

乳酸菌生産物質 (A6、D6) のラットを用いた栄養生理学的評価試験

■試験の目的

成長期の正常雄性ラットを使用し、体重増加、飼料摂取量、糞量、臓器重量、血清値等生化学検査値を詳細に観察することにより、乳酸菌生産物質の安全性を含む、栄養生理学的特性の把握を行った。

■実施機関 城西国際大学薬学部

■ラット飼育試験

1. 方法

乳酸菌生産物質 (A6, D6) 配合精製飼料の設計は、以下のように行った。本栄養試験に用いる粉末精製飼料に乳酸菌生産物質を均一に配合するためには、乳酸菌生産物質を粉末化する必要がある。本試験では、凍結乾燥機を用いて粉末化を行った。固形分含有量は、A6 が 5.1%、D6 が 10.7%であった。ラットは、精製飼料を 1 日に 20~25g 摂取する。従来の乳酸菌生産物質に関する試験における乳酸菌生産物質の投与量を参考に、約 3ml/ラットとなるよう AIN-93G 精製飼料に配合した。

試験では、7 週齢の雄性 Wistar Han ラット 28 個体を被験動物とした。試験群は、①対照食群 (C)、②乳酸菌生産物質 A6 群 (A)、③乳酸菌生産物質 D6 低用量群 (DL)、④乳酸菌生産物質 D6 高用量群 (DH) の 4 群とし、各群に 7 個体のラットを平均体重に差が無いように割り付けた。試験飼料による飼育は、28 日間行い、体重及び飼料摂取量の測定は、ほぼ 2 日毎に行った。飼育開始 9 日目より 5 日間と、24 日目より 5 日間を出納期間とし、期間中の糞及び尿を全量採取した。糞については、70℃に設定した電気炉内で 6 時間乾燥し、乾燥重量を測定した。

また、飼育開始 17 日目には、朝 9 時より 4 時間の絶食を行った後、尾採血を行いワンタッチウルトラ (J&J 社) で血糖値を測定した。飼育開始 17 日目には 14 日目と同様な方法で、28 日目には非絶食下で朝 9 時にそれぞれ血糖値を測定した。

試験最終日には、ラットをエーテル麻酔化で開腹し、下大静脈より全血採血を行い屠殺した。血液は血清を分離し、36 項目について生化学検査を行った。また、解剖時に主要 9 臓器 (肝臓、腎臓、副腎、脾臓、盲腸、精巣、心臓、副睾丸周囲脂肪及び後腹壁脂肪) を摘出し、病的所見を観察するとともに重量測定を行った。

2. 結果と考察

試験結果は、平均値±標準偏差で示し、統計的有意差は一元配置分散分析により検定した。

a. 体重変動

AIN-93G 飼料で飼育したラット (C 群) は、最大成長を示すが、他の 3 群においてもラットの体重増加は C 群と差が無く最大成長を示した。体重増加量は、飼育期間中に徐々に低下する傾向が見られるが、これは成長に伴う一般的なものであり、群間に差はなかった。飼料摂取量についても群間に差はなく、飼料に対する乳酸菌生産物質添加は、飼料摂取量に対して影響を与えなかった。結果的に飼育期間中の体重増加量は約 150g であったので、飼料効率は約 0.32

となり、群間に差はなかった。

以上のように、AIN-93G 飼料に対する乳酸菌生産物質の添加は、栄養的に完全な組成を持ち、ラットを最大成長させる AIN-93G 飼料の栄養効率には全く影響を及ぼさなかったことから、乳酸菌生産物質には少なくとも栄養的にマイナスの影響をもたらす成分が含まれていないと考えられる。

b. 臓器重量

肉眼的観察においては、いずれの群のラットにおいても主要臓器に病的所見は認められなかった。また、臓器重量についても群間に差は認められなかった。栄養的な影響が特に顕著に現れる肝臓や、体組成の推定に用いられる後腹壁脂肪や副睾丸周囲脂肪の重量にも、群間に傾向は認められなかった。また、腸内細菌が多量に棲息し、消化管内発酵の変化が顕著に現れる盲腸重量にも群間で差は認められず、消化管内発酵の状況も変化していないものと推定された。この点からも乳酸菌生産物質が栄養的に全く悪影響を及ぼさないと考えられる。

c. 血糖値

飼育期間中に測定した血糖値については、統計的に有意な差は無いものの、17 日目 (BG1) の測定において C 群に比して DH 群でやや高値を示す傾向が認められた。この現象の再現性を確認すべく 28 日目 (BG3) にも同様な測定を行ったが、この際には群間に全く差が認められなかった。また、24 日目 (BG2) に行った非絶食下での血糖値測定でも群間に差は認められなかった。健全な成長期にあるラットにおいては、乳酸菌生産物質は血糖値に影響を及ぼさないものと考えられる。

d. 血清生化学検査

解剖時に採取した血清を 36 項目にわたる生化学検査に供した。一部の検査項目 (γ -GTP、ALP、LDH、アミラーゼ) において、平均値では DH 群が C 群と差が認められたが、統計的に有意な差ではなく、また、いずれの値も正常範囲での変動であり、乳酸菌生産物質摂取の影響ではないと推定される。血清生化学検査の結果からも、乳酸菌生産物質摂取は少なくとも生体に悪影響をもたらさないとと言える。

3.まとめ

本研究では、ラットに最大成長をもたらし、長期飼育した場合でも栄養上の悪影響が出ないことで定評のある AIN-93G 精製飼料を使用し、乳酸菌生産物質 (A6 及び D6) の栄養生理学的安全性を評価した。その結果、体重増加や飼料効率といった成長に関する項目のみならず、臓器重量や血糖値及び各種血清生化学的検査値など全ての項目において乳酸菌生産物質の影響は認められなかった。この結果は、少なくとも成長期にある正常雄性ラットに対しては、乳酸菌生産物質は栄養生理学的に極めて安全性が高いことを示している。

これまで乳酸菌生産物質は、マウスを用いた亜急性毒性試験においては安全性が確認されていたが、栄養生理学的な悪影響が有るか否かという詳細な検討は行われていなかった。その意味で今回、非常に微妙な生体への影響を検出することができる栄養生理学的試験法によっても、ラットにおいて何ら影響が認められなかったことは、結果的に乳酸菌生産物質のより高い安全性が確認されたと言える。

■資料提供：株式会社光英科学研究所

<http://www.koei-science.com>