

しじみ由来トリペプチド Acorbin の肝障害に及ぼす影響

森永八江¹⁾、松江一¹⁾、内沢秀光²⁾、白川和浩³⁾

1) 青森県立保健大学、2) 青森県産業技術センター、3) 株式会社福島商店

Key Words ①しじみ ②アコルビン ③アルコール性肝障害

I. はじめに

しじみは古来から肝臓に良いとされ、多くの人々から食されてきた。研究分担者である内沢らはしじみのペプチド抽出液から新規トリペプチド β Ala-Orn-Orn を見出し、アコルビン(Acorbin)と名付けた。このアコルビンがある酵素の安定性に関与していることを報告したが^{1,2)}、アコルビンのアルコール性肝障害に関する報告はまだない。

II. 目的

アコルビンのアルコール性肝障害に及ぼす影響を検討することを目的とした。

III. 研究方法

5 週齢の Wister 系雄性ラット(日本チャールス・リバー株式会社)を 25 匹使用した。体重によりコントロール群(6 匹)、アルコール群(7 匹)、アルコール+しじみ抽出物(11.51mg/ml/day)群(6 匹)、アルコール+アコルビン(0.025mol/100ml)群(6 匹)に群分けした。Lieber-DeCarli diets³⁾ で 6 週間 pair-feeding を行った。屠殺 17 時間前に絶食し、エーテル麻酔下で屠殺し、血漿、肝臓および腎臓を採取した。

血漿中の ALT、AST、ALP、LDH、 γ -GTP、総コレステロールおよびトリグリセリドを測定した。肝臓脂質の抽出は Folch 法により行い、肝臓コレステロール、トリグリセリドおよび MDA (Malondialdehyde) を測定した。血漿の遊離アミノ酸は、アミノ酸分析機(日本電子、JLC-500/V)を用いて定量した。

各測定項目の値は平均値と標準偏差(SD)で表した。群間比較については一元配置分散分析を行い、危険率 5%未満の場合を有意差ありと判定した。

IV. 結果および考察

体重はコントロール群と他 3 群で有意な差が見られた(表 1)。アルコールは他の栄養素と異なり、代謝が速く熱として発散されることが知られている。そのためエネルギー摂取が同程度であっても、エネルギーが生体に蓄積されず、アルコールを摂取した 3 群はコントロール群に比べて、有意な体重の減少が見られたと考えられた。

肝臓重量および体重に対する肝臓重量の割合は、コントロール群に比べてアルコールを摂取した 3 群で有意な増加が見られた。これはアルコールを摂取した 3 群では肝脂肪の蓄積や肝障害による肝肥大の可能性が示唆された。

ALT および ALP は、コントロール群に比べてアルコール群で有意な増加が見られたが、アルコール+しじみ群とアルコール+アコルビン群は、コントロール群と比較し有意な差は見られなかった(表 1)。このことから、アルコール+しじみ群とアルコール+アコルビン群は、アルコール群に比べて肝障害が抑制されている可能性が考えられた。血漿中のトリグリセリドはコントロール群に比べて、アルコールを摂取した 3 群で有意な低下が見られた。このトリグリセリドの低下はアルコール摂取によるものと考えられた。

肝臓コレステロールおよびトリグリセリドは4群間で有意な差があるとは言えなかった(表1)。このことから、アルコールを摂取した3群で肝臓に脂肪が蓄積されるほど重篤な肝障害は起きなかった可能性が考えられた。MDAは4群間で有意な差があるとは言えなかった(表1)。

表1 動物試験の結果

| 測定項目 | 群 | | | アルコール | | | アルコール+しじみ | | | アルコール+アコルビン | | | |
|-------------|-------|-------------------|----|-------|-------------------|----|-----------|-------------------|----|-------------|-------------------|----|------|
| | 平均 | ± | SE | 平均 | ± | SE | 平均 | ± | SE | 平均 | ± | SE | |
| 体重 | g | 447 ^a | ± | 15.2 | 410 ^b | ± | 33.5 | 401 ^b | ± | 19.0 | 394 ^b | ± | 12.0 |
| 肝臓重量 | g | 11.1 ^a | ± | 0.8 | 13.8 ^b | ± | 1.0 | 13.7 ^b | ± | 0.8 | 13.6 ^b | ± | 0.8 |
| 体重に対する肝臓の割合 | % | 2.49 ^a | ± | 0.15 | 3.37 ^b | ± | 0.28 | 3.43 ^b | ± | 0.23 | 3.46 ^b | ± | 0.27 |
| 腎臓 | g | 2.49 | ± | 0.19 | 2.67 | ± | 0.23 | 2.61 | ± | 0.16 | 2.51 | ± | 0.18 |
| ALT | U/L | 17 ^a | ± | 4 | 101 ^b | ± | 83 | 54 | ± | 23 | 88 | ± | 48 |
| AST | U/L | 64 ^a | ± | 26 | 258 | ± | 131 | 148 | ± | 34 | 380 ^b | ± | 257 |
| LDH | U/L | 150 | ± | 96 | 382 | ± | 162 | 264 | ± | 144 | 407 | ± | 209 |
| ALP | U/L | 345 ^a | ± | 73 | 491 ^b | ± | 108 | 436 | ± | 114 | 456 | ± | 61 |
| γ-GTP | U/L | 4.67 | ± | 1.63 | 4.71 | ± | 1.11 | 4.33 | ± | 1.37 | 4.67 | ± | 3.83 |
| 血液トリグリセリド | mg/dl | 102 ^a | ± | 24.6 | 63 ^b | ± | 9 | 68 ^b | ± | 16 | 49 ^b | ± | 15 |
| 血液コレステロール | mg/dl | 41.1 | ± | 10.7 | 44.9 | ± | 14.3 | 58.4 | ± | 9.2 | 38.8 | ± | 18.6 |
| 肝臓トリグリセリド | mg/g | 8.3 | ± | 3.4 | 10.9 | ± | 6.9 | 15.2 | ± | 8.0 | 16.8 | ± | 10.7 |
| 肝臓コレステロール | mg/g | 1.54 | ± | 0.43 | 1.76 | ± | 0.77 | 2.13 | ± | 0.73 | 2.38 | ± | 1.15 |
| MDA | | 18.5 | ± | 3.7 | 27.8 | ± | 20.1 | 25.0 | ± | 6.5 | 18.6 | ± | 2.3 |

*one-way ANOVA. 異なるアルファベット間で有意差あり

しかし、アルコール+アコルビン群では、アルコールによるMDAの上昇の抑制傾向が見られたことから、アコルビンにはアルコールによるMDAの上昇を抑制する可能性が考えられた。

生体内の遊離アミノ酸は、セリン(Ser)、1-メチルヒスチジン(1M-His)およびアルギニン(Arg)がコントロール群に比べてアルコール+アコルビン群で有意な低値を示した(表2)。これらの結果から、アコルビンの摂取により生体内の遊離アミノ酸の変化が起きたことが示唆された。

また、肝障害の指標としてFisher比およびQingwel比を用いた。Fisher比は、肝硬変の進行により値の低下がみられ、Qingwel比は肝臓の線維化の進行により値が上昇することが報告されている⁴⁾。表2より4群間における

表2 血液中のアミノ酸組成

| 群 | コントロール | | | アルコール | | | アルコール+しじみ | | | アルコール+アコルビン | | |
|----------|-------------------|---|-----|-------------------|---|-----|-------------------|---|-----|-------------------|---|------|
| | 平均 | ± | SD |
| Ser | 69.3 ^a | ± | 9.3 | 58.1 ^b | ± | 5.6 | 55.5 ^b | ± | 4.3 | 46.1 ^b | ± | 22.5 |
| 1M-His | 2.0 ^a | ± | 0.5 | 1.6 ^b | ± | 0.4 | 1.5 ^b | ± | 0.8 | 0.9 ^b | ± | 0.9 |
| Arg | 29.6 ^a | ± | 5.4 | 21.1 ^b | ± | 5.2 | 22.6 ^b | ± | 4.0 | 18.6 ^b | ± | 10.9 |
| Fisher比 | 2.5 | ± | 0.2 | 2.3 | ± | 0.2 | 2.5 | ± | 0.5 | 2.5 | ± | 0.5 |
| Qingwel比 | 26.2 | ± | 1.5 | 26.6 | ± | 2.1 | 28.2 | ± | 3.3 | 22.0 | ± | 10.6 |

*one-way ANOVA. 異なるアルファベット間で有意差あり

Fisher比およびQingwel比の値に有意な差があるとは言えなかった。本研究では、臓器重量および血液検査から肝障害が生じていると示唆されたが、病理組織学的な評価をしなかったため、重度の肝硬変や肝繊維化に至っていないと考えられる。このことから、Fisher比やQingwel比に反映されなかったと考える。

今回の結果は、いずれの測定項目からもアコルビンによる肝障害への明確な抑制効果は見られなかった。しかしながら、アルコール群とアルコール+しじみ群およびアルコール+アコルビン群を比較すると、肝障害の抑制傾向がみられた測定項目もあったが、この抑制効果はたしてアコルビンによるものなのかどうかは断定できない。また、アコルビンによって肝障害の抑制傾向が見られるのか、あるいは、アコルビンを含む複数のアミノ酸で肝障害の抑制傾向が見られるのかどうかの判断は、今回の研究のみではできない。本研究では、アルコール性肝障害ラット作成の過程の中で、試料の添加を行ったため、すでにアルコール性肝障害を有している動物に対してのアコルビンの生理作用は明らかにはできない。したがって、今後は、アコルビンの投与量、投与時期、あるいは投与方法について改めて検討する必要があると考えられた。

V. 文献

- 1) 内沢秀光、奈良岡哲志. :特開 2007-57246.
- 2) Uchisawa H, Naraoka T, Ono T; A novel ornithine-containing tripeptide isolated from the extract of the brackish-water bivalve *Corbicula japonica*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1770, 790-796, 2007.
- 3) Lieber, C.S. & L.M. DeCarli : Liquid diet technique of ethanol administration: 1989 update.
- 4) Zhang Q. *et al.*: Plasma amino acid profiles applied for diagnosis of advanced liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatol Res.* 2006 Mar; 34(3):170-7. Epub 2006 Jan 24.

VII. 発表 (誌上発表、学会発表)

2012年度青森県保健医療福祉研究発表会で発表予定。