

ジネンジョ機能性成分がラットの脂質代謝に及ぼす効果

辻原 命子・小久保 直子*・番 喜宏**・竹内 若子

Effect on Rat Lipids Metabolizing by Jinenjo (*Jioscorea japonica*) Function Elements

Nobuko TSUJIHARA, Naoko KOKUBO, Yoshihiro BAN and Wakako TAKEUCHI

緒言

ジネンジョ (*Jioscorea japonica*) は、古来より親しまれてきた日本原産のヤマノイモ科に属する根茎である。ナガイモをはじめ、イチョウイモ、大和イモ、ダイジョ等は日本原産ではなく、中国伝来のもので染色体数も異なることから植物学的にもジネンジョとは全く別種とされ、これら両者の交配もないとされている。このジネンジョの健康機能性の特色は、良質のデンプン質に加え、そのアミラーゼ活性の高さから消化吸収作用のよいことや強い粘りの主成分である粘性多糖などが滋養強壮作用をもつ食材の一つとして広く知られている。しかしながら、その科学的な根拠については必ずしも明確にはなっていない。そこで筆者らは、主にジネンジョ特有の強い粘性成分である糖タンパク質について検討した結果、SDS-分子量約30kDa、等電点 (pI) 4.5, 4.6の酸性の糖タンパク質であることを明らかにした¹⁾。また、アミラーゼ活性については必ずしも高いとはいえないことや、消化性のよいデンプンのみならず、難消化性デンプン (レジスタントスターチ) 含量も高いことを見出した。それら成分がラットを用いた繰り返しの実験結果から、ラットの脂質代謝への改善効果に寄与している可能性を確認した。最近になってヤマノイモ科の根茎だけに含有されるという植物ステロイドの1種である「ディオスゲニン: Diosgenine」が若さの維持 (滋養強壮)、ホルモンバランスにも関与し、さらにコレステロール低下作用など生活習慣病と関連性の高い脂質代謝の改善作用を示すことも報告^{2), 3)}されている。

そこで、本研究ではジネンジョ中に含有されるディオスゲニンがラットの脂質代謝にどのように関与するかについてラットへのジネンジョ投与と併せ、ディオスゲニンそのもの (市販精製品) を投与する実験の遂行によって、両者間における脂質改善効果について比較・検討することを目的とした。

実験方法

1. ジネンジョ凍結乾燥品の調製

* 食物栄養学科：博士前期課程修了生、** 愛知県総合農業試験場山間農業研究所園芸グループ

既報¹⁾に準じ、生イモを皮付きのままスライスしたあと、ナス型フラスコへ入れて一晩-85℃で凍結後、凍結乾燥機 (EYELA FDU-2100, 東京理化製) を用い、調製した。その後、ミルにて粉碎し、実験に用いるまで-30℃で冷凍保存した。

2. 飼育条件

生後6週齢 (体重160~180 g) のWistar系 雄ラット (日本エスエルシー (株) 浜松市) 30匹をディオスゲニン投与群 (以下, Dios) とジネンジョのみ投与群 (以下, Jin) に大別し、さらにそれぞれコレステロール非負荷とコレステロール負荷 (以下, C-Dios, およびC-Jin) とに分けた。あわせて各々の対照群 (以下CRLおよびC-CRL) の1群5匹ずつの6群に分けた。各群の飼料組成は、表1に示したとおりである。飼育は各群ステンレス製の個別ケージを用い、5日間の予備飼育後、試験食投与を開始した。飼育期間中、週2回の体重測定、飲水は自由摂取とした。また、飼料摂取量は毎日の残存量を差し引いて求めた。飼育環境は、室温23±1℃、相対湿度55±5%、12時間採光下 (7:00 a.m.~7:00 p.m. 明所) の条件下で21日間飼育した。なお、ラットの飼育は、「名古屋女子大学動物実験指針」に従い、名古屋女子大学動物実験委員会の承認を得て行った。

表1 各群ラットの飼料組成 (%)

	Chol非負荷			Chol負荷		
	CRL群	Dios.群	Jin.群	C-CRL群	C-Dios.群	C-Jin.群
カゼイン ¹	25	25	22.2	25	25	22.2
コーンオイル ²	9	9	9	9	9	9
セルロース ¹	4	4	4	4	4	4
ミネラル混合 ³	4	4	4	4	4	4
ビタミン混合 ⁴ (AIN-76)	2	2	2	2	2	2
コーンスターチ ¹	56	54	32.18	55.38	53.38	32.18
ジオスゲニン ⁴	—	2	—	—	2	—
ジネンジョ ⁵ (真空凍結乾燥粉末)	—	—	26	—	—	26
コレステロール ²	—	—	—	0.5	0.5	0.5
コロールNa ²	—	—	—	0.125	0.125	0.125

1.日本クレア(株)東京

2.和光純薬工業(株)東京

3.ハーバーミネラル配合

4.オリエンタル酵母(株)東京

5.愛知県農業総合試験場

3. 臓器の摘出と血清分離

ラットは飼育終了後、10時間絶食し、軽いエーテル麻酔下で解剖、採血し、肝臓および腹腔内 (腎臓、睪丸周囲および腹側壁) 脂肪を摘出し、湿重量を測定後、体重100 g当たりの体重比として算出した。肝臓は生理食塩水で洗浄後、-85℃で保存した。

血液は、採血後30分間室温に静置し、3000r.p.m.で10分間遠心分離 (KUBOTA 5200) の上清を血清サンプルとし、以下の実験に用いた。

4. 血清および肝臓脂質成分の分析

血清トリグリセライド (以下, TG) は、トリグリセライドE-テストワコー (酵素法)、総コレステロール (以下, T-Chol) はコレステロールE-テストワコー (酵素法)、および高比重リポタンパク質コレステロール (以下, HDL-Chol) は、和光純薬製の臨床キットを用い、測定した。

肝臓脂質はFolchの方法⁴⁾に準じ、クロロホルム:メタノール (v/v 2:1) 混液で抽出後、総脂質は重量法で、TGおよびT-Cholは、加温 (65~70℃) して溶媒を蒸発乾固した後、血清と同様の臨床キットを用い、それぞれ測定した。

5. 糞排泄量および糞中脂質成分の分析

飼育最終週の3日間における24時間の蓄糞を行った。

各群別に濾紙 (TOYO濾紙No.2) 上に採取し、3日間風乾後、糞排泄量を記録し、測定ま

で-85℃ (SANYO MDF-192) で保存した. 糞中コレステロール量は, これを粉碎後, 臨床キットによって測定した. 胆汁酸排泄量については, 総胆汁酸テストワコー (和光純薬製) を用いて測定した.

6. 統計処理

得られたデータは, Dancanのmultipul range testにより各群間の有意差 ($p < 0.01$) 検定を行った.

結果

1. 飼育期間中の平均飼料摂取量と体重の変化

平均飼料摂取量は, Chol非負荷のCRL群, Dios群, Jin群ならびにChol負荷したC-CRL群, C-Dios群, C-Jin群のいずれの群間にも有意差はみられなかった. また, 体重変動も同様で有意差はなく, いずれの群も順調に生育した. (図1-A, B)

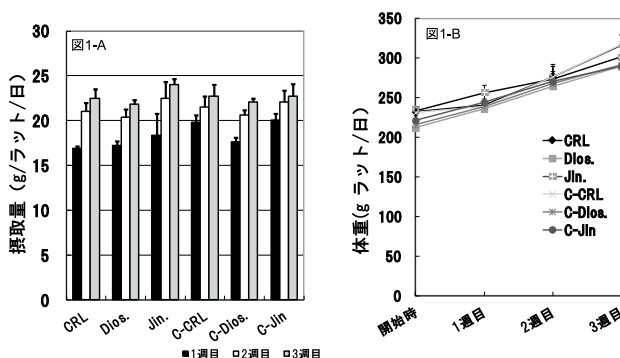


図1 ラットの飼料摂取量および体重変動
値は平均値±SE (n=6)

2. 血清脂質成分への影響

血清TG濃度 (mg/dl) は, Chol非負荷のCRL群に比べてJin群では低下傾向を示したが, Dios群は, Jin群の約2倍と有意な増加みられた. Chol負荷の場合では, C-CRL群 58.7 ± 11.1 mg/dlに対し, C-Dios群 50.3 ± 1.8 mg/dl, C-Jin群 45.3 ± 6.3 mg/dlとなり, C-CRL群よりも減少した. (図2) 血清T-Chol濃度 (mg/dl) はC-CRL群 79.7 ± 3.9 mg/dlに対し, C-Dios群 104.3 ± 5.4 mg/dlと1.3倍の高い濃度 ($p < 0.01$) であった. もう一方のC-Jin群

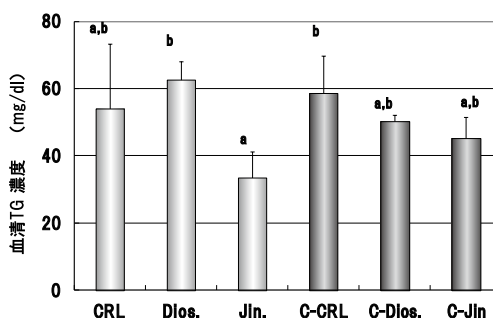


図2 血清トリグリセリド (TG) への効果
値は平均値±SE (n=6), 異文字間で有意差 ($p < 0.01$) 有り

では $43.0 \pm 10.2 \text{ mg/dl}$ と顕著な低下 ($p < 0.01$) が見られた. 血清 HDL-Chol濃度 (mg/dl) は, C-CRL群 $52.0 \pm 3.5 \text{ mg/dl}$ に比べて, C-Dios群で $65.3 \pm 1.8 \text{ mg/dl}$ と増加し, Chol非負荷のCRL群と比較すると, Dios群, Jin群ともに1.2倍~1.4倍にも上昇した. さらに, HDL-Chol/T-Chol比では, C-CRL群0.58, C-Dios群0.63, C-Jin群0.63とChol負荷した場合でも高い傾向がみられ, Chol非負荷のDios群も0.72で, 総コレステロール中でのHDL-Cholの割合は高くなる傾向が認められた. これまでの繰り返しの実験結果でも少なくとも低下はみられなかった. (図3, 図4)

3. 肝湿重量および肝臓脂質への影響

Chol負荷した場合の腹腔内 (腎臓, 睪丸周囲および腹側壁) 脂肪量は, C-CRL群に比べ, C-Jin群とC-Dios群とで減少した. 肝湿重量はChol負荷の有無にかかわらず, Dios群およびC-Dios群ともに顕著な増加が観察された. そこで肝臓の総脂質についても測定した結果, Chol負荷群では増加したが, 群間中ではC-Dios群が最少で, 次いでC-Jin群の順に低下傾向を示した. (図5-A, B) 肝TG濃度 (mg/dl) は, Chol負荷ではC-Jin群が $34.1 \pm 1.9 \text{ mg/dl}$ と最低で, 次いでC-Dios群 $50.7 \pm 4.0 \text{ mg/dl}$ の順とC-CRL群の約1/2の低値となった. T-Chol濃度 (mg/dl) においてもC-CRL群 $30.3 \pm 5.8 \text{ mg/g}$ に比べ, C-Dios群 $11.3 \pm 1.0 \text{ mg/g}$, C-Jin群 $22.3 \pm 3.9 \text{ mg/g}$ となり, C-Jin群およびC-Dios群で有意 ($p < 0.01$) な低下を確認した. (図6-A, B)

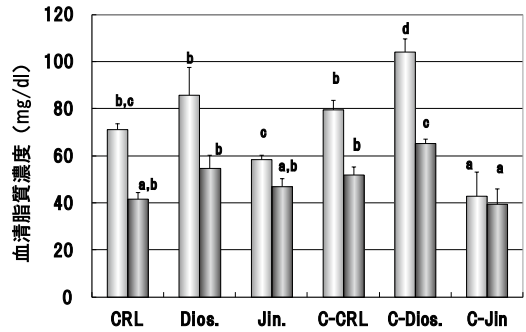


図3 血清脂質 (T-Chol, HDL-Chol.) への影響
値は平均値±SE (n=6), 異文字間有意差 ($p < 0.01$) 有り

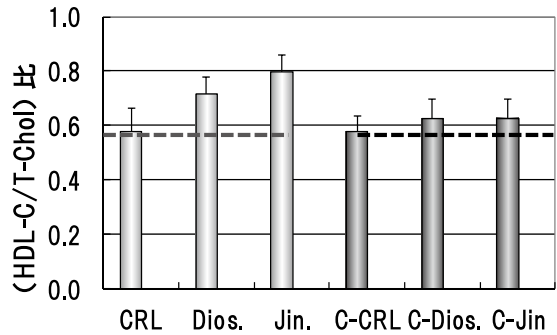


図4 HDL-C/T-Chol比の群間比較
値は平均値±SE (n=6)

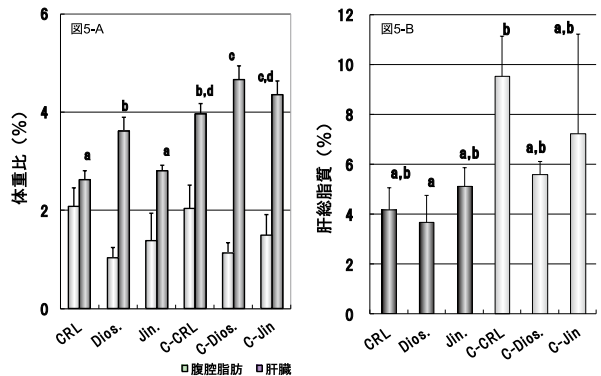


図5 腹腔内脂肪及び肝臓総脂質への影響
値は平均値±SE (n=6), 異文字間有意差 ($p < 0.01$) 有り

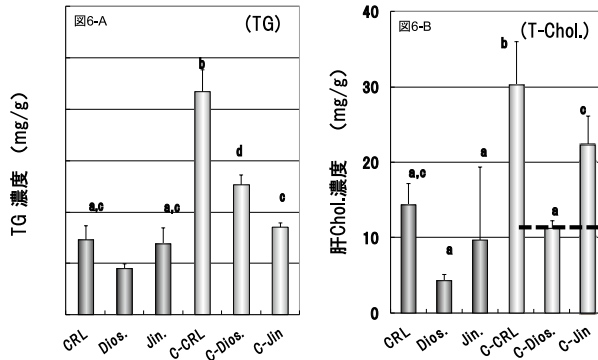


図6 肝臓脂質 (TG, T-Chol) の群間比較
値は平均値±SE (n=6), 異文字間で有意差 (p<0.01) 有り

4. 糞中コレステロールおよび糞中胆汁酸への影響

糞中コレステロール排泄量 (mg/g) は, Chol負荷の有無にかかわらず, 糞排泄量の多かった Jin群 2.6 ± 0.6 mg/gおよびC-Jin群 4.9 ± 0.6 mg/gよりも Dios群 4.6 ± 0.2 mg/g, C-Dios群 6.8 ± 0.2 mg/gとディオステゲニン群での増加が顕著であった. また, 糞中胆汁酸排泄量 (mg/g) については, Chol負荷のC-Jin群が 14.3 ± 0.1 mg/gと最低値を示し, 次いでC-Dios群 23.7 ± 1.4 mg/gの順となり,

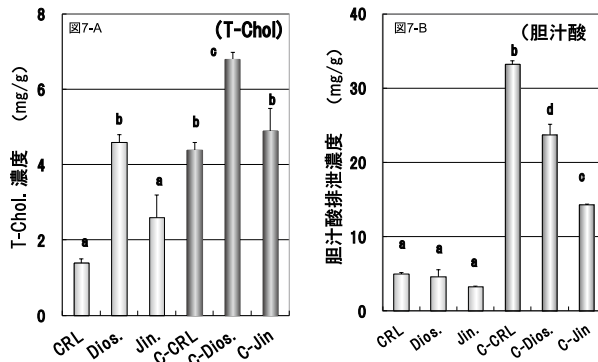


図7 糞中コレステロール および 胆汁酸濃度の群間比較
値は平均値±SE (n=6), 異文字間で有意差 (p<0.01) 有り

C-CRL群に比べて低下した. (図7-A, B)

考 察

飼料摂取量ならびに飼育期間中の体重変動は, 群間に有意な差は認められず, いずれの群も順調に生育した. 血清脂質への影響では, Jin群においてT-Chol, TGの有意な低下が認められ, T-Cholの低下では (HDL-Chol/T-Chol) 比の低下はみられず, むしろ上昇傾向がみられた. また, 血清HDL-Cholは, C-Dios群がC-CRL群の約1.3倍と最大値で, (HDL-Chol/T-Chol) 比では,

C-Dios群とC-Jin群ともC-CRL群に比べて増加の傾向を示し、いずれもジネンジョ中の有効成分との関与が示唆された。この植物ステロールの一種であるディオスゲニンについて、Temelら^{5), 6)}は、HDL-Chol上昇作用ならびにHMG-CoA還元酵素の活性の増大作用について報告している。今回投与(2%)した市販のディオスゲニン(和光純薬製)の吸収効率については不明だが、血清総コレステロール測定キット試薬との反応性(コレステロールの約20%相当)についても確認したことから、このキット試薬による測定値にはプラスの誤差の影響も考えられ、血清T-Chol濃度についても増加傾向の一因になっている可能性もあると推察している。

肝臓脂質成分への影響については、解剖時における腹腔内(腎臓、睾丸および腹側壁)脂肪量から、ディオスゲニン投与ならびにジネンジョ投与で減少傾向が観察され、これらを投与なしの場合と比較すると体脂肪の蓄積が抑制されていると考えられる。

腹腔内(腎臓、睾丸および腹側壁)脂肪量が、ことに群間で低値であったディオスゲニン投与では、体重あたりの肝臓湿重量(g)が増加していたにもかかわらず、肝臓脂質の低下が顕著であり、ジネンジョ投与の50%まで低下した。また、TGならびにT-Cholについてもディオスゲニン投与で有意($p < 0.01$)に低下したことから、腹腔内脂肪量の低減と同様、肝臓への脂肪蓄積抑制効果のあることが示唆された。これらのことは、コレステロール負荷の有無にかかわらず、ディオスゲニン投与の糞中Chol排泄量がCRL群およびC-CRL群よりも有意($p < 0.01$)に高かったことから推察できる。

糞中のT-Chol排泄量ではC-Jin群がC-CRL群の2.4倍、C-Dios群はC-CRL群の3.4倍といずれも高値を示し、ステロールの排泄促進効果が確認された。Temelら^{5), 6)}によれば、ディオスゲニンはコレステロールの糞中排泄量を増大させると報告しており、本実験でも同様の結果が得られた。しかし、糞中胆汁酸の排泄量については、ディオスゲニン投与でC-CRL群の約80%と低値であり、コレステロールから胆汁酸への合成抑制との関連性も考えられる。山口ら⁷⁾によると、ディオスゲニン投与のラットでは、ディオスゲニンは肝細胞膜と胆汁の脂質組成を変化させることで胆汁酸量を増加させるが、胆汁酸の分泌量は変化させないとも報告している。このようなことから、今回ラット糞中への胆汁酸排泄量が少なかったのは、ディオスゲニンが胆汁酸の分泌量の増加にはつながらない結果によるものと考えられるが、未だ不明のまま残された。本実験ではジネンジョおよびジネンジョに含まれるディオスゲニンの脂質代謝の改善作用に対する有効性と再現性について比較・検討したが、ジネンジョ投与による血中の脂質濃度の低下ならびに肝臓脂質や腹腔内脂肪蓄積の抑制効果を有するものと考えられた。ただ、ディオスゲニンやレジスタントスターチの効果に関しては、飼育期間の延長化によって、さらにその有効性が確認されるという報告例⁸⁾もあり、本研究で試みた飼育期間(21日間)はやや短かったことも問題点の一つとして考えられた。また、ジネンジョやディオスゲニンの投与量についてもさらに検討が必要であると考えている。

要 約

生後6週齢のWistar系雄ラット(30匹)を用い、ジネンジョ投与のラットと併せ、新たな生理機能報告例のあったディオスゲニン(市販、和光純薬製)の脂質代謝改善への効果について比較・検討した。

1) 血清脂質:T-Chol濃度は、コントロール群よりも1.2倍の上昇がみられた。これは、ディ

オスゲニンがステロール環を有することからキット試薬ともプラス (+) の反応性がみられ (約 20%) たことに起因しているのではないかと推察した。一方, HDL-Chol比 (総コレステロールに対して) では, ジネンジョ群と同様にディオスゲニン群でも増加傾向となった。

2) 肝臓脂質・糞中脂質: 肝臓の (湿重量/体重) 比が有意 ($p < 0.01$) に高値であったにもかかわらず, 肝臓の総脂質は, コントロール群の約60%と低下し, 脂質蓄積への抑制効果が示唆された。また, 腹腔内 (腎臓, 睪丸周囲および腹側壁) 脂肪量についても ディオスゲニン群が最低値となった。さらに糞中Chol排泄量では, コントロール群に比べディオスゲニン群で有意な増加がみられ, これらの結果, 肝臓総コレステロール量の低減化をもたらしたと考えた。

謝 辞

最後に, 本研究にあたり, 栽培種ジネンジョの提供ならびにご助言を賜りました愛知県農業総合試験場, 山間農業研究所園芸グループの方々に深謝いたします。

また, 実験にご協力いただきました本学食物栄養学科食品学ゼミナール生の荒川聖子, 小澤佳奈子, 片岡あずさ (平成21年度卒) さんらならびに上田典穂, 竹内芳和里, 水野由加里 (平成22年度卒) さんらに感謝の意を表します。

なお, 本研究の一部については日本食品科学工学会第58回大会 (2011年9月, 東北大) において口頭発表した。

文 献

- 1) 竹内若子: ジネンジョ塊茎の機能性成分とその品種間差異, 名古屋女子大学紀要 (家政・自然編), **55**, 31-38 (2009)
- 2) 村木悦子, 千葉大成: 香辛料Fenugreek Seedの生活習慣病予防および改善効果機序に関する研究 浦上財団研究報告書, **15**, 75-88 (2007)
- 3) 村木悦子, 松岡知里, 及川璃奈, 佐藤しのぶ, 千葉大成, 角田伸代, 加園恵三: フェヌグリークは正常ラットの脂肪蓄積抑制に関与する 日本栄養・食糧学会誌, **64** (2), 99-104 (2011)
- 4) Folch J., Lees M., Sloane Stanley GH.: A Simple method for the isolation purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol Chem* **226**, 497-509 (1957)
- 5) Ryan E. Temel, J. Mark Brown, Yinyan Ma, Weiqing Tang and Lawrence L. Rudel et. al.: Diosgenin stimulation of fecal cholesterol excretion in mice is not NPC1L1 dependent, *Journal of LIPID RESEARCH*, **50** (5), 915-923 (2009)
- 6) Uemura Taku: Studies on mechanisms of ameliorative effects of fenugreek on obesity-associated abnormalities in glucose and lipid metabolism. Thesis or Dissertation (2010)
- 7) 山口 厚, 田妻 進, 三浦弘之ら: ジオスゲニン (植物ステロール) に利胆効果とその機序に関する検討—ラット肝毛細胆管膜脂質組成および膜流動性と局在輸送蛋白の発現に着目して—肝臓**42**巻 Supplement 1号, 第37回日本肝臓学会総会講演要旨, p242 (2001)
- 8) 奥 恒行, 小西史子, 細谷憲政: ラットの生理機能におよぼす難消化性多糖類の性状ならびに 飼育期間の影響, 栄養と食糧, **34** (5), 437-443 (1981)

