

(1) 有色馬鈴しょ機能性評価試験

平成 22 年度馬鈴しょ機能性等分析委託
有色馬鈴しょフレークの機能性（肝機能改善効果）の検証 結果報告

東京家政学院大学 現代生活学部
講師 山崎 薫
麻布大学 獣医学部
講師 鈴木 武人
東京家政学院短期大学
(東京家政学院大学 現代生活学部)
教授 林 一也

【 目 的 】

生理機能性の高いアントシアニン色素を含む有色馬鈴しょから製造したポテトフレークを用い、動物実験による肝障害発症モデルラットによる肝機能障害軽減効果を検討した。

【 材 料 と 方 法 】

実験動物の飼育、投与飼料の調製および実験の方法は以下のように行った。

実験動物： SPF グレード Wistar 系ラット 雄 4 週齢を日本 SLC 株式会社から購入し、5 週齢目でフレーク投与開始、飼育 10 日目の 6 週齢前半で肝障害誘導、肝障害誘導翌日に剖検

肝障害モデル条件： フレーク投与連続 9 日間、12 時間絶食後の最終日の 10 日目に肝障害を誘導（10 日目は通常飼料を給餌）

- ・ ガラクトサミン誘発肝障害モデル（急性肝機能障害）急性ウイルス性肝炎モデル
D-ガラクトサミン塩酸塩（Sigma 社）1000mg/kg を腹腔内投与。
- ・ 四塩化炭素誘発肝障害モデル（急性肝機能障害）急性アルコール性肝炎モデル
四塩化炭素（和光純薬）0.5ml/kg を皮下投与して急性肝障害誘発。

投与サンプル： フレーク投与条件 0.24 g / 100 g B.W / day。試験期間の間、懸濁した各種馬鈴しょフレークを経口投与した。供与量は、一般的にヒトが可食する分量を加味して設定した。フレーク 1.2 g に対し、5ml の蒸留水で供与飼料を調製した。

- ・ ノーザンルビー（紅） - 1 群、 - 1 群
- ・ キタムラサキ（紫） - 2 群、 - 2 群
- ・ トヨシロ（白） - 3 群、 - 3 群
- ・ 無投与（Positive control） 滅菌 0.85% 生理食塩水のみ投与

ラットの飼育環境

- 場所 : 麻布大学 生物研 温度 23 ± 2 、湿度 $55 \pm 15\%$ 、
水 : 自由給仕 未滅菌水
餌 : 自由摂食 未滅菌餌 一般飼料 (固形飼料: CE-2 日本クレア株式会社)
床敷 : ホワイトフレーク
ケージ: 3~4 匹飼い
* ... 馴知期間、7 日間

フレーク投与期間 (連続 10 日間: 定時投与 午前 8 時)

- 実験 . ガラクトサミン誘発肝障害モデル
実験 . 四塩化炭素誘発肝障害モデル

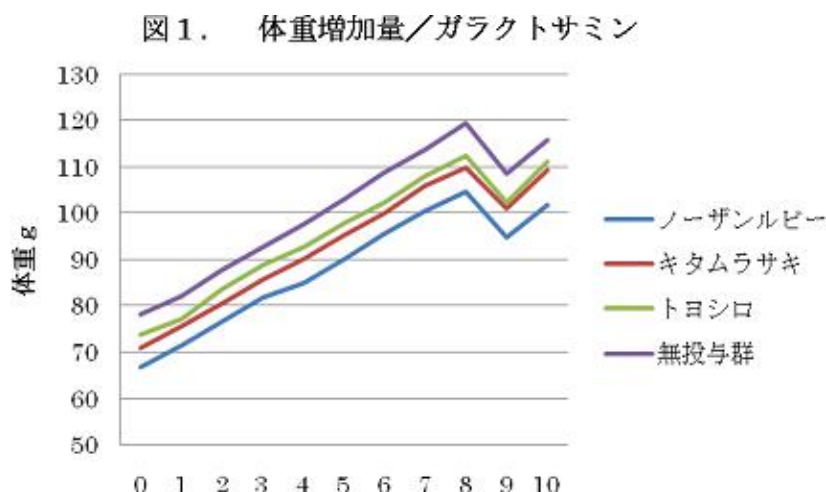
体重測定: フレーク投与開始前に群分けし、投与量算定と生育度合推移確認のため、剖検当日まで連日、体重を測定。

剖検: イソフロラン麻酔下で採血し、麻酔薬の過剰投与による安楽死後に肝臓を摘出。

血清生化学分析 LDH、AST (GOT)、ALT (GPT) 分析: 採血後の血液を遠心分離し、血清中の乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) 活性、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) [GOT] 活性、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) [GPT] 活性を測定した。測定には酵素法 / LDH (乳酸脱水素酵素)、AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)、ALT (アラニンアミノトランスフェラーゼ) を用いた自動分析装置で測定した。血清の生化学値の単位は、U/l で表した。

【 結 果 】

実験 . ガラクトサミン誘発肝障害モデル 各馬鈴しょフレーク投与群の体重増加量を図 1 に示した。



* 横軸飼育日数

無投与群の体重増加がやや高く、それと比較すると各馬鈴しょフレーク投与群の体重増加は少ない。

各馬鈴しょフレーク投与群のガラクトサミン誘発肝障害の結果を表 1 に示した。

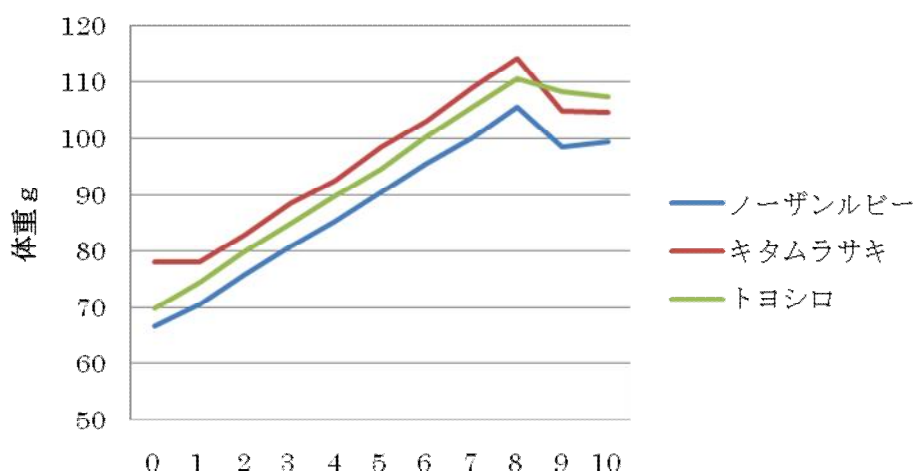
表 1 各馬鈴しょフレーク投与群のガラクトサミン誘発肝障害

サンプル	LDH	AST(GOT)	ALT(GPT)
ノーザンルビー	601.3	849.0	778.0
キタムラサキ	671.3	890.8	651.3
トヨシロ	470.3	581.8	425.8
無投与群	344.7	842.0	628.0

トヨシロフレーク投与群は、AST、ALT の数値を無投与群に対して有意に下げていた。しかし、有色馬鈴しょフレーク投与群には有意差が認められなかった。

実験 ．四塩化炭素誘発肝障害モデル 各馬鈴しょフレーク投与群の体重増加量を図 2 に示した。

図 2. 体重増加量／四塩化炭素



* 横軸飼育日数

各馬鈴しょフレークで体重増加に顕著な有意差は認められなかった。

各馬鈴しょフレーク投与群の四塩化炭素誘発肝障害の結果を表 2 に示した。

表2 各馬鈴しょフレーク投与群の四塩化炭素誘発肝障害

サンプル	LDH	AST(GOT)	ALT(GPT)
ノーザンルビー	22902.5	12148.3	5921.0
キタムラサキ	22488.8	13534.0	6171.0
トヨシロ	10516.6	7446.2	4256.0
無投与群	21799.0	10810.0	6448.7

無投与群と有色馬鈴しょフレークには有意差が認められなかった。しかし、トヨシロ投与群に対してはLDH、AST、ALTの数値をコントロール群に対して有意に下げていた。LDHにおいては1%の危険率で、ASTにおいては5%の危険率で、ALTにおいては5%危険率で四塩化炭素誘発肝障害の誘導阻害に有意差が認められた。

表3に有色馬鈴しょフレークの色素量を示した。色素量は従来の方法を用いてHPLC法で測定した。

表3 . フレーク製品のアントシアニン色素含有量

	色素量(mg/100g 製品)
ノーザンルビー	468
キタムラサキ	435
インカレッド(比較)	433
インカパープル(比較)	349

【 考 察 】

ガタラクトサミン誘発肝障害モデルでは、傷害モデルの再現性に不安定な要素があり、四塩化炭素誘発肝障害モデル作製よりも難しい傾向にある。このため、結果が得られなかった可能性が考えられた。

四塩化炭素誘発傷害モデルでは、糖質に肝障害改善の報告があり、通常の馬鈴しょ(白)の糖質が他の有色馬鈴しょの糖質含量よりも生体内の代謝に活用されやすかった可能性がある。

ガラクトサミン投与による肝障害モデルは若齢のみ誘導がかかり、週齢が上がると誘導がかかりにくくなるため、四塩化炭素による肝障害誘導も今回の実験では週齢を併せて若齢で供試した。

しかし、四塩化炭素誘導によるモデル動物を使用した肝障害改善の参考文献ではモデルラットの週齢が大きいものが使用されており、今回、若齢の設定のため、結果が得にくかった可能性も考えられた。さらに、今回の投与は通常食事として摂取する量を基準として検討を行ったものであるが、従来試験では効果の出る量のアントシアニン色素を投与しているものである。今回の投与量からするとノーザンルビーフレークで、体重 100g のラットに 1.1mg アントシアニン色素 / 日、キタムラサキフレークで 1.0 mg アントシアニン色素 / 日となる。通常のラットであれば、平均 20-25g / 日の飼料を摂取している。広く行われている肝障害試験では飼料に対して 0.15%以上のアントシアニン色素を添加しており、色素量としては 35mg / 日となる。

今後は色素量の検討、実験開始対象モデルラットの週齢を上げること、また、体内摂取の確実性を得るためにゾンデによる経口フレーク投与を行ったが、粉餌を調整し、糖質の一部をフレークに置き換えた実験に設定する必要もあると考えている。