

高脂食摂取マウスにおける *Salacia reticulata* の脂質低下作用

芳野恭士*¹、山口真翔¹、齋藤圭祐¹、後藤はるな¹、金高 隆²、古賀邦正³

¹ 沼津工業高等専門学校 物質工学科 (〒410-8501 沼津市大岡 3600)

² 株式会社盛光 (〒411-0931 静岡県駿東郡長泉町東野 50-6)

³ 東海大学 開発工学部 (〒410-0395 沼津市西野 317)

*k-yoshino@numazu-ct.ac.jp

Hypolipidemic Effects of *Salacia reticulata* in ddY Mice Fed High-fat Diet

Kyoji YOSHINO, Manato YAMAGUCHI, Keisuke SAITOH, Haruna GOTO,
Takashi KANETAKA, Kunimasa KOGA

¹ Numazu College of Technology (3600 Ooka, Numazu, Shizuoka 410-8501, Japan)

² Seiko Co., Ltd (50-6 Higashino, Nagaizumi, Shizuoka 411-0931, Japan)

³ Tokai University (317 Nishino, Numazu, Shizuoka 410-0395, Japan)

(Received March 13, 2012; Accepted April 24, 2012)

Abstract

The hypolipidemic effects of the leaves and stems of *Salacia reticulata* in mice fed a high-fat diet were investigated in this study. The diet consisted of 10%(w/w) triglycerides and 5%(w/w) cholesterol with or without 0.5, 1.0, or 3.0%(w/w) powders made from leaves or stems of *S. reticulata* obtained from Sri Lanka. After breeding for 5 days, the dietary administrations of leaves or stems of *S. reticulata* suppressed the increase in the concentrations of triglycerides and total cholesterol in plasma and liver, the concentration of low density lipoprotein-cholesterol in plasma, and the levels of lipid peroxides in plasma and liver in mice fed a high-fat diet. Significant positive correlations were observed among the levels of lipid peroxides and the concentrations of triglycerides in plasma and liver, respectively. The administration of leaves or stems of *S. reticulata* also suppressed the increase of the lipase activity in small intestine of mice fed a high-fat diet. Because of the significant positive correlation between the concentration of triglycerides in plasma and the activity of lipase in small intestine, the inhibitory effects of *S. reticulata* on intestinal lipase could contribute to their hypolipidemic effects. We anticipate that the leaves of *S. reticulata* will prevent obesity and arteriosclerosis in the same manner as the stems do.

Key words: *Salacia reticulata*, Mouse, Lipid absorption, Antioxidant

1. 緒言

高脂血症や高血圧症等の生活習慣病の発症は、肥満によりそのリスクが高まるとされている。日

本において、20歳以上の男性の3人に1人、女性でも5人に1人が肥満であるという報告がある[1]。近年、食生活の欧米化が進み、脂質や糖質を過剰

摂取するようになったことが肥満増加の主な原因と考えられる[2]。高脂血症の予防は、脳卒中、心筋梗塞等の動脈硬化性疾患の発症リスクを低下させることに繋がるため、普段の食事において脂質の吸収を抑制する作用を持つ食品素材の利用が望まれる。

Salacia reticulata は、インド南部やスリランカに自生する Hippocrateaceae 科の多年生のつる性植物であり、これらの国では古典的な民間薬として用いられてきた[3]。スリランカでは、シンハラ語でコタラヒムブツと呼ばれる。*S. reticulata* の幹や根、葉の代表的な保健作用として、糖尿病予防作用が知られている[4,5]。また、その幹や根には、脂質消化酵素であるリパーゼの活性を阻害し、脂質の吸収を抑制する効果があることも報告されている[6]。そこで本研究では、高脂食摂取モデルマウスを用いて、*S. reticulata* の葉および幹の脂質吸収抑制効果を検討した。

2. 実験

2.1 材料および実験動物

S. reticulata の葉および幹の微粉碎物は、盛光社より供与された。その他の試薬については、市販特級品を用いた。マウスは、日本 SLC 社より購入した 4 週齢の雄性 ddY 系マウスを用いた。マウスは 12 時間間隔で照明が点灯・消灯する部屋で飼育し、実験中は水道水と飼料を自由に摂取させた。実験中のマウスの取り扱いは、「沼津工業高等専門学校における動物実験に関する指針」の規定に従った。

2.2 マウスへの高脂食および *S. reticulata* の投与

既報[7]の方法を参考にし、日本クレア社製の CE-2 粉末飼料（マウス飼育繁殖用標準飼料）に、トリグリセリド(TG)としてコーン油（ナカライテスク社）を 10%(w/w)、コレステロール（和光純薬工業社）を 5%(w/w)となるよう添加した飼料を

調製し、高脂食として用いた。何も添加しない飼料を普通食とした。また、高脂食に *S. reticulata* の葉または幹の微粉碎物を 0.5, 1, 3%(w/w)となるよう添加した飼料も作製した。これらの飼料をマウスに自由摂取させて 5 日間飼育した後、ジエチルエーテル麻酔下で血液、肝臓および小腸を採取した。また、飼育前後のマウスの体重変化および飼育中の飼料摂取量についても測定した。マウスは 1 群 4 匹を用いた。

2.3 マウス血漿の生化学的測定

マウスから採取した血液を、4°C、850×g、15 分間遠心分離を行うことで上清の血漿を得た。各マウス群より採取した血漿および肝臓中の TG 濃度、総コレステロール(TC)濃度、低比重リポタンパクコレステロール (LDL-C) 濃度および高比重リポタンパクコレステロール (HDL-C) 濃度を、それぞれ市販臨床キットであるトリグリセライド E-テストワコー（和光純薬工業社、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ・3,5-ジメトキシ-N-エチル-N-(2'-ヒドロキシ-3'-スルホプロピル)-アニリンナトリウム (DAOS) 法)、コレステロール E-テストワコー（和光純薬工業社、コレステロールオキシダーゼ・DAOS 法)、LDL-コレステロール E-テストワコー（和光純薬工業社、選択消去法) および HDL-コレステロール E-テストワコー（和光純薬工業社、リントングステン酸・マグネシウム塩沈殿法) を用いて測定した。また、血漿中の過酸化脂質レベルを、チオバルビツール酸法[8]で測定した。

2.4 マウス肝臓の生化学的測定

マウスから採取した肝臓を、0.8%(w/v)塩化ナトリウム水溶液で灌流した後、0.04M リン酸緩衝液 (pH7.4) を用いて 5%(w/v)ホモジネートを調製した。得られたホモジネートについて、その過酸化脂質レベルを、チオバルビツール酸法[9]で測定した。また、ホモジネート中の脂質を 2 倍容のクロロホルム・メタノール(2 : 1)混液で 3 回抽出した

ものについて、前項と同様の方法で TG 濃度と TC 濃度を測定した。

2. 5 マウス小腸のリパーゼ活性の測定

マウスから採取した小腸に4倍容の0.15 M塩化ナトリウム水溶液を加えてホモジネートを調製した。これを4°C、30,000×gで30分間遠心して、上清の粗酵素液を得た。この粗酵素液中のリパーゼ活性について、市販臨床キットであるリパーゼキット S (DS ファーマバイオメディカル社, 三酪酸ジメルカプロール・5,5'ジチオビス(2-ニトロ安息香酸法)を用いて測定した。

2. 6 統計処理

データは、平均値±標準誤差で表した。実験群間の差については、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) で解析し、次いで Tukey の多重比較法を用いて検定した。相関性については、F 検定を用いた。P<0.05 を統計学的に有意であるとした。

3. 結果および考察

3. 1 高脂食摂取マウスの体重および飼料摂取量に対する *S. reticulata* 投与の影響

高脂食を摂取した群のマウスの体重増加量は、

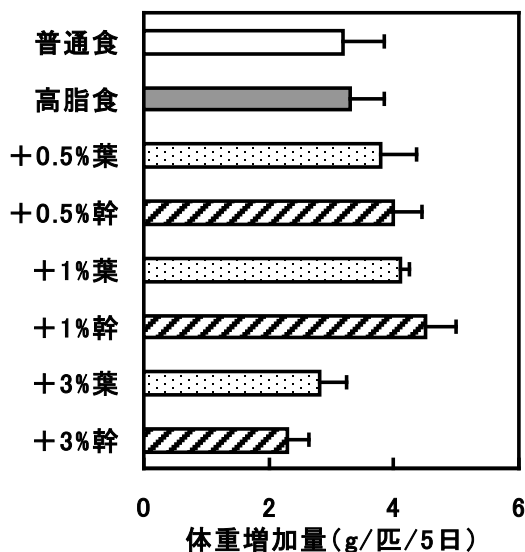


図 1 *Salacia reticulata* 葉および幹の粉砕物の高脂食摂取マウス体重への影響
平均 ± 標準誤差. N=4.

普通食を摂取した群と比較して差が見られなかった (図 1)。これに対し、*S. reticulata* の葉および幹を 0.5 または 1%(w/w)添加した高脂食で飼育した群の体重増加量は高い傾向が見られた。この原因の一つとして、*S. reticulata* の葉や幹を添加したことでマウスの嗜好性が高まったことが予想されるが、5 日間の飼料の摂取量は各群間に明確な差は認められなかった。また、*S. reticulata* の葉および幹を 3%(w/w)添加した高脂食群の体重増加量は、高脂食を摂取した群と比較して低い傾向が見られた。この効果は、葉よりも幹で強かった。

3. 2 高脂食摂取マウスの血中および肝臓中の脂質濃度に対する *S. reticulata* 投与の影響

高脂食を摂取した群のマウスの血漿および肝臓中の TG 濃度は、普通食群と比較して有意に上昇した (図 2)。高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加した群では、その添加量に依存して TG 濃度が低下し、1 および 3%(w/w)の添加食群で、高脂食群と有意な差が見られた。この効果は、葉と比較して幹の方が強い傾向が見られた。

高脂食を摂取した群のマウスの血漿および肝臓中の TC 濃度についても、普通食群と比較して有意な上昇が見られた (図 3)。高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加した群では、その添加量に依存して TC 濃度が低下し、3%(w/w)の添加食群で高脂食群と有意な差が認められた。この効果は、特に肝臓において葉と比較して幹の方が強い傾向が見られた。

TC 濃度の場合と同様、マウス血漿の LDL-C 濃度は、普通食群と比較して高脂食群で有意に上昇した (図 4)。高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加した群では、添加量依存的に血漿 LDL-C 濃度が低下し、3%(w/w)の添加量では葉と幹のいずれにおいても高脂食群との間に有意な差が見られた。

マウス血漿の HDL-C 濃度については、普通食群と高脂食群の間に差は見られなかった (図 4)。

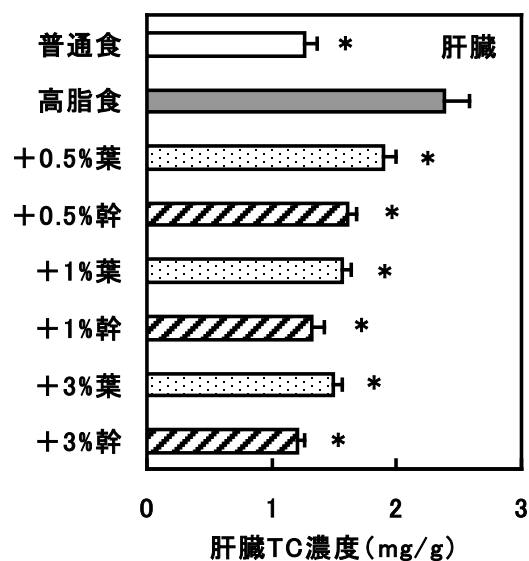
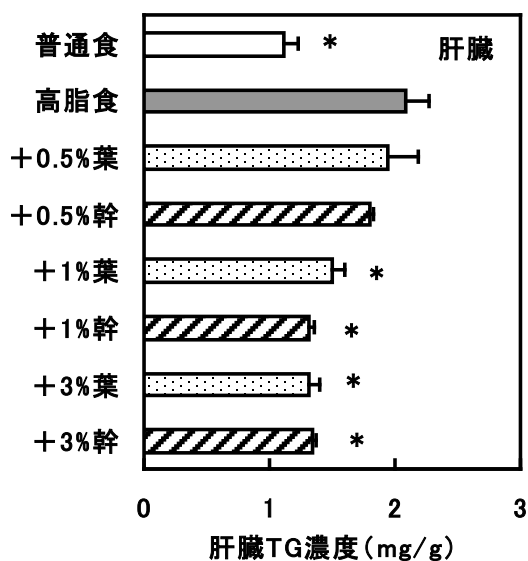
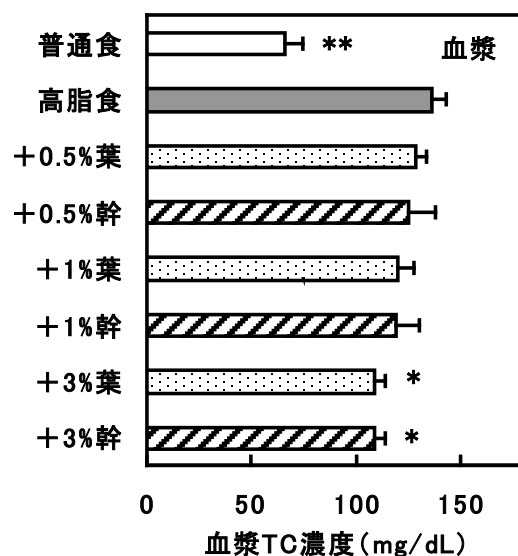
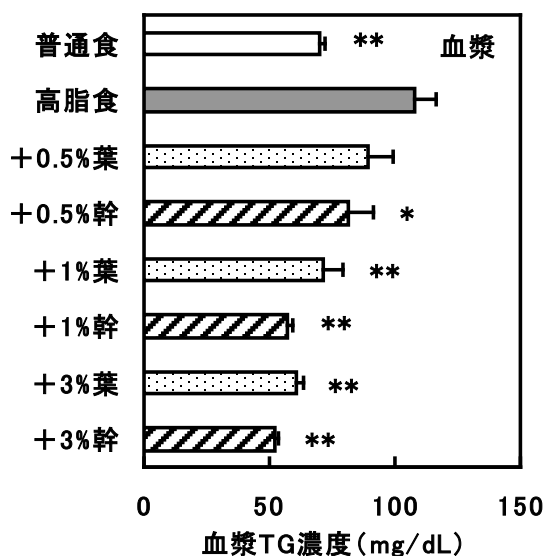


図2 *Salacia reticulata* 葉および幹の粉砕物の高脂食摂取マウス血漿および肝臓トリグリセリド濃度への影響
平均 ± 標準誤差, N=4. 高脂食群との有意差; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

図3 *Salacia reticulata* 葉および幹の粉砕物の高脂食摂取マウス血漿および肝臓総コレステロール濃度への影響
平均 ± 標準誤差, N=4. 高脂食群との有意差; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加した群では、添加量依存的に血漿 HDL-C 濃度が上昇する傾向が見られ、幹の 3% (w/w) 添加群のみで高脂食群との間に有意な差が見られた。しかし、TC 濃度に占める HDL-C 濃度の割合は、高脂食群では普通食群より減少しているものと考えられ、*S. reticulata* を摂取した群では高脂食群比較して上昇したものと考えられる。

3.3 高脂食摂取マウスの小腸中のリパーゼ活性に対する *S. reticulata* 投与の影響

高脂食を摂取したマウスの小腸のリパーゼ活性は、普通食群に比較して有意に上昇した (図 5)。リパーゼは、TG を腸管内でモノグリセリドと脂肪酸に分解する働きを持つ。高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加した群では、添加量依存的に小腸リパーゼ活性が有意に低下した。これらの効

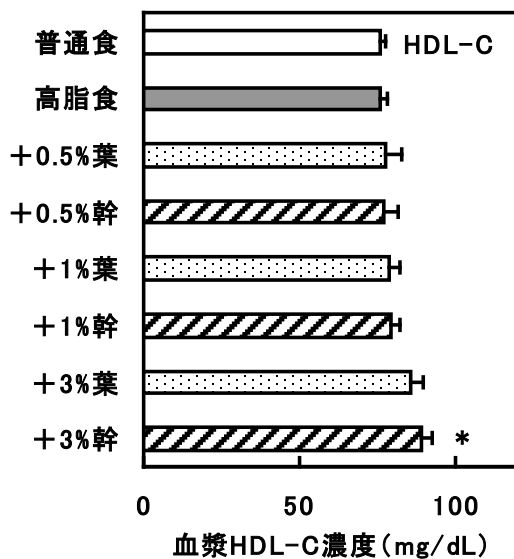
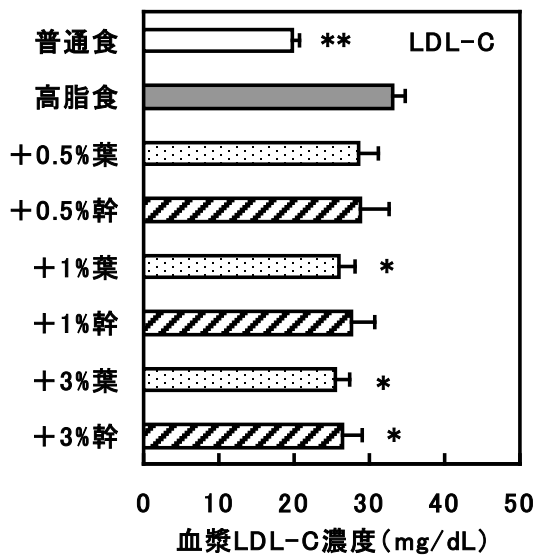


図 4 *Salacia reticulata* 葉および幹の粉砕物の高脂食摂取マウス血漿 LDL-および HDL-コレステロール濃度への影響
平均 ± 標準誤差. N=4. 高脂食群との有意差; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

果は、葉に比較して幹の方が強い傾向が見られた。マウスの小腸リパーゼ活性と血漿 TG 濃度との間には、 $\gamma=0.588$ ($P < 0.01$) の正の有意な相関性が認められた。このことから、*S. reticulata* の試料の摂取による血漿脂質濃度の低下作用は、その小腸リパーゼ活性阻害作用によるものであることが示唆された。

3. 4 高脂食摂取マウスの血中および肝臓中の過

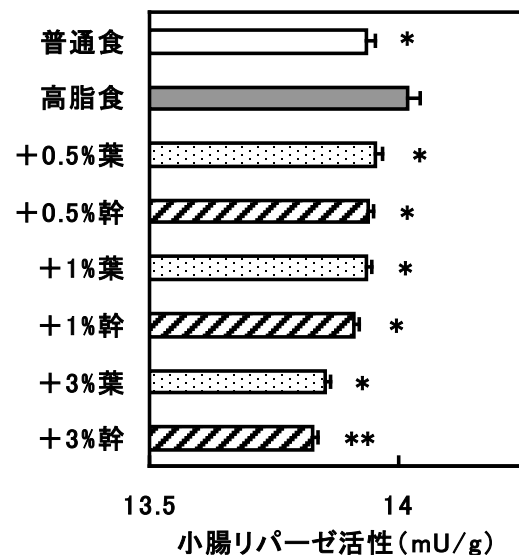


図 5 *Salacia reticulata* 葉および幹の粉砕物の高脂食摂取マウス小腸リパーゼ活性への影響
平均 ± 標準誤差. N=4. 高脂食群との有意差; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

酸化脂質レベルに対する *S. reticulata* 投与の影響

マウス血漿および肝臓中の過酸化脂質レベルは、普通食群に比較して高脂食群で有意に上昇した (図 6)。動物体内に脂質が蓄積すると、その不飽和構造の部分が酸化を受け、過酸化脂質が生成する。過酸化脂質の増加は、動脈硬化[10]や白内障[11]などの老化に伴う退行性病変の成因の一つと考えられている。高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加した群では、添加量依存的に過酸化脂質レベルが低下し、血漿における葉の 1%(w/w)の場合を除き、1 および 3%(w/w)の添加量で葉と幹のいずれにおいても有意な低下が見られた。この効果は、葉に比較して幹の方が強い傾向が見られた。マウスの血漿過酸化脂質レベルとその TG 濃度、肝臓中過酸化脂質レベルとその TG 濃度との間に、それぞれ $\gamma=0.618$ ($P < 0.01$), $\gamma=0.652$ ($P < 0.01$) の正の有意な相関性が認められた。このことから、*S. reticulata* の試料の摂取による血漿および肝臓中の過酸化脂質レベルの低下は、主にその基質で

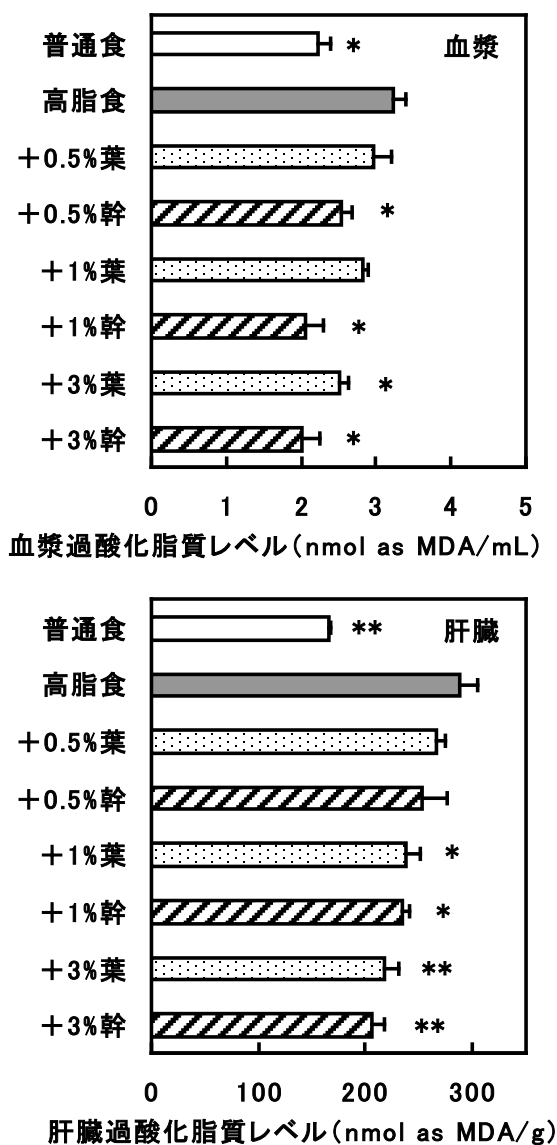


図6 *Salacia reticulata* 葉および幹の粉砕物の高脂食摂取マウス血漿および肝臓過酸化脂質レベルへの影響

平均 ± 標準誤差, N=4. 高脂食群との有意差; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

ある TG 濃度の低下によるものであることが示唆された。

以上の結果から、*S. reticulata* の葉の投与は、幹と同様、高脂食摂取による血漿あるいは肝臓の TG や TC、特に LDL-C の濃度を低下させるとともに、それらの過酸化脂質レベルをも低下させる作用を示すことから、動脈硬化や肝障害の発症を抑制する効果のあることが期待できる。

4. まとめ

高脂食に *S. reticulata* の葉および幹を添加してマウスに摂取させたところ、高脂食のみを摂取した場合に見られた小腸リパーゼ活性の上昇が阻害されるとともに、血漿および肝臓中の TG 濃度の上昇も抑制された。また、血漿と肝臓中の TC 濃度および血漿 LDL-C 濃度の上昇も抑制された。さらに、高脂食摂取による血漿および肝臓中の過酸化脂質レベルの上昇も、*S. reticulata* の摂取により抑制された。

S. reticulata 中のリパーゼ活性阻害成分としては、フラボノイドの一種であるマンギフェリンや (-)-4'-*O*-メチルエピガロカテキン等が知られており [6]、これらが TG の吸収を抑制することで体内の TG 量の上昇が予防されるものと考えられる。一方、コレステロールは、吸収時に直接リパーゼの作用を受けることはないが、TG の吸収が抑制されたことで、小腸から肝臓への脂質輸送体であるキロミクロンの形成が阻害され、結果として体内へのその取り込みが抑制された可能性がある。また、これら脂質の吸収抑制作用は、*S. reticulata* の幹の方が葉よりも効果が強い傾向が見られたことから、葉よりも幹に多く含まれる食物繊維の関与も考えられる [5]。食物繊維には、物理的に脂質を吸着して体外に排出する効果がある [12]。

サラシア属植物の安全性については、長い食経験により裏付けられるだけでなく、科学的にも確認されている [13]。

最近、サラシア属植物には、糖や脂質の吸収を抑制するだけでなく、細胞のエネルギー代謝を高める効果があることが指摘されており [14]、メタボリックシンドロームの予防に対して有効な食品素材として期待できる [15]。

参考文献

- 厚生労働省, 平成 21 年国民栄養調査結果 (2009).

- 2) K. Sato, H. Arai, Y. Miyazawa, M. Fukaya, T. Uebanso, M. Koganei, H. Sasaki, T. Sato, H. Yamamoto, Y. Taketani, E. Takeda, Palatinose and oleic acid act together to prevent pancreatic islet disruption in nondiabetic obese Zucker rats, *J. Med. Invest.*, vol.55, pp.183-195 (2008).
- 3) M. Modak, P. Dixit, J. Londhe, S. Ghaskadbi, T.P.A. Devasagayamet, Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol.40, pp.163-173 (2007).
- 4) 吉川雅之, 薬用植物の糖尿病予防成分 医食同源の観点から, 化学と生物, vol.40, pp.172-178 (2002).
- 5) K. Yoshino, Y. Miyauchi, T. Kanetaka, Y. Takagi, K. Koga, Anti-diabetic activities of leaf extracts prepared from *Salacia reticulata* in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol.73, pp.1096-1104 (2009).
- 6) M. Yoshikawa, H. Shimoda, N. Nishida, M. Takada, H. Matsuda, *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats, *J. Nutr.*, vol.132, pp.1819-1824 (2002).
- 7) T. Suanarunsawat, W. Devakul, N. Ayutthaya, T. Songsak, S. Thirawarapan, S. Pounghompo, Antioxidant activity and lipid-lowering effect of essential oils extracted from *Ocimum sanctum* L. leaves in rats fed with a high cholesterol diet, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol.46, pp.52-59 (2010).
- 8) K. Yagi, A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.*, vol.15, pp.212-216 (1976).
- 9) 真杉文紀, 中村哲也, Sodium dodecyl sulfate 可溶化による肝チオバルビツール酸値とビタミン E. ビタミン, vol.51, pp.21-29 (1977).
- 10) K. Yagi, A biochemical approach to arterogenesis. *Trends Biochem. Sci.*, vol.11, pp.18-19 (1986).
- 11) K. Yagi, S. Komura, N. Ihara, H. Abe, H. Konishi, S. Arichi, Serum lipid peroxides levels in rats with inherited cataracts. *J. Appl. Biochem.*, vol.7, pp.202-206 (1985).
- 12) 海老原 清, 食物繊維の栄養・生理機能に関する研究. 日本栄養・食糧学会誌, vol.61, pp.3-9 (2008).
- 13) 小崎 誠, 田村博英, 片岡邦三, コタラヒムブツエキス含有飲料過剰摂取時の健常者, 境界型および軽症 2 型糖尿病患者に対する安全性. 日本食品科学工学会誌, vol.55, pp.481-486 (2008).
- 14) 辛 基玉, 森谷敏夫, コタラヒム抽出エキス末のエネルギー代謝及び自律神経活動動態に及ぼす効果. *New Diet Therapy*, vol.23, pp.40-47 (2007).
- 15) 赤瀬智子, 嶋田 努, 原沢友紀子, 赤瀬朋秀, 池谷幸信, 田代眞一, 油田正樹, メタボリックシンドロームに対するコタラヒムブツ (*Salacia reticulata*) の予防効果. 薬理と治療, vol.36, pp.39-48 (2008).