モクセンナのリパーゼ阻害活性作用による抗肥満効果および脂肪肝改善効果

豊川哲也、知念光浩[1]

リパーゼ阻害活性を有する沖縄県産植物の抗肥満効果および脂肪肝抑制効果を動物試験により検証した。単回投与においてモクセンナ抽出物が最もリパーゼ阻害作用が高いと判断されたので、連続投与試験を行った。モクセンナ抽出物を食餌に添加すると体重増加の抑制、皮下脂肪組織の減少および肝臓脂質濃度の低下が観察された。特に中性脂肪の減少が顕著であることから、リパーゼ阻害作用による中性脂質の分解抑制効果が示唆された。血清GOT、GPTおよび組織観察からは、モクセンナの毒性は確認されなかった。

1　はじめに

食事により摂取された脂肪は、膵液や腸液中の脂肪分解酵素であるリパーゼにより脂肪酸とグリセリンに分解後吸収され、上皮細胞中で再びトリグリセリド(TG)に合成される。その後、リン脂質、コレステロール及びタンパク質とカイロミクロンを形成し、リンパ管に分泌され、胸管を通って大動脈中へ移行する。したがって、リパーゼ阻害作用を有する物質は、脂肪の消化・吸収を抑制し実質的摂取エネルギーの減少による抗肥満効果が期待される。このような効果を期待して、Orlistat、エベラクトンB、プロタミン等のリパーゼ阻害剤[1-18]が報告されている。我々は、これまでに県産資源の有効活用を目指し、糖尿病予防の指標となる各種糖類分解酵素阻害活性試験、高血圧症予防の指標となるアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害活性試験、美白効果の指標となるメラニン合成阻害活性試験などを行ってきた[19-24]。平成14年には、高脂血症改善や抗肥満の指標となるリパーゼ阻害活性について検討を行い[25]、オオゴチョウ花、オオフトモモ葉、ガジュマル気根、ゲットウ花などが強いリパーゼ阻害活性を示すことを見出した。そこで、本年度は*in vitro*において強い活性が認められたサンプルに関して動物試験を行い脂質吸収抑制作用および抗肥満効果を確認した。

2　実験方法

２－１　試料の調製

２－１－１　抽出溶媒の検討

収穫した植物を60 ℃で12 時間乾燥後、遠心粉砕器（MRK-Retsch, ZM100）にて粉砕した。粉砕試料を高速溶媒抽出装置（日本ダイオネクス、ASE-200）を用いて、試料重量；2 g、抽出温度；82 ℃、溶媒量；25 ml、抽出時間10 分、抽出回数；2　回の条件で抽出を行った。抽出溶媒はイオン交換水、50%エタノール、エタノールを使用した。

２－１－２　動物試験用試料の調製

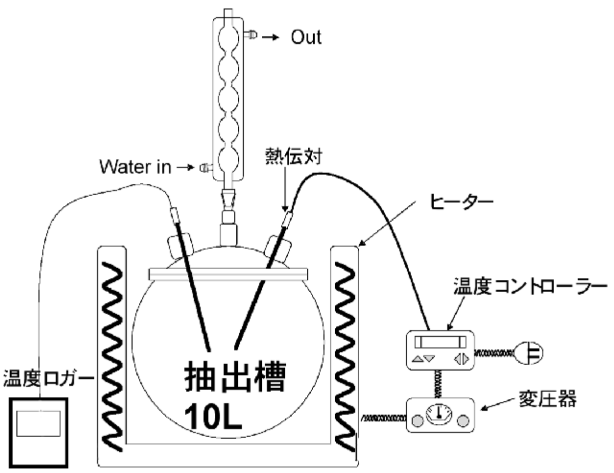

図１ 抽出機の模式図

実験に供した試料は、沖縄県で栽培・採取された植物を用いた。各試料は、60 ℃で12時間乾燥した後に粉砕した。粉砕試料は、4倍量(W / V)の抽出溶媒に２時間浸漬した後、図１に示す抽出装置を用いて、抽出温度70℃、抽出時間4時間、抽出回数2回の条件で抽出を行った。また、必要に応じて酢酸エチルを用いて分配を行った。

２－３　リパーゼ阻害活性試験

リパーゼ阻害活性試験は既報のとおり行った[24]。

２－４　動物試験

SDラット雄を日本SLC株式会社より購入し、固形飼料

1　非常勤職員

CE-2（日本クレア㈱）および水道水を自由に摂取させ、温度22±3℃、相対湿度55±20、明暗時間12時間に設定した飼育室にて、プラスチック製ケージ(14.5×26.0×12.5cm)内で1匹ずつ所定日数予備飼育後、体重に統計的な有意差がないように8匹ずつ群別し実験に使用した。

単回投与試験は、6週齢のSDラットを購入し、4日間の予備飼育を行った。植物抽出物をコーンオイルに所定濃度となるように分散しラット胃内に強制経口投与した。胃内へのゾンデ挿入に対するラットのストレスを軽減するため、軽度のジエチルエーテル麻酔下（投与後数秒後には意識回復する程度）で試料を投与し、6時間後に尾静脈血を採取し、速やかに遠心分離し血清を分離後トリグリセリド（TG）および総コレステロール濃度を測定した。

連続投与試験は、4週齢のSDラットを購入し1週間の予備飼育を行った。植物抽出物を所定濃度となるように20%のコーンオイルを含む半精製飼料に添加した高脂肪食を調製し28日間自由摂取させた。試験最終日に、一晩絶食後に屠殺し、主要臓器の観察を行うとともに、肝臓、腎臓および生殖器周囲脂肪組織を採取し重量測定を行った。

血清中のトリグリセリド、総コレステロール、GOT，GPTの測定は市販キット（トリグリセライテストワコー、コレステロールCⅡテストワコー、NEFA-Cテストワコー、和光純薬製）を用いて測定した。肝臓については、クロロホルム-メタノールにて脂質を抽出し溶媒を留去後に同じキットを用いて測定を行った。

２－５　統計処理

すべてのデータは、平均値±標準誤差で表示した。統計処理は、EXCEL（マイクロソフト社）およびEXCEL統計（エスミ社）を使用し、t検定ならびにTukeyの群多重検定を行った。

3　結果および考察

３－１　素材の選定と投与試料の調製

動物試験に供した投与試料は、当センターで収集した約700種類の植物や伝統食材などからリパーゼ阻害活性値、特許および文献の有無、収穫量、県産ブランドへの可能性、食経歴などの項目を選定基準にモクセンナ葉、ゲットウ花、オオフトモモ実、モクマオウ葉およびガジュマル気根の5植物を選定した。この5素材よりエタノール、50%エタノールおよび蒸留水を用いて抽出を行い、得られた抽出液のリパーゼ阻害活性を測定し最適抽出溶媒を決定した。図２に抽出溶媒の違いが活性に与える影響を示す。抽出溶媒の違いにより、サンプルの活性が顕著に異なることが認められたことから、各植物に最適な溶媒を用いて動物試験用試料の調製を行う事とした。すなわち、ガジュマル気根、ゲットウ花およびモクセンナ葉はエタノールで、モクマオウ葉は50%エタノールで抽出を行い、得られた抽出液をエバポレータにより減圧乾固して動物試験用試料を調製した。オオフトモモ実に関しては、蒸留水および50%エタノール抽出では果実中の糖分が同時に抽出され非常に粘性の高いサンプルが得られたことから、エタノールで抽出を行い、次いで酢酸エチルによる分配および凍結乾燥を行った。表1に動物試験用試料の収率およびIC_{50}値ならびにポジティブコントロールであるOristat、エベラクトンBおよびプロタミンのIC_{50}値を示す。ポジティブコントロールである3種の化合物と比較してゲットウ花、ガジュマル気根およびオオフトモモ実はきわめて活性が低いことが認められた。モクセンナ葉は、プロタミンとエベラクトンBの中間の活性を示した。

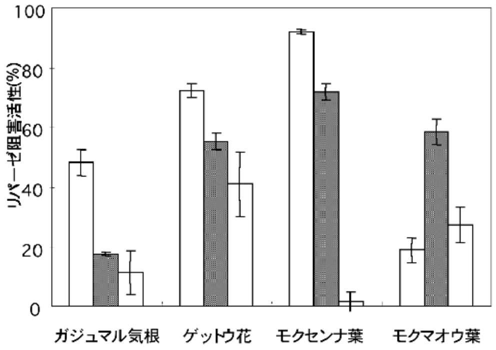

図2　抽出溶媒の違いが活性に与える影響
□ エタノール、▩ 50%エタノール、■蒸留水

表１　動物試験用試料の収率およびIC_{50}

植物名および部位	収率（%）	IC_{50} （μg/ml）
ガジュマル気根	5	323
ゲットウ花	15	311.8
モクセンナ葉	11	8.8
オオフトモモ実	35	170.2
Orlistat		0.2
Ebelacton B		2.8
プロタミン		23.2

表２　投与量

試料名	投与量（mg / kg BW）
Orlistat (陽性対照)	50
モクセンナ葉抽出物	500
モクマオウ葉抽出物	1000
ゲットウ花抽出物	1000
ガジュマル気根抽出物	1000
オオフトモモ実抽出物	1000

３－２　動物試験

調製した試料を、表2に示す投与量となるようにコーンオイルに分散しラット胃内に強制経口投与した。なお、コーンオイルは体重1kgあたり5mlとなるように投与した。投与後6時間後の血清トリグリセリド量を図3に示す。コントロール群と比較して、血清トリグリセライド濃度はモクセンナ葉抽出物投与群およびポジティブコントロールであるOrlistat投与群で有意に低下した。また、オオフトモモ実投与群で低下する傾向（$P < 0.10$)が認められた。ゲットウ花投与群に関しては、予想に反し血清トリグリセライド濃度の上昇が有意に認められた。血清総コレステロール濃度に関しては顕著な差は認められなかった（図４）。

単回投与試験で、最も効果が顕著であったモクセンナ葉を用いて連続投与試験を行った。モクセンナの栄養成分組成を表3に示す。連続投与試験では、モクセンナ抽出物を20%コーンオイルを含む高脂肪食に1, 3, 5%となるように配合し28日間自由摂取させた。表4にモクセンナ抽出物配合試料の食餌組成を示す。試験期間を通じて摂餌量に差異は認められなかった（表5）。

図5にモクセンナ抽出物投与がラットの体重に与える影響を示す。摂餌量に差異が認められないにもかかわらず、モクセンナ抽出物投与により、3%配合群で約10%、

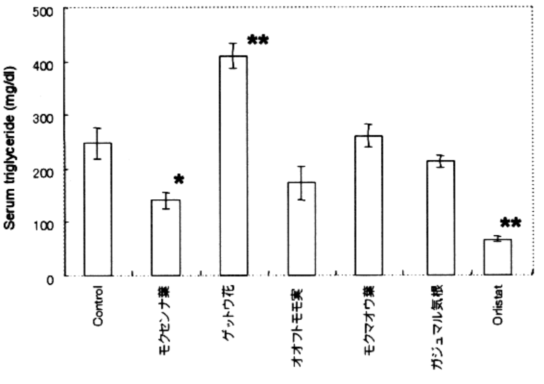

図3 投与6時間後の血清トリグリセリド量(mg/dl)

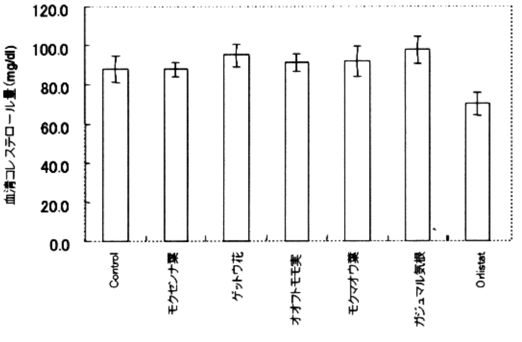

図4 投与6時間後の血清コレステロール量(mg/dl)

5%配合群で約14%の有意な体重低下が認められた。また、その効果は用量依存的であった。図６にモクセンナ抽出物連続投与が睾丸周辺脂肪重量に与える影響を体重比で示す。睾丸周辺脂肪重量もモクセンナ抽出物添加量に依存して低下し、3%配合群で約16%、5%配合群で約13%の組織重量の低下が認められた。睾丸周辺脂肪重量の低下は皮下脂肪組織の減少を示唆している。体重及び睾丸周辺脂肪重量の低下は、モクセンナ抽出物のリパーゼ阻害効果による実質的摂取エネルギー量の低減効果により達成されたものと考えられる。

表3　モクセンナ抽出物の栄養成分組成

成分名	組成(%)
水分	19
粗タンパク質	2.3
粗脂質	38.5
灰分	1.5
粗繊維	N. D.
糖質	38.7

表4　モクセンナ抽出物配合試料の食餌組成(%)

	対照群	1% 配合群	3% 配合群	5% 配合群
カゼイン	20	20	20	20
コーンスターチ	15	15	15	15
セルロース	5	5	5	5
調整ミネラル類	3.5	3.5	3.5	3.5
調整ビタミン類	1	1	1	1
dl-メチオニン	0.3	0.3	0.3	0.3
塩化コリン	0.2	0.2	0.2	0.2
コーンオイル	20	20	20	20
スクロース	35	34	32	30
モクセンナ抽出物	0	1	3	5
計	100	100	100	100

表5　試験期間中の総摂餌量

	総摂餌量 (g)		
コントロール群	497.06	±	6.04
1% 配合群	485.71	±	9.53
3% 配合群	465.96	±	7.66
5% 配合群	464.29	±	10.14

図7にモクセンナ抽出物連続投与が肝臓重量に与える影響を体重比で示す。肝重量は、モクセンナ抽出物添加量に依存して低下し、5%添加群では有意な差が認められた。図8、図9および図10にモクセンナ抽出物長期投与が肝臓総トリグリセリド、肝臓総コレステロールおよび肝臓遊離コレステロールに与える影響を重量比で示す。肝臓総トリグリセリド、肝臓総コレステロールおよび肝臓遊離コレステロールのいずれも、モクセンナ抽出物投与により用量依存的に有意に低下した。これは、いずれも脂肪肝の抑制を示唆するものである。腎臓重量（体重比）に変化は認められなかった。

図11および図12にモクセンナ抽出物連続投与が血清トリグリセライドおよび血清コレステロールに与える影響を示す。血清トリグリセライドおよび血清コレステロールのいずれも、モクセンナ抽出物投与により顕著な変化は認められなかった。今回の実験では、投与期間が28日と短いため高脂血症が誘発されずに、血清中のトリグリセライド濃度およびコレステロール濃度は正常な範囲内に保たれていた。正常な生体では、血液中の中性脂肪濃度は種々の機構により恒常性が保たれている。さらに、

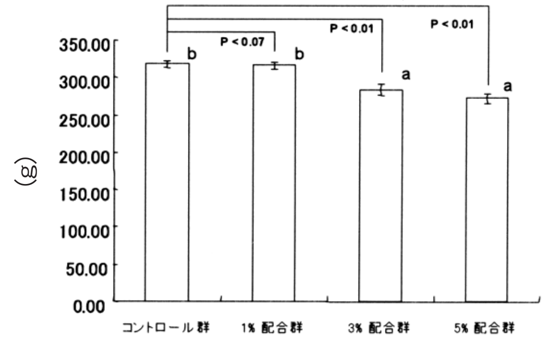

図5　モクセンナ抽出物連続投与が体重に与える影響

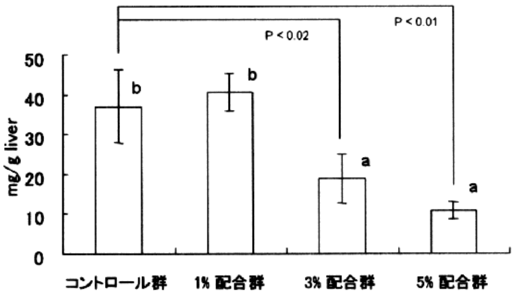

図8　モクセンナ抽出物長期投与が肝臓総トリグリセリドに与える影響（重量比）

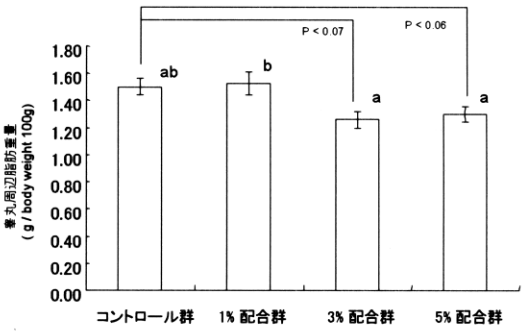

図6　モクセンナ抽出物連続投与が睾丸周辺脂肪重量に与える影響（体重比）

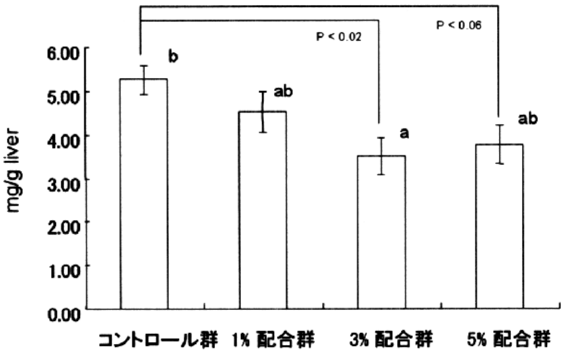

図9　モクセンナ抽出物連続投与が肝臓総コレステロールに与える影響（重量比）

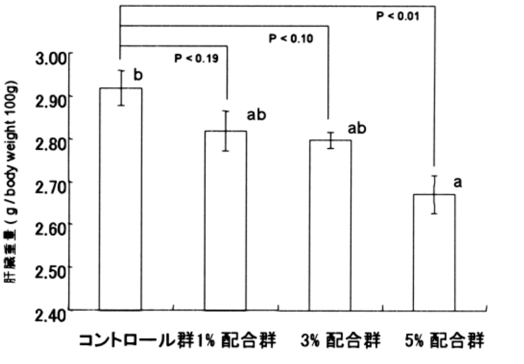

図7　モクセンナ抽出物連続投与が肝臓重量に与える影響（重量比）

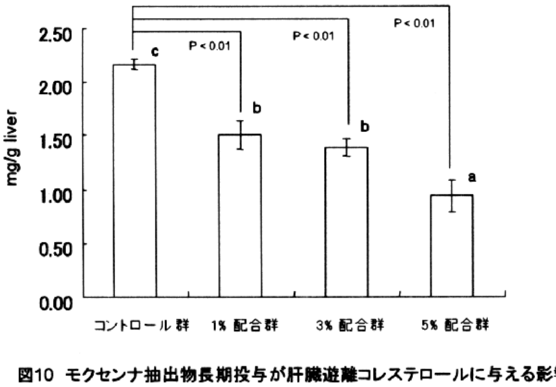

図10　モクセンナ抽出物長期投与が肝臓遊離コレステロールに与える影響

本実験では絶食後12時間後に血液採取を行っていることから、脂質吸収阻害の影響が血清マーカーに反映されなかったと考えられる。

図13にモクセンナ抽出物連続投与がGOTに与える影響を示す。GOTに有意な差は認められなかった。図14にモクセンナ抽出物連続投与がGPTに与える影響を示す。GPTはモクセンナ抽出物投与に伴って増加する傾向が有意に認められた。しかしながら、その差はわずか7.1 I.U./Lであり肝機能障害を示すものではない。また、肝臓組織切片の観察においても、特に異常は検出されなかった。

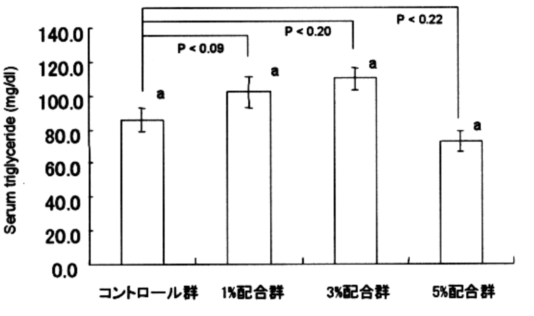

図11　モクセンナ抽出物連続投与が血清トリグリセリド量に与える影響

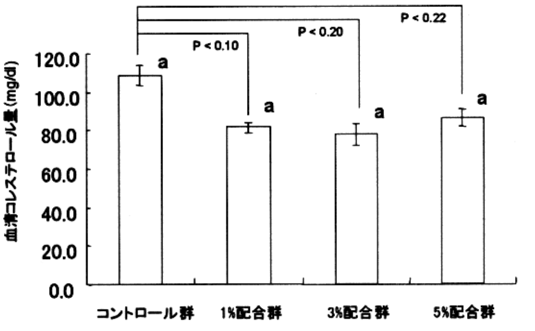

図12　モクセンナ抽出物連続投与が血清コレステロール量に与える影響

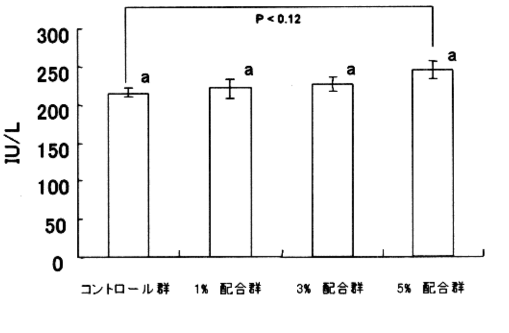

図13　モクセンナ抽出物連続投与がGOTに与える影響

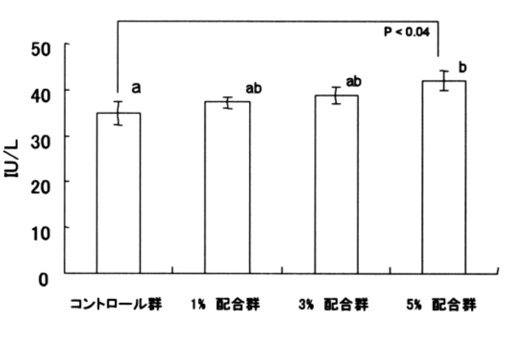

図14　モクセンナ抽出物連続投与がGPTに与える影響

まとめ

リパーゼ阻害活性を有する沖縄県産植物の抗肥満効果および脂肪肝抑制効果を動物試験により検証した。単回投与においてモクセンナ抽出物が最も効果が高いと判断されたので、連続投与試験を行った。モクセンナ抽出物を食餌に添加すると体重増加の抑制、皮下脂肪組織の減少および肝臓脂質濃度の低下が観察された。特に中性脂肪の減少が顕著であることから、リパーゼ阻害作用による中性脂質の分解抑制効果が示唆された。　血清GOT、ＧＰＴおよび組織観察からは、モクセンナの毒性は確認されなかった。

モクセンナ（*Cassia glauca*）は、マメ科カワラケツメイ属の植物で沖縄では全草を利用し糖尿病、淋病、婦人病、便秘によいとされる[25]。また、インドやタイでは若芽を食用としている[27) 28)]。中国名は黄槐で漢方薬の原料として全草が利用されている[29]。今回、モクセンナの新たな機能性として抗肥満効果および肝脂肪抑制効果が認められたことから、モクセンナは脂質摂取過剰が原因の生活習慣病予防に有望な素材であると考えられる。

謝辞

今回の試験にあたって、ゲットウの花を提供していただきました、（有)月桃エコロジーの神谷朝洋氏に感謝の意を表します。また、動物試験の委託先であるとともに、貴重なご助言をいただきました琉球大学遺伝子実験センター屋宏典教授に感謝の意を表します。本研究は、平成15年度「沖縄県地域結集型共同研究事業」により実施されたものです。

参考文献

1） 武田忠明、錦織孝史、住吉真帆、韓立伸、奥田拓道、サケ軟骨由来コンドロイチン硫酸の抗肥満作用とその機序、日本栄養・食糧学会誌、第52巻第6号381-386（1999）

2） S HOGAM et al, Studies on the antiobesty activity of tetrahydrolipstatin, a potent and selective inhibitor of pancreatic lipase, *International Journal of Obesity,* 11, 35-42, 1987

3） Weat Flor Lipase inhibitor decreases serum lipid

levels in mail rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.,* 41, 699-706, 1995
4） Takaaki Aoyagi et al, effects of ebelacton B, a lipase inhibitor, on intestinal fat absorption in the rat, *J. Enzyme Inhibition,* 1999, Vol. 10, pp.57-63
5） Takahiro Tsujita et al, Studies on the inhibiton of pancreatic and carboxylester lipases by protamin, *Journal of Lipid Research* vol. 37, 1996
6） Karen Ackroff and Anthony Sclafani, Effects of the lipase inhibitor orlistat on intake and preference for dietary fat in rats, *American Journal of Physiology* 271, r48-54, 1996
7） 香川恭一、福浜千津子、藤野博昭、奥田拓道、境界域高脂血漿被験者におけるグロビンタンパク分解物の血清トリグリセリド低下作用、日本栄養・食糧学会誌、第52巻、第２号　71-77（1999）
8） 奥田拓道、食品に含まれる機能性物質と肥満に関する研究、日本栄養・食糧学会誌、第54巻、第１号　35-40（2001）
9） 住野清一、村上透、山本学、志村進、伊藤禮男、高脂血症を伴う肥満患者に対するLipase　inhibitor (CT-II)の投与効果、日本肥満学会誌、4、217-222（1998）
10） 特開2000-103741、リパーゼ阻害剤
11） 特開2001-72583、高脂血症の予防または治療用組成物
12） 特開2002-47190、微生物性リパーゼ阻害剤
13） 特開2001-122761、皮膚外用剤
14） 特開平10-265364、リパーゼ阻害剤およびニキビ用皮膚外用剤
15） 特開平9-241131、養毛剤
16） 特開平5-255100、リパーゼ阻害剤
17） 特開2002-179586、リパーゼ阻害剤
18） 特開平9-227398、抗肥満剤
19） 豊川哲也、鎌田靖弘、与座江利子、県産資源を活用した機能性食品素材の開発、工技センター研究報告第２号、(2000)
20） 鎌田靖弘、豊川哲也、県産資源を活用した機能性素材の開発、工技セ研究報告第３号、(2001)
21） 豊川哲也、鎌田靖弘、山城枝利子、比嘉賢一、吉田靖彦、花城薫、選択的細胞毒性を有する亜熱帯生物資源の探索について－各種ガン細胞に対する県産資源の効果－、工技センター研究報告第３号、(2001)
22） 鎌田靖弘、豊川哲也、照屋正映、、吉田靖彦、花城薫、新垣美香、上地美香、県産資源を利用した機能性素材の開発－in　vitro　試験での機能性評価－、工技センター研究報告第４号、(2002)
23） 豊川哲也、吉田靖彦、鎌田靖弘、花城薫、県産資源の有効活用による産業振興を目指して－機能性評価と利用法開発－、南方資源利用技術研究会誌、Vol17, No.1 9-17(2001)
24） 鎌田靖弘、豊川哲也、市場俊夫、県産資源を利用した機能性素材の開発－病体モデル動物を用いた効果確認試験－、工技セ研究報告第４号、(2002)
25） 多和田真淳、太田文子、おきなわの薬草百科、新星図書出版社
26） 豊川哲也他、沖縄県産植物抽出液のリパーゼ阻害活性、工技センター研究報告第５号、(2003)
27） （財）海洋博覧会記念公園管理財団、沖縄の都市緑化植物図鑑、
28） C. Yamada et al, knwwledge, attitudes, and practices of people in Ullanbaatar, Mangolia, with regard to iodine-deficiency disorders and iodized salt. *Food and Nutrition Bulletin* - Volume 19, Number 4
29） 中薬大辞典、小学館

編　集　　　沖縄県工業技術センター

発　行　　　沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番２

ＴＥＬ　　　(098)929-0111

ＦＡＸ　　　(098)929-0115

ＵＲＬ　　　https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。