

アオモジ葉のメタボリックシンドローム改善作用についての検討

研究年度 令和6年度

研究代表者名 古場 一哲

共同研究者名 城内 文吾、松澤 哲宏、川邊田晃司

I. はじめに

アオモジ (*Litsea cubeba*) は、国内では長崎県から佐賀県にかけて自生するクスノキ科の薬用植物であり、その生理機能についての知見は限られている。同じクスノキ科のクロモジには抗菌・抗ウイルス作用、抗炎症作用などが知られ¹⁾ 商用利用されているが、アオモジについては未解明な部分が多い。私たちが行った令和3年度の学長裁量教育研究で、アオモジ葉乾燥粉末を2%添加した食餌をラット (SD系雄ラット) に摂食させたところ、終末糖化産物であるペントシジンの血漿濃度が有意に低下し、抗糖化作用が示唆された²⁾。その後の2型糖尿病モデル動物 (KK-Ayマウス) を用いた摂食実験では、2%アオモジ葉添加食の摂取により体脂肪が低減する可能性が示された³⁾。そしてこれらの作用は極度の肥満状態では明確でなく、アオモジ葉の生理作用は生体の状態によって大きく影響を受けることも観察された⁴⁾。本研究では、これまで2%固定としていた植物A葉の食餌添加量を1%から4%の範囲で設定し、用量依存的な影響を検討することを目的とした。そして抗糖化作用が認められたSD系ラットを用い、抗糖化作用の再現性を検討することで、アオモジ葉のメタボリックシンドローム改善作用をより詳細に評価することを試みた。

II. 実験方法

アオモジ葉は、長崎県から佐賀県にかけて自生するアオモジの葉を採取 (佐賀県太良町で2021年採取) し、凍結乾燥後粉末化したものをアオモジ葉の試験試料とし、使用するまで-20℃で保存した。一般成分組成はTable 1の通りであった。

食餌タンパク質としてカゼインを20%、食餌脂肪として大豆油7%、スクロースを30%含むAIN-93G組成⁵⁾に準拠して調製した

Table 1. アオモジ葉乾燥粉末の一般成分組成 (%)

水分	1.6
タンパク質	16.9
脂質	6.9
炭水化物	72.2
(糖質)	(39.0)
(不溶性食物繊維)	(32.7)
(水溶性食物繊維)	(0.5)
灰分	2.4

Table 2. 食餌組成: AIN-93G (g/kg diet)

	群 名			
	対照	1 %	2 %	4 %
カゼイン	200	198.3	196.6	193.2
大豆油	70	69.3	68.6	67.2
アオモジ粉末	0	10	20	40
α化コーンスターチ	132	132	132	132
スクロース	300	300	300	300
セルロース	50	46.7	43.4	36.7
ミネラル混合AIN-93G	35	35	35	35
ビタミン混合AIN-93	10	10	10	10
L-シスチン	3	3	3	3
酒石酸コリン	2.5	2.5	2.5	2.5
t-ブチルヒドロキノン	0.014	0.014	0.014	0.014
β-コーンスターチ	197.5	193.2	188.9	180.3

純化食を対照食とした（Table 2）。対照食の1%、2%および4%をアオモジ葉粉末で置き換え、タンパク質、脂質、糖質および食物繊維の量をカゼイン、大豆油、コーンスターチおよびセルロースでそれぞれ調整した実験食を調製し、それぞれ1%食、2%食および4%食とした。

実験にはSD系ラット（5週齢オス）を使用した。対照食による5日間の予備飼育後、体重に群間で差が出ないように1群6匹ずつ4群に分け、各実験食を6週間自由摂食させた。飼育環境は室温22～23℃、12時間（8:00～20:00点灯）のライトサイクルとした。飼育期間終了後、ラットを6時間絶食させ、イソフルラン含む麻酔下で腹部大静脈より採血した（抗凝固剤はEDTA-2Naを使用）。採血した血液を遠心分離して血漿を調製し、分析に使用するまで-80℃で保存した。

実験結果は、平均値±標準誤差（SE）で表示し、Tukey-Kramer法より統計的有意性（ $p<0.05$ ）を検定した。

III. 結果および考察

Table 3に示すように、アオモジ葉の摂取は飼育期間中の体重および摂食量に影響せず、食餌効率も群間に違いがなかった。体重100gあたりの肝臓重量にもアオモジ葉の摂取は影響しなかった。各白色脂肪組織（睪丸周辺、腎臓周辺、腸管膜）重量についても、アオモジ葉摂取による影響は明確でなかった。2型糖尿病モデル動物（KK-Ayマウス）を用いた摂食実験では、アオモジ葉2%添加食の摂取により腸管膜脂肪組織重量が低減したが、今回のSD系ラットでは4%添加食群で対照群に比べ同脂肪組織重量は平均値で18%の低下傾向を観察したがその効果は統計的に有意ではなかった。このことからアオモジ葉の高肥満作用の大きさには動物種差があるものと考えられた。

血漿成分の分析結果をTable 4に示した。血漿コレステロール濃度は、アオモジ葉の摂取量の増加とともに低下する傾向はあり、対照群に比べ4%添加群の同濃度は平均値で17%低かったものの、この傾向に統計的有意性はなかった。その他の脂質濃度についてもアオモジ葉摂取による影響

Table 3. アオモジ葉の摂取がラットの体重、摂食量および各組織重量に及ぼす影響

	群 名			
	対 照	1 %	2 %	4 %
初体重 (g)	115 ± 1	115 ± 2	115 ± 2	115 ± 3
終体重 (g)	414 ± 6	434 ± 5	430 ± 11	421 ± 9
摂食量 (g/day)	23.5 ± 0.8	24.7 ± 0.5	23.6 ± 0.7	23.5 ± 0.6
食餌効率 (g gain/g diet)	0.353 ± 0.005	0.354 ± 0.005	0.369 ± 0.003	0.365 ± 0.006
臓器重量 (g/100g 体重)				
肝臓	3.70 ± 0.17	3.77 ± 0.11	3.75 ± 0.12	3.56 ± 0.06
白色脂肪組織				
睪丸周辺	1.32 ± 0.12	1.55 ± 0.15	1.56 ± 0.13	1.16 ± 0.15
腎臓周辺	2.19 ± 0.26	2.21 ± 0.17	2.30 ± 0.19	2.31 ± 0.16
腸管膜	1.28 ± 0.15	1.28 ± 0.08	1.17 ± 0.09	1.05 ± 0.08
肩甲間褐色脂肪組織	0.116 ± 0.014	0.128 ± 0.006	0.132 ± 0.010	0.106 ± 0.005
筋肉(腓腹筋)	0.706 ± 0.051	0.737 ± 0.050	0.662 ± 0.042	0.756 ± 0.054

Mean ± SE (n=6)

Table 4. アオモジ葉の摂取がラットの血漿成分濃度に及ぼす影響

	群 名			
	対 照	1 %	2 %	4 %
トリグリセリド (mg/dL)	239 ± 12	310 ± 29	280 ± 16	272 ± 26
コレステロール (mg/dL)	84.2 ± 9.0	76.4 ± 1.5	80.7 ± 13.0	70.1 ± 2.9
リン脂質 (mg/dL)	163 ± 8	185 ± 16	185 ± 10	163 ± 8
グルコース (mg/dL)	209 ± 10	200 ± 6	208 ± 9	210 ± 8
TBARS (μmol/L)	0.275 ± 0.020	0.658 ± 0.169	0.436 ± 0.071	0.343 ± 0.076
ペントシジン (ng/mL)	6.08 ± 1.41	9.04 ± 3.12	8.50 ± 3.27	9.27 ± 2.11
IL-6 (pg/mL)	4.31 ± 1.67	2.90 ± 0.24	3.46 ± 0.39	3.64 ± 0.38

Mean ± SE (n=6)

は明確でなかった。

血漿グルコース濃度は4群ともに200 mg/dL程度で、群間に違いは認められなかった。

血中の脂質過酸化物質濃度の指標として測定したチオバルビツール酸反応物質（TBARS）の濃度は、すべての群で1 μmol/L以下の低値で群間の違いもなかった。昨年度実施した肥満モデルラットに高脂肪・高スクロース食を摂食させた際には、TBARS値は対照群で約20 μmol/Lで、アオモジ葉2%添加食群でこの値は抑えられることが観察されたため、アオモジ葉による抗酸化性は生体内の状態によって作用が異なることが示唆された。

生体内の終末糖化産物の一つであるペントシジンの血漿濃度は、標準誤差が大きかったこともあり、群間の違いは明確でなかった。今回と同様にSD系ラットを用いた先行研究では、血漿ペントシジン濃度は、対照群に比べ、アオモジ葉2%添加食群で有意な低値を示しており²⁾、今回の実験では先行研究の2倍量のアオモジ葉4%添加食群においても血漿ペントシジン濃度に明確な影響は認められなかった。

炎症マーカーの一つであり炎症早期に産生されるサイトカインとして知られるインターロイキン-6 (IL-6) の血漿濃度についても、今回の実験ではアオモジ葉摂取の影響は明確でなかった。Table 4に示すとおり、血漿IL-6濃度は、対照群に比べ、アオモジ葉4%添加食群で、平均値で15%低い値を示したものの、標準誤差が大きく、群間で有意差はなかった。アオモジ葉の抗炎症作用については、*in vitro*の実験系で観察されており（結果未公表）、私たちの先行研究においてもアオモジ葉摂取による血漿IL-6濃度の低下を観察している。今回の結果とこれまでの結果が一致しない理由については現時点では明確ではないが、今回使用したアオモジ葉の乾燥粉末に起因する可能性はある。ポリフェノール類には血漿IL-6濃度を低下させるものが報告されており⁶⁾、以前観察されたアオモジ葉による抗炎症作用も、アオモジ葉に含まれるポリフェノール類他の微量成分によるものと推測される^{7, 8)}。これらの微量成分は、アオモジ葉の採取場所や採取年・時期によって変動する可能性が知られるため、今回の実験では、血漿ペントシジン濃度やIL-6濃度の低下を認めた2021年に採取・調製したアオモジ葉乾燥粉末を使用した。粉末試料は使用するまで冷凍保存していたものの、調製から3年が経過しており、ポリフェノールが酸素や湿度の影響を受け徐々に酸化・分解さ

れた可能性はある。このことが今回の結果の矛盾につながったのかもしれない。

以上のように、本研究ではアオモジ葉乾燥粉末の摂取による明確な抗肥満、抗糖化、抗酸化および抗炎症作用は確認されなかった。しかし、過去の研究結果と比較すると、条件によっては抗糖化・抗炎症作用が観察されており、今後、アオモジ葉中の有効成分の分析や保存条件の影響を考慮した追加研究が求められる。本研究の知見は、アオモジ葉の機能性評価における重要な基礎データとなると考えられる。

IV. おわりに

本研究では、アオモジ葉乾燥粉末を食餌に0～4%添加し、SD系ラットに自由摂食させることで、抗肥満作用、抗糖化作用、抗酸化作用および抗炎症作用を評価した。その結果、期待されたメタボリックシンドローム改善作用を明確に確認するには至らなかった。しかし、過去の研究と比較すると、アオモジ葉の効果が試料の品質や保存条件に依存する可能性が示唆された。今後の課題として、アオモジ葉中の有効成分の安定性や保存期間の影響を明らかにする必要がある。また、ポリフェノールやその他の微量成分の変動を分析し、作用の再現性を高めるための品質管理を行うことが重要である。これらを踏まえ、アオモジ葉の機能性を明確にするためのさらなる研究が求められる。

V. 参考文献

- 1) Cao Y, Xuan B, Peng B, Li C, Chai X, Tu P (2016) *Phytochem. Rev.*, **15**, 869-906.
- 2) 古場一哲, 松澤哲宏, 岡本恭子 (2021) 令和3年度長崎県立大学学長裁量研究成果報告書.
- 3) 古場一哲, 松澤哲宏, 岡本恭子, 川邊田晃司 (2022) 令和4年度長崎県立大学学長裁量研究成果報告書.
- 4) 古場一哲, 城内文吾, 松澤哲宏, 川邊田晃司 (2023) 令和5年度長崎県立大学学長裁量研究成果報告書.
- 5) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC (1993) *J. Nutr.*, **123**, 1939-1951.
- 6) Aneja R, Hake PW, Burroughs TJ, Denenberg AG, Wong HR, Zingarelli B (2004) *Mol. Med.*, **10**, 55-62.
- 7) Wang YS, Wen ZQ, Li BT, Zhang HB, Yang JH (2016) *J. Ethnopharmacol.*, **181**, 66-107.
- 8) Asakawa Y, Tomiyama K, Sakurai K, Kawakami Y, Yaguchi Y (2017) *J. Oleo Sci.*, **66**, 889-895.