B; Basal, FC; High fat and cholesterol, FCD; High fat and cholesterol with dietary fiber.

実験結果

1. 成長結果

ラット飼育期間中の飼料摂食量に差はみられなかった（Fig. 1）。成長速度では5-12日目にB群に比

べFC群では有意に高くなったが、その後は差がなくなり、最終日にも有意な差は認められなかった (Fig. 2)。結果をTable 2にまとめた。体重増加量はB群に比べて、肥満モデルのFC群は16%, FCD群では8%高い傾向を示した。最終体重においてもB群に比べ、FC群とFCD群では高い傾向を示した。一方、総飼料摂取量については、B群よりも肥満モデル群で10%低い傾向を示した。飼料効率はB群に比べFC群、FCD群で有意に高かった。

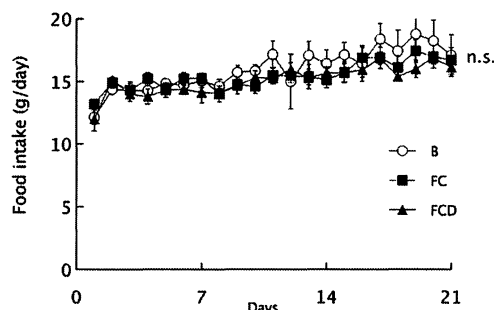


Figure 1 Change in food intake
Data are expressed as means \pm SEM (n=5). Significant difference were not observed (one-way ANOVA, $p > 0.05$) among groups for 21 days. \circ : Basal; \blacksquare : High fat and cholesterol; \blacktriangle : High fat and cholesterol with dietary fiber.

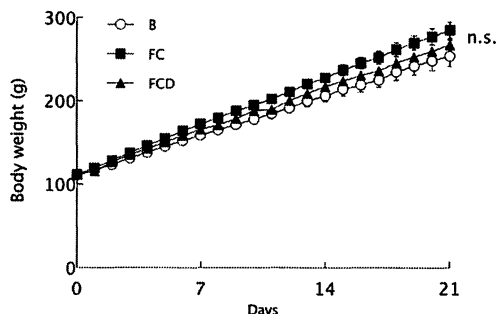


Figure 2 Change in body weight
Data are expressed as means \pm SEM (n=5). Body weight was significantly higher in group FC than group B between days 5 and 12 (Tukey-Kramer test ($p < 0.05$)). \circ : Basal; \blacksquare : High fat and cholesterol; \blacktriangle : High fat and cholesterol with dietary fiber.

2. 血中脂質濃度

血漿コレステロール濃度の経日変化は7日目にはB群とFCD群の値は同等であったが、FC群は両群と比較して有意に高くなった (Fig. 3)。その値はB群の2倍、FCD群では1.5倍であった。14日目ではB群とFC群に差はなくなったが、B群に比べFCD群では有意に高くなった。21日目は3群間に差はなかった。

腹部大動脈血中の総コレステロールおよびトリグリセリドの濃度は、3群間に有意な差は認められなかった (Table 3)。

3. 臓器重量および糞排泄量

肝臓重量はB群に比べ、FC群およびFCD群は有意に高くなった (Table 4)。肝臓の肉眼的観察ではB群は鮮明な赤色であるのに対し、FC群とFCD群では白色を呈した (Fig. 4)。副睪丸脂肪組織重量に有意な差はなかったものの、B群、FCD群、FC群の順で高く、FC群ではB群の1.2倍であった。後腹壁脂肪組織重量においてもB群、FCD群、FC群の順で高くなり、B群とFC群には有意な差が認められた。その値はB群に比べ、FCD

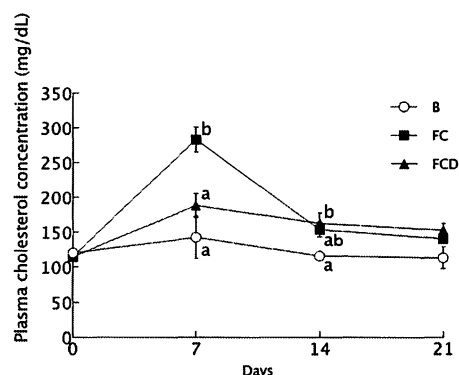


Figure 3 Change in plasma cholesterol concentration
Data are expressed as means \pm SEM (n=5). Values are with different superscript letters are significantly different within a row when analyzed by one-way ANOVA and *post hoc* Tukey-Kramer test ($p < 0.05$). \circ : Basal; \blacksquare : High fat and cholesterol; \blacktriangle : High fat and cholesterol with dietary fiber.

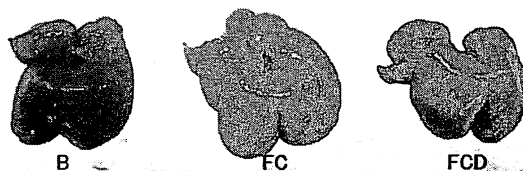


Figure 4 Macroscopic findings of liver
B: Basal; FC: High fat and cholesterol; FCD: High fat and cholesterol with dietary fiber.

群は1.4倍、FC群では1.5倍であった。FC群とFCD群の間には、差がなかった。

盲腸重量は各群間に有意な差はなかったものの、FCD群はB群とFC群に比べ1.2倍高い傾向を示した。糞の排泄量ではFCD群は他の2群よりも有意に高くなり、B群の2.7倍、FC群の2倍であった。糞の形状はB群とFC群は黒色を呈し、細く短いことが観察された。特にB群では硬かった。一方、FCD群は茶色を呈し、表面がなめらかで、太く、長い形状であった。

Table 2. Initial body weight, final body weight, food intake, body weight gain, and food efficiency

	B	FC	FCD
Initial body weight (g)	110.7 ± 1.1	111.7 ± 1.5	111.8 ± 1.0
Final body weight (g)	254.7 ± 12.6	285.5 ± 8.7	268.2 ± 6.2
Food intake (g/21 days)	355.4 ± 16.9	324.4 ± 10.8	317.2 ± 8.4
Body weight gain (g/21 days)	144.0 ± 11.6	173.8 ± 8.7	155.9 ± 5.8
Food efficiency	0.427 ± 0.016 ^a	0.534 ± 0.010 ^b	0.491 ± 0.011 ^b

Data are expressed as means ± SEM (n=5). Values with different superscript letters are significantly different when analyzed by one-way ANOVA and *post hoc* Tukey-Kramer test ($p < 0.05$).

Table 3. Plasma total cholesterol and triglyceride concentrations

	B	FC	FCD
Total cholesterol (mg/dL)	114.2 ± 8.6	138.4 ± 6.4	124.9 ± 8.3
Triglyceride (mg/dL)	123.3 ± 11.9	133.6 ± 12.2	104.6 ± 12.4

Data are expressed as means ± SEM (n=5). Significant difference was not observed (one-way ANOVA, $p > 0.05$) among groups.

Table 4. Weight of liver, adipose tissues and cecum, and fecal excretion

	B	FC	FCD
Liver (g)	10.5 ± 0.8 ^a	16.0 ± 0.6 ^b	14.8 ± 0.6 ^b
Epididymal fat (g)	3.9 ± 0.4	4.7 ± 0.6	4.5 ± 0.6
Retroperitoneal fat (g)	4.1 ± 0.4 ^a	6.2 ± 0.5 ^b	5.9 ± 0.6 ^{ab}
Intraperitoneal fat (g)	8.0 ± 0.6	10.9 ± 1.0	10.4 ± 1.1
Total cecum (g)	1.7 ± 0.2	1.7 ± 0.1	2.2 ± 0.2
Fecal excretion (pieces/day)	10.0 ± 0.5 ^a	13.7 ± 1.2 ^a	27.1 ± 2.0 ^b

Data are expressed as means ± SEM (n=5). Values with different superscript letters are significantly different when analyzed by one-way ANOVA and *post hoc* Tukey-Kramer test ($p < 0.05$).

考察

ラットに高脂肪およびコレステロールを添加した飼料を与え食餌性肥満モデルを作製し、その成長過程を観察するとともに、メタボリックシンドローム関連指標の解析を行った。加えて、この肥満モデルに脂質代謝改善機能があり、特定保健用食品として認められている小麦ふすま⁷⁾を添加した群も設け、食物センイの機能性についても検討を行った。

体重増加量は肥満モデルのFC群とFCD群はB群に比べ、各々16%、8%と高い傾向を示したが、総飼料摂取量については10%低い傾向を示した。この値を各群1日あたりの摂取エネルギー量に換算すると、B群は68.6 kcal、FC群は74.9 kcal、FCD群では73.4 kcalとなり、B群よりも肥満モデル群は10%高かったことから、体重増加量および最終体重は高い傾向を示したと考えられた。

血中の脂質濃度は同一サンプルを各々3回測定し、その平均値を用いた。血漿コレステロール濃度の経日変化を観察した7日目では、B群およびFCD群に比べ、FC群は約2倍の高値であった。一方、同一サンプル内の測定値には各々ばらつきがみられ、特にFC群ではその幅が大きかった。最も大きくばらついた測定値は、197-272 mg/dLで1.4倍もの差があった。この原因は、おそらくは学生の手技の未熟さによるものであり、7日目の血漿コレステロール濃度は真の値ではないと考えられた。14、21日目の血漿コレステロール濃度はB群に比べ、肥満モデルのFC群では高い傾向を示したこと、さらに腹部大動脈血中の総コレステロール濃度の値からも、日常的に高脂肪およびコレステロールを摂取すると血中コレステロール濃度が上昇傾向を示すことがわかった。また、FCD群の値もFC群と同様の挙動を示した。トリグリセリド濃度においても各群間に差はなかった。Truswell⁹⁾は、レビューの中で小麦ふすまにコレステロール低下作用がないと結論づけている。本実験では、高脂肪およびコレステロール添加飼料に対するコレステロール正常化作用について検討したが、改善効果はみられなかった。また、小麦ふすま入りや全粒粉で作ったパンなどのいくつかの実験において、小麦ふすまが糞中への脂質排泄亢進に影響するかどうかは報告によって結果が異なっている¹⁰⁾。糞中脂質排泄量に関しては測定をしていないため評価することはできないが、今回用いた小麦ふすまには血中トリグリセリド濃度の正常化作用はみられなかった。また、トリグリセリド濃度の測定値は、同一群内での個体差が大きかった。この個体差の原因には、血中トリグリセリドの食餌の影響を直ちに反映する特性が影響したものと考えられた。今後は、個体間のばらつきを抑えるために、採血を施す数時間前に絶食させるなどの対策が必要かもしれない。

本実験では、わずか3週間、ラットに高脂肪およびコレステロール飼料を摂取させ続けるだけで、腹腔内脂肪組織重量が増加する傾向が認められ、肝臓に至っては肥大し、肉眼的観察でも顕著に白色を呈することを確認できた。肝臓の白化は一般的には脂肪肝の兆候として理解されている。肝臓は、栄養の処理、貯蔵、中毒性物質の解毒、分解、排泄、血液性状の調整、血液量の調節、胆汁の分泌、細網内皮系細胞による身体防衛作用など、生体の重要な機能を多く兼ね備えており、中でも生体内代謝の中心的役割を果たしている¹¹⁾。脂肪肝の発症機序に関連する病態において、過栄養によるものでは肥満がもっとも重要である¹²⁾。今回の実験では小麦ふすまの摂取により、これら改善効果は認められなかった。一方、今回用いた小麦ふすまは、不溶性食物センイ46%、水溶性食物センイ4%で構成されており、不溶性食物センイにみられる排便の促進効果が顕著に確認された。消化管腔内では水分子が小麦ふすまセンイの表面に吸着したり、間隙に侵入するなどして容積を増大する¹⁰⁾。この高い保水能によって緩下作用が誘導され、排便量が増大したと考えられた。

以上のことをまとめると、継続的に高脂肪およびコレステロールを含む食事を摂取すると、腹腔内脂肪組織の、特に後腹壁脂肪組織が蓄積され、肝臓の肥大と脂肪肝が誘発されることが認め

られた。一方、小麦ふすまにはこれらを改善する効果はみられなかったが、排便を促進する効果を確認することができた。学生達は、国民病ともいえる生活習慣病に象徴されるように、栄養と健康には密接な関係のあることを学んだ。また、食事は様々な食品を偏ることなく摂ることで、栄養学的な相乗効果や相加効果を発揮することを考える契機にもなった。最終講ではまとめをプレゼンテーションし、ディスカッションを行い、教員が解説を行った。動物実験を通じて得られたデータを基に肥満や食物センイの生理作用について調べることに加え、栄養士、栄養教諭として各自の地域貢献のあり方についても考えさせた。また、本実験では学生達が飼料作製を行い、ラット搬入後 21 日間（馴化期間を含むと 25 日間）毎日飼育し、成長過程の観察を行ったことから、動物愛護の精神と生命をいただいて学んでいるといった感謝を持って学ぶ姿勢がみられた。今後は限られた学生実験予算の中でできるだけ高い教育効果を上げるため、実験のデザインや測定項目などをさらに吟味する必要があると考えられた。

本実験で使用した小動物用手術・解剖台を作製してくださいました琉球大学教育学部福田英昭先生に心より感謝申し上げます。

文献

1. 沖縄県福祉保健部国民健康保険課 (2013) 沖縄県医療費適正化計画実績評価, p 6-8, 沖縄
2. 田仲秀明 (2006) 沖縄クライシス～欧米型生活習慣のツケ～, 沖縄医報, 42, 10.
3. 沖縄県福祉保健部健康増進課 (2014) 健康おきなわ 21 (第 2 次) ～健康・長寿おきなわ復活プラン～, p 1, p 14, p 41, 沖縄
4. 河田照雄, 齊藤昌之, 小川 正 (2008) 肥満と脂肪 エネルギー代謝：メタボリックシンドロームへの戦略, 初版, p13-240, 建帛社, 東京.
5. 厚生労働省健康日本 21 (第二次) 国民の健康の増進の総合的な推進を図るための基本的な方針, http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/dl/kenkounippon21_01.pdf (2012 年 7 月 10 日現在).
6. 桐山修八 (1980) 食物センイの栄養学的効果, 化学と生物, 18, p95-105.
7. Ikeda I, Sugano M (2005) Dietary fiber and lipid metabolism: With special emphasis on dietary fibers in foods for specified health uses in Japan, *Foods Food Ingredients J. Jpn.*, 210, 10.
8. American Institute of Nutrition (1977) Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies, *J. Nutr.*, 107, 1340-1348.
9. Truswell A. S. (1977) Food fibre and blood lipids, *Nutr. Rev.*, 35, 51-54.
10. 印南 敏, 桐山修八 (1995) 改訂新版食物繊維, 初版, p 88, p 107, 第一出版, 東京.
11. 中野昭一, 吉岡利忠, 田中越郎 (2000) 図解生理学, 第 2 版, p 211, 医学書院, 東京.
12. 佐藤和人, 本間 健, 小松龍史 (2016) エッセンシャル臨床栄養学, 第 8 版, p 45, 医歯薬出版, 東京.