

食後の血中トリアシルグリセロールの上昇に及ぼす アカショウマエキスの影響

韓 立坤^{1*}, 三浦 尚子¹, 河野 志穂¹, 高下 崇²,
野宮由起子², 木村 善行³, 鈴木 公¹, 奥田 拓道¹

¹ 熊本県立大学環境共生学部

² ビーエイチエヌ(株) 播磨生産開発センター

³ 愛媛大学医学部分子細胞生命科学講座

Effects of *Astilbe thunbergii* Rhizomes Extract on the Postprandial Blood Triacylglycerol Elevation

Li-Kun Han^{1*}, Naoko Miura¹, Shiho Kawano¹, Takashi Kohge²,
Yukiko Nomiya², Yoshiyuki Kimura³, Isao Suzuki¹
and Hiromichi Okuda¹

¹ Department of Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto,
Tsukide 3-1-100, Kumamoto City, Kumamoto 862-8502, Japan

² BHN Co., Ltd., Kohto Shingu-cho 1-472-41, Tatsuno, Hyogo 679-5165, Japan

³ Division of Biochemistry, Department of Molecular and Cellular Biology, School of Medicine,
Ehime University, Shitsukawa, Toon City, Ehime 791-0295, Japan

(Received September 20, 2005)

The present study investigated the effects of *Astilbe thunbergii* rhizome extract on pancreatic lipase activity *in vitro*. The 50% ethanol extracts of rhizomes of *A. thunbergii* (EATE) significantly inhibited pancreatic lipase activity *in vitro*. Furthermore, EATE was suspended in H₂O, and was chromatographed on a DIAION HP-20 column, and eluted with H₂O, methanol, successively. The fraction eluted with methanol significantly inhibited pancreatic lipase activity *in vitro*. In this experiment, EATE significantly reduced the elevation of rat plasma triacylglycerol level after oral administration of a lipid emulsion compared with that of rats given the lipid emulsion alone. Furthermore, we examined the effects of EATE on the plasma triacylglycerol and chylomicron levels of oral administration with a high-fat diet in humans. EATE reduced the plasma triacylglycerol and chylomicron levels compared with that of humans given the high-fat diet alone. Therefore, these results suggest that EATE may be an effective crude drug for the treatment of hyperlipidaemia caused by a high-fat diet.

Keywords: *Astilbe thunbergii* rhizomes; methanol-eluted fraction; pancreatic lipase activity; postprandial blood triacylglycerol elevation

食事の中の脂質の大部分は長鎖脂肪酸よりなるトリアシルグリセロールである。このトリアシルグリセロールはそのままの形では腸管から吸収されることなく、必ずリパーゼによって2-モノアシルグリセロールと脂肪酸に分解され

たのち、胆汁酸と共に混合ミセルを形成し、小腸上皮細胞に吸収される。こうして吸収された分解物は小腸上皮細胞内で再びトリアシルグリセロールに合成される。従って、リパーゼによる脂肪分解を阻害し、食事に含まれるトリア

シルグリセロールの腸管吸収を阻害・遅延することは食後の高脂血症の改善予防にとって好ましい状態である¹⁾。近年、著者らはアカショウマのノルエピネフリンによる脂肪分解の増強作用を報告した²⁾。アカショウマ (*Astilbe thunbergii* (Sieb. et Zucc.) Miq.) はユキノシタ Ranunculaceae 科チダケサン属 *Astilbe* の植物で、日本では本州、四国、九州各地の山地に自生する高さ 40~80 cm の多年草である。これまでショウマ *Cimicifuga foetida* L., *Cimicifuga heracleifolia* Komarov 及び *Cimicifuga dahurica* (Turxz.) Maxim. の代替品または類似品として薬用に供用された。ショウマは神農本草経に収載されて多くの漢方方剤に配合され、解熱、消炎、発汗、鎮痛などに使われていた。またアカショウマの効能はショウマと同じで、大きさの点で異なっているといわれている³⁾。アカショウマの成分としては、根にイソクマリン系のベルゲニン、フラボノイドのアスチルビンなどを含有している。アカショウマはショウマの代替品として用いられてきたが、今回、著者らはショウマとは異なった薬理活性 (アカショウマの臍リパーゼの阻害作用) があることを見出し、さらにラット及びヒトを用いて脂質負荷による血中トリアシルグリセロールの上昇に及ぼす影響を検討した。

実験材料及び実験方法

1. 材 料

本実験に用いたアカショウマの基原植物 *Astilbe chinensis* (Maxim.) Franch. et Savat. は中国吉林農業大学中薬材学院の鄭毅男博士及び愛媛大学医学部の木村善行博士より鑑定され、熊本県立大学環境共生学部栄養指導研究室に保管されたものである (No. 2002081201)。また本実験において、ベルゲニン及びアスチルビンについても検討した。ポジティブコントロールとして市販されているゼニカル⁴⁾ (*Orlistat*) を用いた。Chart 1 にベルゲニン、アスチルビン及びオリスタット (*Orlistat*) の構造式を示した。

2. アカショウマエキスの抽出と分離

粉碎したアカショウマの根 500 g に 50% エタノール 500 ml を加え、60°C で 1 時間加熱処理し、アカショウマエキス (100 g) を得た。アカショウマエキス 10 g を純水に溶かし、DIAION HP-20 (Mitsubishi Chemical Corporation, 42×150 mm) に付し、純水 150 ml で溶出した後、150 ml のメタノールで溶出し、それぞれの溶出液を濃縮して、水溶出画分 (非吸着画分) 3.1336 g 及びメタノール溶出画分 (吸着画分) 6.5410 g を得た。今回の実験で使われたアカショウマエキスは上記の方法でビーエイチエヌ (株) にて調製した。

3. 総ポリフェノール量の測定

検体 100 mg を 50 ml メスフラスコに採り、純水を加えて溶解させ、純水でメスアップし、これを検体溶液とした。試験管に検体溶液 1 ml、酒石酸鉄溶液 1 ml 及び 5 ml の 0.07 N リン酸緩衝液 (pH 7.5) を加えて混合し、波長 540 nm で吸光度を測定した。標準品としては没食子酸エチル

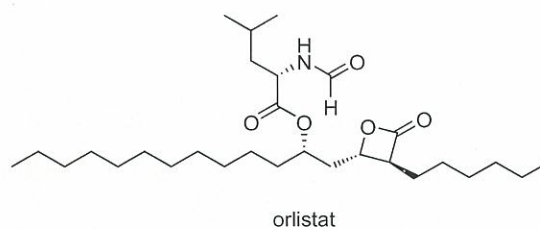
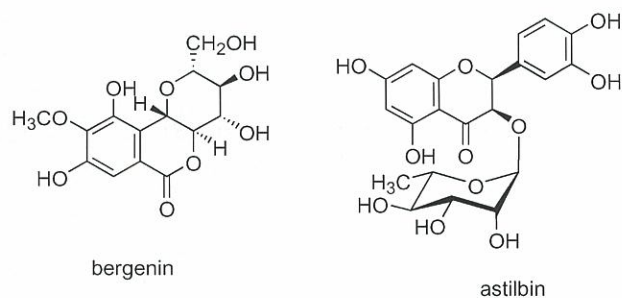


Chart 1. Structures of bergenin, astilbin and orlistat.

溶液を用いた。また、硫酸鉄 100 mg 及びソニエット塩 500 mg を純水 100 ml で溶解した溶液を酒石酸鉄溶液とした。

4. ベルゲニン含量の測定

検体 100 mg を 50 ml メスフラスコに採り、50% エタノール (v/v) で溶解させ、50% エタノールでメスアップし、検体溶液とした。検体溶液を 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過して HPLC に 20 μl を注入してベルゲニン含量を測定した。標準液として 0.236 mg/ml のベルゲニンを使用した。

測定条件: カラム YMC-pack ODS-AM (6.0×150 mm); 移動相 8% アセトニトリル溶液; 温度 30°C; 流速 1.0 ml/min; 検出波長 UV 272 nm.

5. 実験動物

実験動物にはウィスター系雄性ラットを用いた。8 週齢のラットは九動 (株) から購入し、12 時間の明暗サイクルのある飼育室 (温度 23±1°C, 湿度 60%) にて 1 週間予備飼育したのち、健康な動物を実験に供した。なお、本実験は熊本県立大学制定の動物実験指針に基づく動物実験管理委員会の承認の下に行われた。

6. 臍リパーゼ活性に及ぼすアカショウマエキスの阻害作用

臍リパーゼ活性はトリオレインからのオレイン酸遊離量を測定することによって算出した。前報の方法⁵⁾ に準じて、トリオレイン 80 mg (SIGMA Chemical Co. Ltd., USA), レシチン 10 mg (和光純薬工業株式会社, 東京), 胆汁酸 5 mg (SIGMA Chemical Co. Ltd., USA) を 9 ml の 0.1 M トリス緩衝液 (pH 7.0) 中で 10 分間超音波処理を行うことで均一な懸濁液とし、これを基質液として用いた。実験操作としては、基質液 0.1 ml にブタ由来の臍リパーゼ液 0.05 ml (SIGMA Chemical Co. Ltd., USA) (最終濃度 1 μg/

ml) および検体液 0.1 ml を加え、37°C、30 分間反応させ、遊離した脂肪酸を銅試薬法で定量した。活性値は検体無添加の値を 100% とし、各検体の活性値を算出した。

7. コーンオイル負荷後のラット血中の中性脂肪に及ぼすアカショウマエキスの影響

コーンオイルエマルジョンは前報の方法⁶⁾ に準じて調製した。一晩絶食したラットを 1 群 6 匹として対照群とアカショウマエキス投与群 (1 g/kg) の 2 群に分け、コーンオイル負荷実験を行った。対照群ではコーンオイルエマルジョン 1 ml および純水 1 ml の混合液を非麻酔下でラットに経口投与した。アカショウマエキス投与群ではコーンオイルエマルジョン 1 ml とアカショウマエキスの懸濁液 1 ml の混合液 (アカショウマエキス 1 g/kg) をラットに投与した。コーンオイル投与前、投与後 30, 60, 120, 180, 240, 300 分まで非麻酔下でラットの尾静脈より採血した。血漿中の中性脂肪含量の測定は和光純薬のトリグリセライド-E-テストキットを用いて測定した。

8. 脂肪食負荷後のヒト血中の中性脂肪に及ぼすアカショウマエキスの影響

試験は健康な男女 10 名 (男性 5 名、女性 5 名) のボランティアにて行った。本研究の実施に当たっては、その趣旨と内容について十分説明した後に、対照者から同意書を回収し、ヘルシンキ宣言の精神を遵守した。また財団法人愛世会愛誠病院上野クリニックの倫理審査委員会の承認を得た。被験者は試験前夜 22 時以後絶食し、翌朝 9~10 時の間に空腹時の中性脂肪及びカイロミクロンを測定した。測定後、直ちに Table 1 に示す脂肪食を摂取してもらい、その後経時的に採血を行い血中の中性脂肪及びカイロミクロンを測定した。試験食を摂取する前を 0 時間とし、摂取後 1, 2, 3, 4 時間まで採血した。1 週間期間をおき、同様の脂肪食負荷試験を行い、脂肪食を摂取する前にアカショウマエキス (200 mg) を摂取した時と摂取しなかった時の結果を比較した。脂肪食はコーンクリームポタージュスープ 200 ml にバター (食塩不使用) 19 g およびラード 15 g を溶かして調製した。この脂肪食は脂質として 39.9 g を摂取する計算となる。アカショウマエキスは粉末 200 mg をカプセルに詰めて脂肪食摂取 5 分前に服用した。

9. 統計処理

結果はすべて平均値±標準誤差で表示した。動物及びヒトの実験結果に関する統計処理には Super ANOVA ソフト (Abacus Concepts, Berkeley, CA, USA) を用い、分散

Table 1. Composition of high-fat diet.

High-fat diet	
Corn cream potage soup	200 g
Butter	19 g
Lard	15 g
Corn cream potage soup (g/100 g): protein 1.8; fat 4.6; carbohydrate 7.7.	
Butter (g/100 g): protein 0.5; fat 82.8; carbohydrate 0.2.	

分析を行ったのち、Bonferroni/Dunn (All means) 検定を行い、 $p < 0.05$ を統計的有意とした。

結 果

1. 膵リパーゼ活性に及ぼすアカショウマエキスの影響

Fig. 1 に示すように、アカショウマエキスは濃度依存的に膵リパーゼ活性を阻害した。そこで、アカショウマエキスを HP-20 にかけて吸着画分及び非吸着画分に分けて、膵リパーゼ活性の阻害作用を測定した。また、各画分に含まれるベルゲニン及び総ポリフェノール含量を測定した (Table 2)。Fig. 2 に示すようにベルゲニン及び総ポリフェノール量の多い吸着画分が膵リパーゼ活性を強く阻害した。また、ベルゲニン及びアスチルビンの膵リパーゼの阻害作用を比較するため同濃度で測定した。ベルゲニンは終濃度 0.5 mg/ml で約 22.4%、アスチルビンは終濃度 0.5 mg/ml で約 35.9%、膵リパーゼ活性を阻害した。ポジティブコントロールとして市販されている膵リパーゼ阻害剤のゼニカル⁴⁾ (Orlistat) を使用した。ゼニカルは終濃度 0.04 mg/ml で膵リパーゼ活性を約 87.3% 阻害した。

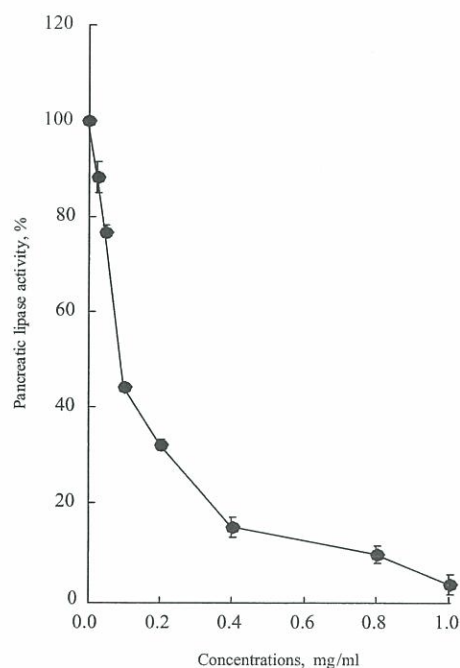


Fig. 1. Effects of *Astilbe thunbergii* Rhizomes extract on pancreatic lipase activity.

Table 2. Poly-phenol contents of fractions isolated from *Astilbe thunbergii* rhizomes extract with HP-20 column.

	Bergenin content, %	Poly-phenol content, %
<i>Astilbe thunbergii</i> rhizomes extract	17.8	25.2
Water-eluted fraction from HP-20	0.12	2.49
MeOH-eluted fraction from HP-20	32.9	34.8

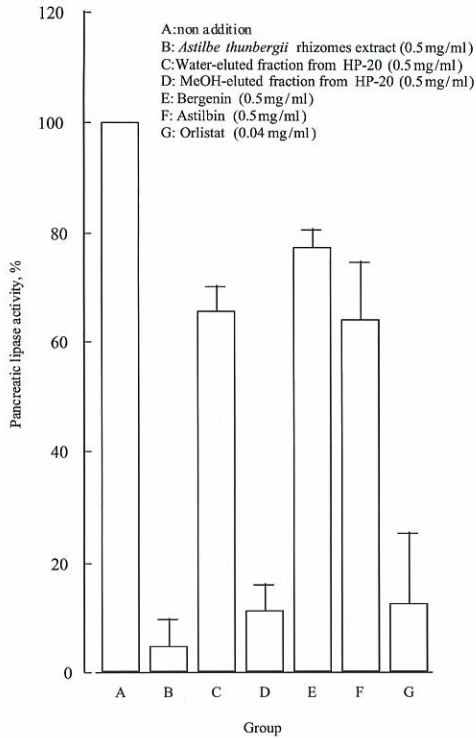


Fig. 2. Effects of *Astilbe thunbergii* Rhizomes extract and its compounds on pancreatic lipase activity.

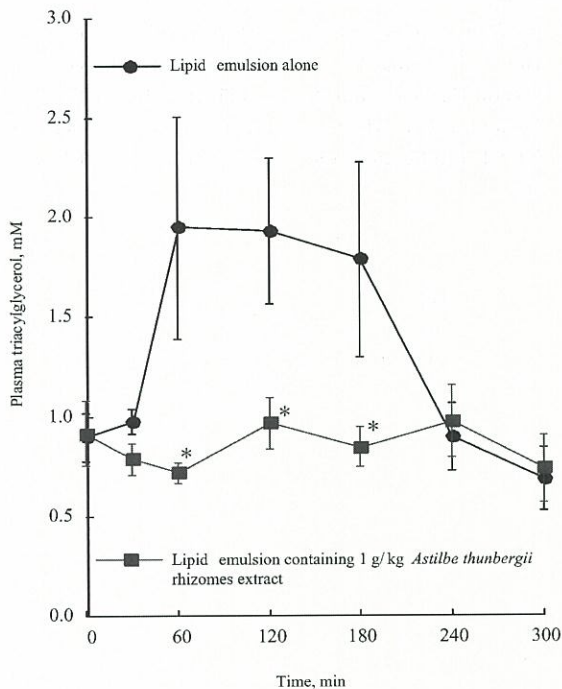


Fig. 3. Effects of *Astilbe thunbergii* Rhizomes extract on rat plasma triacylglycerol levels after oral administration of a lipid emulsion. *Significantly different from the lipid emulsion alone at $p < 0.05$.

2. コーンオイル負荷後のラット血中の中性脂肪の変動に及ぼす影響

Fig. 3 に示すように、コーンオイル単独投与群に比べて、アカショウマエキス 1 g/kg 投与群ではコーンオイル負荷によるラット血中の中性脂肪の上昇を有意に抑制した。

3. ヒトにおける脂肪食負荷後の血中の中性脂肪及びカイロミクロンの変動に及ぼすアカショウマエキスの影響

脂肪食摂取後の血中中性脂肪及びカイロミクロンの増加量の平均値をグラフにしたところ、脂肪食摂取前にアカショウマエキス 200 mg を摂取することによって、脂肪食摂取後の中性脂肪及びカイロミクロンの上昇が抑制される傾向が認められた (Fig. 4)。この中性脂肪の曲線下面積 ($h \cdot \Delta$ mg/dl) を計算したところ、脂肪食のみを摂取した場合が 159.4 ± 88.7 であったのに対して、脂肪食摂取前に

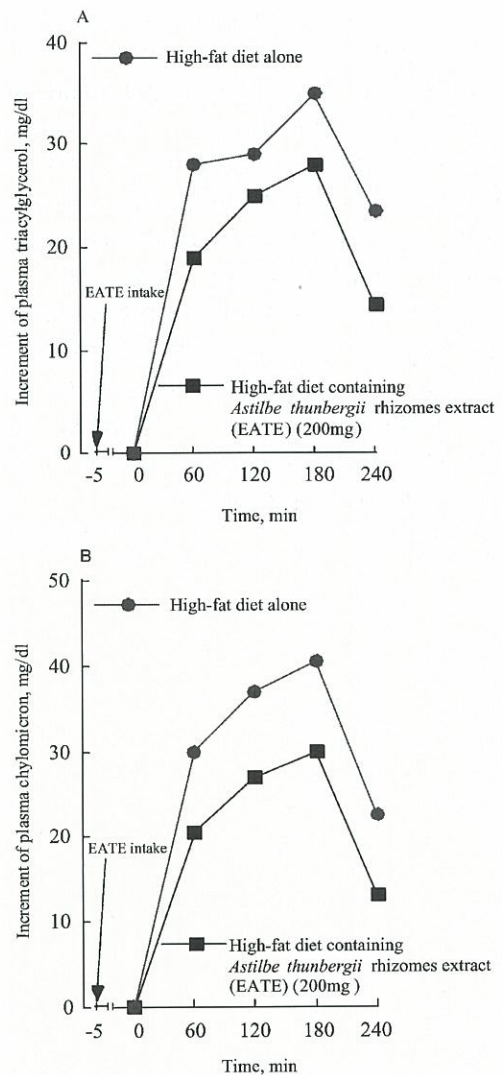


Fig. 4. Effects of *Astilbe thunbergii* Rhizomes extract on human plasma triacylglycerol (A) and chylomicron (B) levels after oral administration with high-fat diet.

アカショウマエキスを摂取することによって 124.6 ± 82.8 と約 20% 低下していた。

考 察

いまから 50 年前の日本人の食事は米を主体として糖質の占める割合が約 80% を占め、脂質は僅かに 8.7% に過ぎなかった。ところが、近年、食事の欧米化などに伴い、脂質摂取量の割合は約 3 倍の 26.3% にまで増加している⁷⁾。この脂質摂取量の増加は肥満、高脂血症、耐糖能異常、高コレステロール血症などの増加の一因と考えられる。従って、食事に含まれるトリアシルグリセロールの腸管吸収を阻害・遅延することは食後の高脂血症などの改善予防にとって好ましい状態である。食事中的トリアシルグリセロールは十二指腸で胆汁に含まれる胆汁酸やリン脂質と混合され、小さな油滴となり、膵臓から分泌されるリパーゼによって分解された後に吸収される。今回の実験でアカショウマエキスは濃度依存的に腓リパーゼ活性を阻害した。ベルゲニンは終濃度 0.5 mg/ml で約 22.4%、腓リパーゼ活性を阻害したが、ベルゲニン及びポリフェノール含量の多いメタノール溶出画分が終濃度 0.5 mg/ml で約 88.8%、腓リパーゼ活性を阻害した。このことより、アカショウマエキスの腓リパーゼ阻害作用には、メタノール溶出画分のうちベルゲニン以外の成分が関与していることが示唆された。また、アスチルビンは終濃度 0.5 mg/ml で約 35.9%、腓リパーゼ活性を阻害した。今後、メタノール溶出画分にアスチルビンの含量を測定する必要があると思われる。今回、腓リパーゼ活性に対する阻害作用を測定する実験においては、アカショウマエキス中のポリフェノール量はメタノール溶出画分のポリフェノール含量と、またベルゲニンの含量とも同等になっていなかったが、今後、この点において詳細な検討が必要と思われる。

以上の結果に基づいて、ラット及びヒトに脂質を負荷し

て血中の中性脂肪の変動に及ぼすアカショウマエキスの影響を検討した。その結果は、コーンオイル単独投与群に比べて、アカショウマエキス 1 g/kg 投与群ではコーンオイル負荷によるラット血中の中性脂肪の上昇を有意に抑制した。ヒトの実験においても、脂肪食摂取前にアカショウマエキス 200 mg を摂取することによって、脂肪食摂取後の中性脂肪及びカイロミクロンの上昇が抑制される傾向が認められた。また、この中性脂肪の曲線下面積 ($\text{min} \cdot \Delta \text{mg/dl}$) を計算してみたところ、脂肪食のみを摂取した場合が 159.4 ± 88.7 であったのに対して、脂肪食摂取前にアカショウマエキスを摂取することによって 124.6 ± 82.8 と約 20% 低下していた。この結果は、アカショウマエキスが腓リパーゼの働きを阻害することを通じて食事中的トリアシルグリセロールの腸管吸収を抑制することを明らかにした。

アカショウマエキスが脂肪過剰摂取に伴う肥満の予防及び治療に役立つ可能性も示唆され、今後の詳細な検討が必要である。

文 献

- 1) Okuda H., Han L.-K., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **118**, 347-351 (2001).
- 2) Han L.-K., Ninomiya H., Taniguchi M., Baba K., Kimura Y., Okuda H., *J. Nat. Prod.*, **61**, 1006-1011 (1998).
- 3) Kusano G., *Yakugaku Zasshi*, **121**, 497-521 (2001).
- 4) Roche Laboratories: Xenical (orlistat) product information, Nutley (NJ) (1999).
- 5) Han L.-K., Zheng Y.-N., Yoshikawa M., Okuda H., Kimura Y., *BMC Complement Altern Med.*, **5**, 9-17 (2005).
- 6) Han L.-K., Gong X.-J., Kawano S., Saito M., Kimura Y., Okuda H., *Yakugaku Zasshi*, **125**, 213-217 (2005).
- 7) Yamamoto S., Moriguchi S., "Nutrition science series NEXT: Public nutrition", Kodansya, Tokyo, 2000, pp. 29-30.