

大腸腺腫発症モデルマウスにおける食餌性 ナガイモおよびナガイモ入り青汁の効果

木下幹朗[§], 柚木恵太, 得字圭彦, 川原美香*,
大庭 潔*, 弘中和憲, 大西正男

帯広畜産大学畜産学部畜産科学科
*北海道立十勝圏地域食品加工技術センター

Effect of Dietary Chinese Yam (*D. opposita* Thunb.)
and Leaf Juice (Aojiru) on Aberrant Crypt Foci
Formation in 1, 2-Dimethylhydrazine-treated Mice

Mikio Kinoshita[§], Keita Yunoki, Yoshihiko Tokuji,
Mika Kawahara*, Kiyoshi Ohba*, Kazunori Hironaka
and Masao Ohnishi

Department of Agricultural and Life Science, Obihiro
University of Agriculture and Veterinary
Medicine, Obihiro, Hokkaido 080-8555
*Hokkaido Tokachi Regional Food Processing
Technology Center, Obihiro, Hokkaido 080-2462

The dietary effects of Chinese yam, nagaimo (*Dioscorea opposita* Thunb.), on 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced aberrant crypt foci (ACF) formation in the large intestine of mice were investigated and compared with those of other potato species. Potato consumption was found to significantly suppress ACF formation in the large intestines of all mice treated with DMH. Suppression of ACF formation was most remarkable in the nagaimo group. Moreover, the commercial product (aojiru) containing nagaimo powder also suppressed ACF formation.

(Received Jun. 30, 2008 ; Accepted Oct. 14, 2008)

Keywords : Chinese yam (nagaimo), aberrant crypt foci, colon cancer, 1,2-dimethylhydrazine, leaf juice (aojiru)

キーワード : ナガイモ, 大腸腺腫, 大腸ガン, 1,2-ジメチルヒドラジン, 青汁

前報¹⁾において我々は、食餌性ナガイモ (*D. opposita* THUNB)²⁾ の 1,2-ジメチルヒドラジン (DMH) による大腸腺腫 (aberrant crypt foci (ACF)) 発症抑制効果を報告した。この研究で、ナガイモの加熱処理によっても効果が維持されることより、ナガイモの機能性食品原料としての可能性を提示した。しかしながら、この機能はナガイモ独自の機能かという疑問点は残り、少なくとも他のイモ類との比較が必要である。また、現在の日本人のライフスタイルの変化、特に単身者等の増加を考えると、今後、調理済み食品や簡易な操作で摂取可能な食品を摂取して健康を維

持する方策を見いだすことが重要になる。すなわち、食材としての機能性はもちろん大事であるが、簡易に摂取出来る製品を開発し、そのモデルでの機能性の評価も重要となる。

今回筆者らは 1,2-ジメチルヒドラジン投与マウスにおける大腸腺腫 (ACF) 発症に与えるナガイモの効果、他のイモ類 (ジャガイモおよびサツマイモ) と比較するとともに、ナガイモ粉末を利用した、商品モデル (ナガイモ入り青汁) を用いて検討した。

1. 実験方法

(1) 飼料用ナガイモ等の調製

以下にイモ等の加工方法を記す。

ナガイモ粉：ナガイモ (北海道, 平成 18 年産, 100 kg) を洗浄した後に表皮を剥離し、すりおろし、レトルト殺菌機 (100℃で 80 分) で加熱 (中心温度 95~98℃で 25 分)、凍結乾燥および粉碎処理を行って加熱ナガイモ粉を作製した。

ジャガイモ粉：ジャガイモ (北海道, 平成 18 年産品種, ダンシャク, 15 kg) を洗浄した後に表皮を剥離し、1 cm 程度に切断、レトルト殺菌機 (100℃で 80 分) で加熱 (中心温度 95~98℃で 25 分)、凍結乾燥および粉碎処理を行って加熱ジャガイモ粉を作製した。

サツマイモ粉：サツマイモ (茨城県, 平成 18 年産, 品種, ベニアズマ, 10 kg) を洗浄した後に表皮を剥離し、1 cm 程度に切断、レトルト殺菌機 (100℃で 80 分) で加熱 (中心温度 95~98℃で 25 分)、凍結乾燥および粉碎処理を行って加熱サツマイモ粉を作製した。

ダイズ未熟種子 (枝豆)：塩無添加のボイル後冷凍市販品 (品種, サヤムスメとサッポロミドリ) の混合品 (北海道, 平成 18 年産) について凍結乾燥および粉碎処理を行って粉末枝豆を作製した。

チャ葉粉末 (抹茶)：香岳園製茶 (株) (京都府) より購入した。

小麦葉 (小麦若葉)：小麦若葉 ((有)ランランファーム圃場 (北海道) で栽培・収穫, 北海道, 平成 19 年産) を洗浄・塩素殺菌した後、温風乾燥、飽和蒸気殺菌後粉碎し、小麦若葉粉末を作製した。

(2) *in vivo* における大腸腺腫の発症抑制試験

i) 実験動物ならびに試験飼料

動物実験を行うに当たり、帯広畜産大学動物実験指針に則り、実験方法等について本学動物実験委員会の承認を受けた上で動物実験を開始した。

4 週齢の BALB/c 雄マウス ((株)日本クレア) 60 匹 (1 群当たり 10 匹) ならびにナガイモ入り青汁の組成を予備検討するため 4 匹, 合計 64 匹を用いた¹⁾。また、マウスは購入後、市販固形飼料 (F2, (株)船橋農場) で 1 週間飼育した後、試験飼料に切り替えた。試験飼料は AIN-93G³⁾ の処方に基づいて調製した。すなわち、コントロール群 (AIN-93G 食), ナガイモ投与群 (AIN-93G+ナガイモ粉 (25 g/

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西 2 線

* 〒080-2462 北海道帯広市西二十二条北 2 丁目 23-10

§ 連絡先 (Corresponding author), kinoshita@obihiro.ac.jp

100 g 飼料)), ジャガイモ群 ((AIN-93G+ジャガイモ粉 (24 g/100 g 飼料)), およびサツマイモ群 (AIN-93G+サツマイモ粉 (23 g/100 g 飼料)) の 4 群に分けた。なお、イモ粉末の投与量については、5 訂食品成分表⁴⁾の各イモ類の組成を参考にデンプン含量を算出し、AIN-93G のコーンスターチ部分を調製ナガイモ粉末に置き換え、デンプン (炭水化物) の量を統一した。すなわち、各イモ類の場合 AIN-93G のコーンスターチ部分の 50% を置換したことになる。

商品化モデルとしてのナガイモ入り青汁における評価として、青汁成分として小麦若葉 (1.3 g/100 g 飼料)、枝豆 (1.35 g/100 g 飼料) ならびに抹茶 (0.5 g/100 g 飼料) およびナガイモ (1.35 g/100 g 飼料) を添加した。なおこの組成は (有)ランランファームより提供された処方⁵⁾に準拠した。実験群としては青汁成分のみ加えた青汁群ならびにそれにナガイモを添加したナガイモ入り青汁群で評価した。なお、ナガイモ入り青汁投与群では、ナガイモの添加量がナガイモのみを投与する群と比較して著しく低い。これは、ナガイモの量を増加させると青汁関連素材の量が増加し、嗜好性等の問題よりマウスの摂食量等に影響を及ぼすことが危惧されたため、本試験を行う前に摂食量について 4 匹で試験を予備的に行い (AIN93 食と青汁投与群)、摂食量と体重変化がコントロール群 (AIN-93 食) と差がない摂食量の飼料組成を青汁ならびにナガイモ入り青汁群として採用した。また、食餌、飲水は各群とも自由摂取とした。

ii) 大腸腺腫の測定

試験食投与 (各種イモ類ならびに青汁群) 1 週間後より大腸ガン誘発物質である DMH (1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride) を 30 mg/kg 体重で週 1 回 (合計 8 回) 腹腔内投与した。8 週間試験食で飼育した後、24 時間絶食させてからエーテル麻酔下中枢破壊 (頸椎脱臼処理) により屠殺し、大腸 (虫垂から肛門部まで) を摘出した⁵⁾⁶⁾。摘出した腸管の片側を縫合糸で結紮した後、4% ホルマリンを注入し、大腸の両端を結紮して大腸が膨潤した状態で 1 昼夜固定した。その後、大腸を切り開き、幅と長さを測定した。次いで、0.3% メチレンブルーで染色し、顕微鏡下で ACF 数を計測し⁶⁾、ACF 数は大腸表面積当たりで算出した。なお、大腸腺腫の発症を確認するため、投与開始 5 週間後より、各群 1 匹ずつ各週上記の方法で解剖検鏡し、解剖週 (8 週) を決定した。

iii) 統計処理

統計処理は、一元配置分散分析の後、Scheffe の多重比較検定により行い、危険率 1% 以下を有意差と判定した。また、危険率 10% 以下を傾向を有すると判定した。

2. 実験結果および考察

DMH 投与期間の体重の変化は、コントロール群を含めて各群における有意な体重の変化は認められなかった。

顕微鏡下で ACF の形態¹⁾を示す組織の数を計数し、組織単位面積当たりの ACF の発症率を算出した (Fig. 1)。

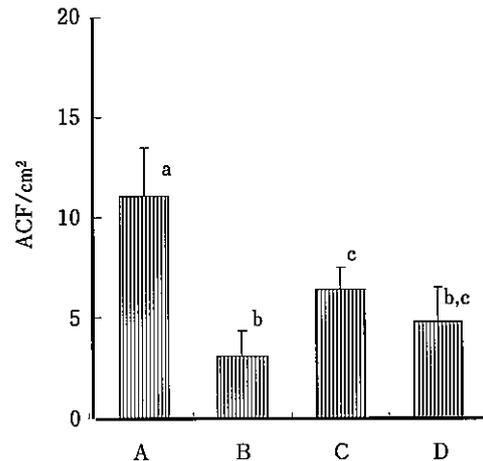


Fig. 1 Effects of dietary Chinese yam on DMH-induced aberrant crypt foci formation in mouse large intestine

A, feeding by AIN-93G ; B, AIN-93G with Yam powder (25% of diet) ; C, AIN-93G with Potato powder (24% of diet) ; D, AIN-93G with Sweet potato powder (23% of diet). Values are means±SD (n=7).

^{a,b,c} Values with different superscript letters in column differ significantly ($P < 0.01$).

その結果、ACF 数の平均値は、コントロール群で大腸 1 cm² 当たり 11.4±2.4 個 (平均値±標準偏差) であった。一方、ジャガイモ粉投与群では 6.1±1.1 個、サツマイモ投与群では 4.8±1.7 個およびナガイモ投与群では 3.0±1.3 個であった。イモ類投与群すべてにおいてコントロール群と比較して有意に大腸腺腫を抑制する効果が認められた。一方、イモ類同士で比較してみると、ジャガイモとナガイモの間では有意にナガイモが大腸腺腫発症を抑制した。また、サツマイモ群とナガイモ群では有意な差は認められなかったが、ナガイモ群で抑制される傾向が見られた ($P=0.09$)。

今回の研究では、イモ類間での大腸腺腫発症抑制効果を比較した。これらイモ類は植物種としては決して近縁ではない (ジャガイモはナス科、サツマイモはヒルガオ科およびナガイモはヤマノイモ科)。しかし我が国において食料として考える場合、イモ類として同一のカテゴリーに入る。今回は、イモ類に含まれる構成成分を分画して行った実験ではないので、生理活性画分の同定はできない。イモ類の主成分はデンプンである (乾燥重量当たり概ね 70-85%⁴⁾)。食物繊維量⁴⁾は、サツマイモが最も高く 6.8% (乾燥重量当たり) で、ジャガイモおよびナガイモは 1% である。貯蔵蛋白質の生重量当たり概ね 1-2% であり、含量に際だった差は認められない。今回の結果について、デンプンや食物繊維の違い (レジスタントスターチ⁷⁾ など) や、貯蔵タンパク質 (ナガイモの場合は Dioscorin⁸⁾) の生理作用、またはその他微量成分や成分間の相乗作用なのかについて今後、各物質レベルでの実験が重要になる。また、各イモ類の品種や栽培方法による異同についても検討する必要がある

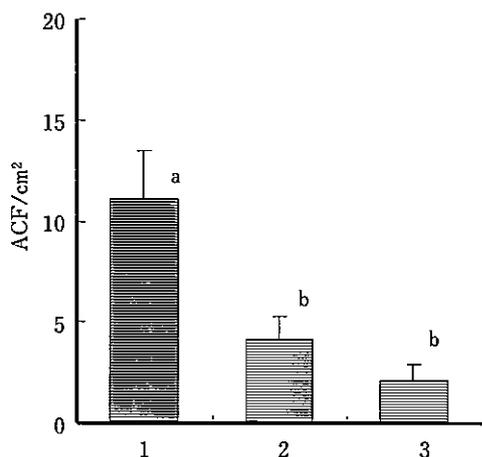


Fig. 2 Effects of commercial product using Chinese yam (Aojiru containing Chinese yam) on DMH-induced aberrant crypt foci formation in mouse large intestine

1, feeding by AIN-93G; 2, AIN-93G with; Aojiru(young wheat leaves, young soybeans and powdered green tea); 3, AIN-93G with Aojiru and yam powder; Values are means \pm S (n=7).

^{a,b} Values with different superscript letters in column differ significantly ($P < 0.01$).

う。

市販モデル(ナガイモ入り青汁)を用いての評価の結果、青汁部分のみ(小麦若葉と枝豆ならびに抹茶)を混合した飼料で飼育した青汁群では 4.1 ± 1.2 個、青汁にナガイモ粉末を加えたナガイモ入り青汁群では 2.1 ± 0.8 個であった(Fig. 2)。すなわち、青汁群ならびにナガイモ入り青汁群においてもコントロール群と比較して有意に強く大腸腺腫を抑制した。これにナガイモを混合したナガイモ入り青汁群では有意な差は認められなかったが、ナガイモ入り青汁群で抑制される傾向が見られた($P = 0.09$)。

また、青汁に混合した枝豆(ダイズ)⁹⁾ならびに抹茶成分¹⁰⁾¹¹⁾においても、DMH投与動物へのACF発症効果が報告されていることより、これらの成分とナガイモとの相乗もしくは相加作用によるものと考えられ、大腸腺腫抑制の意味でもナガイモ入り青汁は機能性食品として有効であると考えられる。

以上の結果より、食餌性ナガイモの大腸腺腫発症抑制効果は他のイモ類と比べて高かった。また、市販モデル(ナガイモ入り青汁)の場合でも大腸腺腫発症抑制効果が認められた。

3. 要約

食餌性ナガイモの大腸腺腫発症に与える効果を他のイモ類と比較しつつ、1, 2-ジメチルヒドラジン投与マウスを用いて調べるとともに、ナガイモを利用した商品モデル(ナ

ガイモ入り青汁)の効果についても検証した。その結果、ナガイモ以外のイモ類においても上記の実験動物モデルにおいて大腸腺腫抑制効果が観察されたが、腺腫数の平均はナガイモ群が一番低かった。また、商品モデルであるナガイモ入り青汁についても腺腫抑制効果が観察された。

本研究は文部科学省都市エリア産学官連携促進事業「十勝エリア」(機能性を重視した十勝農畜産物の高付加価値化に関する技術開発)の研究課題の一部として行われた。

文 献

- 1) 木下幹朗, 柚木恵太, 得字圭彦, 川原美香, 大庭 潔, 弘中和憲, 大西正男, 1,2-ジメチルヒドラジン投与マウスにおける大腸腺腫発症に与える食餌性ナガイモの効果, 食科工, 55, 270-275 (2008).
- 2) 佐藤一郎, 野菜園芸大百科, 第2版「サトイモ, ナガイモ, レンコン, ウド, フキ, ミョウガ」, (農文協, 東京), pp 63-78 (2004).
- 3) Reeves, P. G., Nielsen, F. H. and Fahey, G.C., Jr., AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123, 1939-1951 (1993).
- 4) 科学技術庁資源調査会編「5訂食品成分表」, (女子栄養大学編集部, 東京) pp. 44-45 (2001).
- 5) Mcllellan, E. and Bird, R.P., Effect of Disulfiram on 1,2-dimethylhydrazine-induced and azoxymethane-induced aberrant crypt foci. *Carcinogenesis*, 12, 969-972 (1991).
- 6) Aida, K., Kinoshita, M., Tanji, M., Sugawara, T., Tamura, M., Ono, J., Ueno, N. and Ohnishi, M., Prevention of aberrant crypt foci formation by dietary Maize and yeast cerebrosides in 1,2-dimethylhydrazine-treated Mice. *J. Oleo Sci.*, 54, 45-49 (2005).
- 7) Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S.S. and Webb, C., Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *Int J Food Microbiol*, 79, 131-141 (2002).
- 8) Shewry, P.R., Tuber storage proteins. *Ann Bot (Lond)*, 91, 755-769 (2003).
- 9) Weed, H.G., McGandy, R.B. and Kennedy, A.R., Protection against dimethylhydrazine-induced adenomatous tumors of the mouse colon by the dietary addition of an extract of soybeans containing the Bowman-Birk protease inhibitor. *Carcinogenesis*, 6, 1239-1241 (1985).
- 10) Inagake, M., Yamane, T., Kitao, Y., Oya, K., Matsumoto, H., Kikuoka, N., Nakatani, H., Takahashi, T., Nishimura, H. and Iwashima, A., Inhibition of 1,2-dimethylhydrazine-induced oxidative DNA damage by green tea extract in rat. *Jpn J Cancer Res*, 86, 1106-1111 (1995).
- 11) Yin, P., Zhao, J., Cheng, S., Zhu, Q., Liu, Z. and Zhengguo, L., Experimental studies of the inhibitory effects of green tea catechin on mice large intestinal cancers induced by 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Lett*, 79, 33-38 (1994).

(平成20年6月30日受付, 平成20年10月14日受理)