

ジャンボリーキが病態モデルラットへの血糖値
および肝機能に及ぼす影響について

内田あゆみ, 陶 慧, 荻原 淳, 松藤 寛, 太田恵教, 櫻井英敏

ジャンボリーキが病態モデルラットへの血糖値 および肝機能に及ぼす影響について

内田あゆみ[§], 陶 慧*, 荻原 淳*, 松藤 寛*, 太田恵教**, 櫻井英敏*

(株)わだまんサイエンス (日本大学生物資源科学部大学院研究生)

* 日本大学生物資源科学部

** (株)TTC (顧問)

Effects of Jumbo Leek on Blood Glucose Level in Streptozotocin-induced Diabetic Rats and Liver Damage in Acetaminophen-treated Rats

Ayumi Uchida[§], Tao Kei*, Jun Ogihara*, Hiroshi Matsufuji*,
Shigenori Ohta** and Hidetoshi Sakurai*

Wadaman Science Co., Ltd., 546 Karasuma-Oike agaru, Nijoden-cho, Nakagyo-ku, Kyoto 604-0845

* Nihon University College of Bioresource Sciences, 1866 Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-8510

** TTC Co., Ltd., 1-20-2 Ebisunishi, Shibuya-ku, Tokyo 150-0021

To investigate the physiological function of a high content of inulin in jumbo leek, the effects of freeze-dried, odorless jumbo leek with an inulin content of 60% (PSII) on the blood glucose level and biochemical markers in blood in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats and the liver damage in acetaminophen (AAP)-treated rats were studied. In the first experiment, rats were fed PSII for two weeks following a one-week STZ (60 mg/kg) treatment. Oral glucose tolerance tests (OGTTs) were performed on days 7 and 14. Biochemical markers in blood were measured on day 14. In the second experiment, rats were fed PSII for two weeks and then administered AAP (500 mg/kg). After 24 h, liver-damage markers and the activities of blood aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) were measured and a histopathological examination of the liver was performed. In the first experiment, the elevation of blood glucose level in OGTT was suppressed by feeding rats 8.3 g PSII (5 g inulin)/kg per day. Among the biochemical markers, total cholesterol and triglyceride levels rose in STZ-treated rats compared with control rats. PSII fed to STZ-treated rats lowered these two marker levels below those of the control rats. AST and ALT activities tended to decrease, suggesting that PSII ameliorated liver damage. In the second experiment, AST and ALT activities as well as the histopathological examination of liver confirmed that PSII (2 g/kg per day) protected rats from liver damage before AAP treatment.

(Received Mar. 5, 2008 ; Accepted Aug. 8, 2008)

Keywords : acetaminophen, diabetes, garlic, leek, streptozotocin

キーワード :

2001年迄、無臭ニンニクと呼ばれていた天然ニンニク様植物は、有賀ら¹⁾によりその染色体数が $2n=32$ であることからジャンボリーキ (大粒ニラネギ, *Allium ampeloprasum* L.) と改名された。このユリ科ネギ属のジャンボリーキは、形態がニンニクに類似し、摩砕により、微量のタマネギ臭と、多量の泡を発生するのが特徴である。

既に著者らはジャンボリーキの乾燥粉末をラットに摂取させることにより、血中の中性脂肪、総コレステロールおよびLDL-コレステロールが低下し、脂質低下作用を有することを確認している²⁾。抗酸化作用に関しても、染色体DNAが酸化ストレスを受けて生じる8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) の生成がジャンボリーキ粉末の摂取により抑制されることを、健康人を対象としたプラセボ対照二重盲検試験で確認している³⁾。また生体防御作用に関しても、マウスを用いてジャンボリーキ粉末が好中球増加作用やマウス腹腔マクロファージ培養系を用いてマク

[§] 〒604-0845 京都市中京区烏丸御池上る二条殿町 546

* 〒252-8510 神奈川県藤沢市亀井野 1866

** 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西 1-20-2

[§] 連絡先 (Corresponding author), ayumi_u@mue.biglobe.ne.jp

表 1 STZ 処理後の血糖値と PSII 投与中の体重の変化

投与群	動物数	群分け時血糖値 (mg/dL)	体重 (g)		
			投与前	投与 7 日目	投与 14 日目
CT	5		339±2	358± 3	375± 3
STZ-CT	7	288.9	249±5	235± 7	228± 8
STZ-PSII (0.5)	7	300.9	258±6	250± 7	248±10
STZ-PSII (1.0)	7	285.7	250±8	248±12	244±16
STZ-PSII (2.0)	7	289.6	264±3	258± 4	254± 2
STZ-PSII (4.0)	7	284.6	256±4	253± 5	245± 7
STZ-PSII (8.3)	7	291.4	255±6	248± 7	236± 8
STZ-INU	7	301.4	255±6	241± 7	236± 9

ロファージ増殖誘導作用などを観察している⁴⁾。

ジャンボリーキ乾燥粉末はフラクトースを構成単位とする多糖類であるイヌリンを 60% dry wt (10~15% wet wt) 含んでいる。イヌリンは多くの食用植物に含まれており、通常のニンニクもイヌリンを他の野菜に比較して 9~16% wet wt と多く含んでいる⁵⁾。イヌリンの工業的製造の原料植物としては、サラダとして食用されるチコリが主に利用され、含量も 15~20% wet wt と高い^{5)~7)} (表 1)。

最近、イヌリンおよびその酵素分解物であるオリゴフラクトースは腸内でビフィズス菌や乳酸菌の生育を促進するプレバイオティクス (prebiotics) としての有用性と共に、動物試験で脂質低下作用や血糖低下作用を有することが明らかにされ、メタボリックシンドロームを対象とする機能性食品として注目されている^{5)~9)}。またストレプトゾトシン (STZ) で誘発したラットの糖尿病モデルを用いて、STZ による膵臓のインスリン産生機能の障害の結果として生じる血中インスリンの低下による血中グルコースの上昇が、オリゴフラクトースの摂取により抑制されることが観察されている¹⁰⁾。しかし、ジャンボリーキに関しては、STZ 誘発糖尿病ラットで血糖低下作用を確認した研究は報告されていない。

そこでイヌリン含量の多いジャンボリーキについて、STZ 誘発糖尿病ラットを用いて血糖低下作用検討試験を実施したため報告をする。

また著者らはこの試験に用いた STZ 投与ラットにおいて、血糖低下作用以外に、ジャンボリーキ乾燥粉末投与による肝障害の保護作用を示唆する結果を得た。そこであらたに別の試験系としてラットにジャンボリーキ粉末乾燥粉末投与後、鎮痛剤アセトアミノフェン (AAP) を投与し、AAP による肝障害発生に対するジャンボリーキ乾燥粉末の保護作用を検討したので、これらの結果を合わせて報告する。

実験方法

1. 被験物質

被験食品物質としてジャンボリーキ乾燥粉末「ムシュー

リックパウダー PSII」(以下、PSII と略す;ヘルスウェイ製品)を使用した。これはジャンボリーキの鱗片を粉砕し、90℃で 30 分加熱処理後、凍結乾燥、粉碎および篩分して得られた乾燥粉末である。炭水化物含量は 74.6% で、イヌリン含量は 60.0% dry wt である。PSII に含まれるイヌリンの重合度は 5~40 (平均重合度約 15) である。陽性対照物質として使用したイヌリンはフジ日本精糖から提供された酵素合成イヌリンで、その重合度は 16~17 である。

2. STZ 誘発糖尿病ラットに対する PSII の血中グルコース上昇抑制試験

(1) 使用ラットと飼育条件

ラットを使用した動物試験は「動物実験に於ける日本薬理学会指針」を遵守して行った。実験に使用したラットは STZ 誘発糖尿病モデルの実験動物として汎用されている Crl:CD (SD) IGS 系統の 8 週齢の特定病原菌フリーの雄ラットで、日本チャールス・リバーより入手した。6 日間の検疫・馴化期間後に体重が 303~332 g のラットを実験に使用した。飼育にはステンレス製ハンガーケージを使用し、検疫・馴化期間中は 2~3 頭/ケージ、STZ 投与後は 1 頭/ケージで収容した。飼育環境は温度 20~26℃, 相対湿度 40~70%, 換気回数 10~20 回/時間, 照明時間は 12 時間 (7:00~19:00) であった。飼料は放射線滅菌固形試料 FR-2 (船橋農場) を、飲料水は水道水を給水瓶により自由に摂取させた。体重は STZ 投与日、群分け日、被験物質投与開始日および 7 日目と 14 日目に測定した。

(2) STZ 誘発糖尿病ラットの作製

馴化終了日のラット 69 頭を 20 時間絶食させた後、STZ 12 mg/mL を含む 0.1 M クエン酸緩衝液 (pH 4.5) を STZ 投与量が 60 mg/kg bw になるように腹腔内投与して糖尿病を誘発させた。STZ 投与 7 日後の血糖値を測定し、血糖値が STZ 無投与の対照群よりも高く、糖尿病を発症していることを確認した。STZ は和光純薬工業から入手した。

(3) 試験群

ラット試験は 1 群を 7 頭とし 8 群で実施した。STZ 処理を行わないコントロール群を除く 7 群の群分けは、上記の STZ 投与 7 日後の血糖値を用いて各群の血糖値の平均が等

しくなるように群分けした。対照群はSTZも被験物質も投与しないコントロール群(CT)とし、STZ処理だけで被験物質を投与しないSTZコントロール群(STZ-CT)、STZ処理をして被験物質PSIIを体重1kgあたり1日0.5g、1.0g、2.0g、4.0gおよび8.3g投与した5つの群(STZ-PSII(0.5)、STZ-PSII(1.0)、STZ-PSII(2.0)、STZ-PSII(4.0)およびSTZ-PSII(8.3))と、STZ処理をし、PSIIの陽性対照物質としてイヌリン5.0g/kgを投与した群(STZ-INU(5.0))の8群である。PSIIはイヌリンを約60.0%含有しているので、STZ-PSII(8.3)はSTZ-INU(5.0)と同じく、イヌリンとして5g投与したことになる。PSIIは生理食塩水40mL中に上記の体重1kgあたりの投与量を含むPSII溶液量を1週間ごとに測定した体重より算出し、1日2回に分けて強制経口投与した。イヌリンは体重1kgあたり5gを上記と同様に投与した。CTおよびSTZ-CTにはこれらの代わりに生理食塩水を投与した。なお、投与開始日を1日目と起算した。

(4) 糖負荷試験

糖負荷試験は被験物質投与前日、被験物質投与7日目および14日目の3回実施した。負荷試験前日の13時から絶食させたラットに、前記の試験群に記載したPSIIまたはイヌリン溶液の2倍の濃度の溶液20mLとグルコース2gを含有する生理食塩水20mLを作成し、投与時に両溶液を混合し、体重から算出した投与量を強制経口投与した。投与前、投与後30分、60分、90分および120分の5回、尾静脈より血液を採取して血糖値を測定した。血糖値の測定はフリースタイルキッセイメーター(キッセイ薬品工業)を使用する酵素法にて行なった。

(5) 血液生化学的検査

STZ処理ラットに対するPSII投与の影響を調べるために、血液生化学検査を行った。

検査項目は、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラントランスフェラーゼ(ALT)、アルカリフォスファターゼ(ALP)、総蛋白(TP)、アルブミン(ALB)、アルブミン：グロブリン比(A/G)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、総ビリルビン(T-BIL)、血糖(GLU)、総コレステロール(T-CHO)およびトリグリセリド(TG)である。血液は14日目の糖負荷試験の終了後に腹部大動脈から採取し、各検査項目の測定は血液自動分析装置(日立メデックス製7170型)により実施した。

(6) 剖 検

採血後に全てのラットを開腹して胃の幽門部を結紮し、口から生理的食塩水3mLを流し込み、胃を膨らませた後、胃の噴門部を結紮して胃を摘出し、同時に肝臓も摘出した。摘出した胃と肝臓を中性緩衝ホルマリン溶液に15分間浸漬した後、胃を切開し、胃の内壁および肝臓の状態を目視により観察した。

3. AAP処理肝障害ラットに対するPSIIの肝障害保護試験

(1) 使用ラットと飼育条件

実験に使用したラットは肝障害試験に汎用されているWister系統の7週齢の特定病原菌フリーの雄ラットで、日本エスエルシーより入手した。8日間の検疫・馴化期間中に一般状態と体重増加から生育が順調なラット84頭を実験に使用した。飼育にはステンレス製ハンガーケージを使用し、2-3頭/ケージ収容した。飼育環境、飼料、および飲料水とその摂取法はSTZ誘発糖尿病ラットの場合と同様である。体重は1週間に2回測定した。

(2) 試験群

ラット試験は計7群で実施した。ラットは各群の体重の平均が等しくなるように12頭ずつ群分けした。7群は、AAPもPSIIも投与しないコントロール群(CT)、PSIIを投与しないで2週間後にAAP投与だけを行ったAAPコントロール群(CT-AAP)、PSIIを体重1kgあたり1日0.1g、0.25g、0.5g、1.0gおよび2.0gを2週間投与した後にAAPを投与した5つの群(PSII(0.1)-AAP、PSII(0.25)-AAP、PSII(0.5)-AAP、PSII(1.0)-AAPおよびPSII(2.0)-AAP)である。投与量は、STZ投与ラットでの試験ではPSIIに含有するイヌリン含量を目安に設定したが、本試験では通常ヒトが摂取する場合の推奨摂取量¹¹⁾を基準に設定した。CT群には生理食塩水を強制経口投与し、CT-AAP群にはカルボキシメチルセルロースNa(CMC)3gに注射用水を加え、全量を1Lとした0.3%CMC溶液を体重1kgあたり5mLを強制経口投与した。PSIIの投与は5mL中に上記の体重1kgあたりの投与量を含むように調製したPSIIの0.3%CMC溶液を調製し、1日1回に直近の体重に基づいて体重1kgあたりの投与量に相当する液量を強制経口投与した。

(3) アセトアミノフェン処理肝障害ラットの作製

PSIIを2週間連続投与した後にAAP500mg/kgbwを腹腔内に投与した。AAP投与には、AAPを0.3%CMC溶液に懸濁分散させ、5mL中にAAPが500mg含まれる分散液を調製し、投与前の体重に基づいてAAP500mg/kgbwに相当する液量の分散液を投与した。AAPは和光純薬工業から入手した。

(4) 肝障害の評価：血液生化学的検査

AAPを投与し、24時間絶食後にエーテル麻酔下で腹部大動脈から血液を採取した。血液をヘパリン添加処理後、1700×g、4°C、15minで遠心分離して得た血漿について、STZ誘発糖尿病ラットの場合と同じように血液生化学的検査をASTおよびALTの2項目について実施した。

(5) 肝障害の評価：病理組織学的検査

血液生化学的検査において有意な変化が認められたPSII2.0g/kgbw投与群(PSII(2.0)-AAP)およびAAPのみを投与した投与群(CT-AAP)について、採血後に肝臓を

摘出し、重量を測定した後、中性緩衝ホルマリン液で固定した肝臓の外側左葉について病理組織学的検査を実施した。

検査には肝臓外側左葉から作成した組織切片 (Hematoxylin Eosin 染色) を作成し、肝細胞の壊死および空胞変性を検査し、壊死および空胞変性の程度を以下の点数で表わした。

0 点: なし

1 点: 小葉中心帯または偽小葉内の限局性または軽度の壊死または空胞変性が主体を占めるもの

2 点: 小葉中心帯および中間帯または偽小葉内の中等度の壊死または空胞変性が主体を占めるもの

3 点: びまん性または偽小葉内の広範囲の壊死または空胞変性が主体を占めるもの

4. 統計学的方法

測定値は各群ごとに平均値±標準誤差で表した。

STZ 誘発糖尿病ラットに対する PS II の血中グルコース上昇抑制試験結果については、糖負荷試験の血糖値については各測定時間で、血液生化学的検査の各測定値については各検査項目で STZ-CT と STZ-PS II (0.5)~STZ-PS II (8.3) 間で Dunnett 多重比較検定を、STZ-CT と STZ-INU (5.0) 間で Student *t* 検定を行った。また STZ-INU (5.0) と STZ-PS II (0.5)~STZ-PS II (8.3) 間で Dunnett 多重比較検定を行った。有意水準は 5% および 1% に設定した。

AAP 処理肝障害ラットに対する PS II の肝障害保護試験結果については、血液生化学的検査結果について CT 群と CT-AAP 群で 2 群間の比較を行い、統計学的に有意な変化であったため、アセトアミノフェン投与に起因する肝障害が認められたと判断した。なお、2 群間には F 検定により分散に異質性が認められなかったため、Aspin-Welch の *t* 検定を用いた。CT-AAP, PS II (0.1)-AAP, PS II (0.25)-AAP, PS II (0.5)-AAP, PS II (1.0)-AAP および PS II (2.0)-AAP 6 群間について CT-AAP 群を対照とした Bartlett 検定により分散に異質性が認められたため、Dunnett 検定を行った。病理組織学的評点について CT-AAP 群に対する PS II 投与で AAP 処理した 5 群それぞれとの 2 群間比較を Student *t* 検定にて行った。有意水準は 5% および 1% に設定した。

統計解析には Excel 2003 および 2004 (マイクロソフト株式会社)、市販の統計プログラム SAS SYSTEM Ver. 8.02 (株式会社 SAS インスティテュートジャパン)、SAS 統計処理システム (株式会社住商情報システム) および EXSAS (ver. 7.14; 株式会社サイエンティスト社) を使用した。

実 験 結 果

1. STZ 誘発糖尿病ラットに対する PSII の血中グルコース上昇抑制作用

(1) STZ 処理による血糖値と体重の変化

STZ 処理をしていない CT 群の血糖値に比較して STZ

処理群の血糖値は大幅に上昇した。また CT 群では体重は期間を通じて増加し順調な生育を示したが、STZ 処理群では体重増加は期間中を通じて見られなかった。これらの結果より STZ 処理はラットに糖尿病を誘発していることが確認された。

(2) 糖負荷試験結果

糖負荷試験結果を図 1-1~1-3 に示した。PS II 投与開始前の糖負荷試験では CT 群を除いた PS II 無投与群、PS II 投与の 5 群およびインスリン投与群に血糖値の変化に差は認められなかった。PS II 投与開始後の 7 日目と 14 日目の試験結果はほぼ同じであった。STZ 処理群の糖負荷前の血糖値に関して、PS II 無投与群 (STZ-CT) の値は PS II 投与の 5 群およびインスリン投与群に対して有意な差は見られず、この結果は本実験の条件下においては、PS II には空腹時血糖値を低下させる作用はないことを示している。糖負荷後の血糖値に対する PS II の投与効果は低投与量では見られず、本試験の最大投与量である 8.3 g/kg 投与の 14 日目について糖負荷 30 分後に明らかな上昇抑制作用が観察された (図 1-3)。陽性対照のインスリン投与群でも 7 日目および 14 日目の糖負荷 30 分後に明らかな上昇抑制作用が観察された。また、各 PS II 投与群とインスリン投与群間には有意な差は認められなかった。

(3) 血液生化学的検査結果

血液生化学検査の結果を表 2 に示した。STZ 処理により肝臓機能の指標 (AST, ALT および ALP) はいずれも大幅に上昇し、肝臓は大きな障害を受けていた。PS II 投与により、AST および ALT では上昇が抑制されている傾向が見られたが、有意な効果ではなかった。

T-CHO と TG では STZ 処理による大きな変化はなかった。PS II 投与により T-CHO, TG ともに投与量依存的に低下し、有意差は認められなかったものの抑制傾向が見られた。また、PS II の 8.3 g/kg 投与群とインスリン投与群では STZ 無処理群よりも低い傾向を示した。GLU は STZ 処理により無処理群よりも大幅に上昇しており、これは STZ により糖尿病が誘発された結果である。BUN は STZ 処理により上昇し、STZ 処理は腎臓にも障害を与えていることが示された。なお、4.0 g/kg の PS II 投与により BUN の有意な上昇抑制が認められたが、投与量依存性はなく、統計処理上生じた結果と考えられる。その他の指標については注目する変化は観察されなかった。

(4) 剖検結果

STZ を投与しなかった対照群 (CT) では胃の内壁および肝臓ともに、異常は認められなかった。STZ を投与した全ての個体で胃の内壁に鬱血が認められたが、肝臓に異常は認められなかった。

2. AAP 処理肝障害ラットに対する PSII の肝障害保護作用

(1) 血液生化学的検査結果

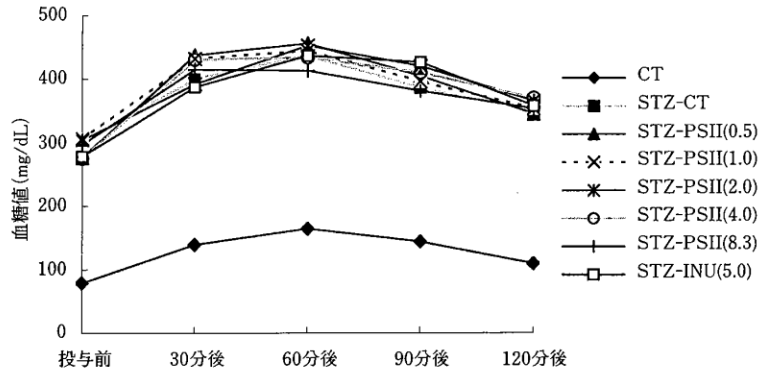


図 1-1 PSII投与前の糖負荷後血糖値変化

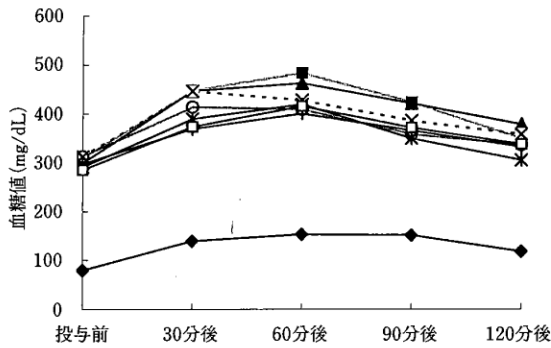


図 1-2 PSII投与7日目の糖負荷後血糖値変化

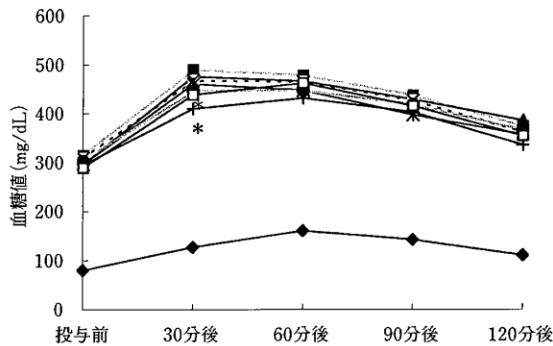


図 1-3 PSII投与14日目の糖負荷後血糖値変化

図 1 PSII投与前, 7日目, 14日目の糖負荷後の血糖値の変化

*; p<0.05 STZ-CT 群に対する Dunnett t test

血液生化学的検査の結果を図2に示した。AST値についてはCT群が66.4IU/Lであるのに対し、AAP処理のみのCT-AAP群では約12倍に上昇した。ALT値についてもCT群が43.2IU/Lであるのに対し、CT-AAP群でも同様

に約12倍に上昇し、AAP投与により肝障害が発症したことが確認された。AAP処理の2週間前からPSIIを投与した5群では、全体として見ると、AST値もALT値も用量依存的に低下し、2.0g/kgの投与群ではAST値もALT値

表 2 PSII 投与 14 日後の血液生化学的検査結果

投与群	動物数	AST	ALT	ALP	TP	ALB	A/G
		(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(g/dL)	(g/dL)	
CT	5	96± 7	33± 2	436± 44	5.6±0.0	2.6±0.0	0.9±0.0
STZ-CT	7	833±409	399±184	1813± 280	4.8±0.1	2.2±0.1	0.8±0.1
STZ-PS II (0.5)	7	1028±407	523±209	1913± 593	4.9±0.1	2.3±0.1	0.9±0.0
STZ-PS II (1.0)	7	822±348	354±153	1557± 226	4.9±0.1	2.0±0.1	0.7±0.1
STZ-PS II (2.0)	7	907±239	421±111	2040± 337	5.0±0.1	2.1±0.1	0.8±0.1
STZ-PS II (4.0)	7	455±207	218± 96	1389± 252	4.9±0.2	2.3±0.1	0.9±0.0
STZ-PS II (8.3)	7	603±224	258± 76	2330±1399	4.9±0.2	2.2±0.1	0.8±0.1
STZ-INU	7	1553±535	643±222	1190± 287	4.7±0.1	2.0±0.1	0.8±0.1

投与群	動物数	BUN	CRE	T-BIL	GLU	T-CHO	TG
		(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
CT	5	10.7±0.3	0.2±0.0	0.0±0.0	157± 3	47± 3	46± 8
STZ-CT	7	57.7±8.4	0.2±0.0	0.1±0.0	430±25	58±12	71±32
STZ-PS II (0.5)	7	39.6±4.2	0.2±0.0	0.1±0.0	471±25	61±11	85±32
STZ-PS II (1.0)	7	48.8±4.8	0.2±0.0	0.1±0.0	323±42	59±15	58±25
STZ-PS II (2.0)	7	42.3±3.4	0.2±0.0	0.1±0.0	421±17	44± 6	51±13
STZ-PS II (4.0)	7	37.5±4.5*	0.2±0.0	0.1±0.0	362±62	47± 7	42± 9
STZ-PS II (8.3)	7	43.7±5.3	0.2±0.0	0.1±0.0	338±54	32± 7	18± 4
STZ-INU	7	49.0±5.0	0.2±0.0	0.1±0.0	328±55	34± 5	24± 7

平均値±標準誤差

*: P<0.05; STZ-CT 群に対する有意差 (Dunnett 多重比較検定)

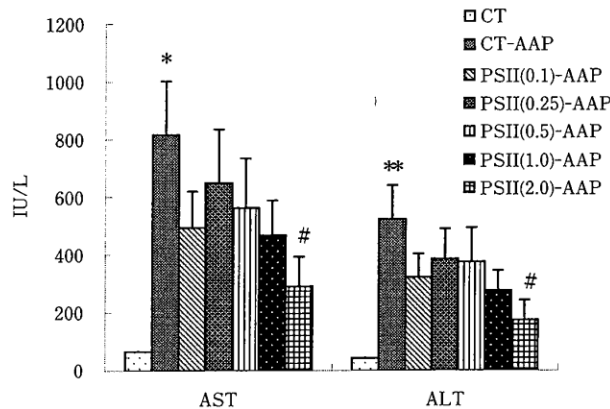


図 2 ラットのアセトアミノフェン肝障害試験結果, AST, ALT 数値

** ; p<0.01 CT 群に対する Aspin-Welch *t* test# ; p<0.05 CT-AAP 群に対する Dunnett *t* test

も CT-AAP 群に対してそれぞれ約 36% と約 35% になり、有意な低下が認められた。

(2) 病理組織学的検査結果

病理組織学的検査による肝障害の点数を表 3 に、病理組織写真を写真 1 に示した。PSII 無投与の CT-AAP 群では、小葉中心帯の肝細胞の壊死および空胞変性が全例で認められ、PSII を 2.0 g/kg 投与した PS (2.0)-AAP 群において

は、PSII 無投与群と比較して、小葉中心帯の壊死は有意な低値が認められ、小葉中心帯の空胞変性でも低値傾向が認められた。

考 察

本研究において PSII を STZ 誘発糖尿病ラットに投与することにより食後血糖値上昇と肝障害が抑制されること

表 3 ラットのアセトアミノフェン肝障害試験 病理組織学的評点

群	小葉中心帯の 肝細胞の壊死	小葉中心帯の 肝細胞の空胞変性
CT	0.8±0.1	0.7±0.1
PS II (2.0)-AAP	0.3±0.1**	0.3±0.1

** : p<0.01 0.3% CMC に対する有意差 (Student *t* test)

0 : なし

- 1 : 小葉中心帯又は偽小葉内の限局性または軽度の空胞変性あるいは壊死が主体を占めるもの
- 2 : 小葉中心帯及び中間体または偽小葉内の中等度の空胞変性あるいは壊死が主体を占めるもの
- 3 : びまん性または偽小葉内の広範囲の空胞変性あるいは壊死が主体を占めるもの

と、PS II を事前に投与することにより AAP 投与による肝障害発生が抑制されることが明らかになった。

PS II の主成分であるイヌリンに関しては、チコリ由来のイヌリンを酵素分解して得られるオリゴフラクトースを投与することにより STZ 処理ラットの糖負荷後の血糖値の上昇とインスリン濃度の低下が抑制されることと、空腹時血糖値には影響しないことが Cani 等により既に報告されている¹⁰⁾。本試験でジャンボリーキの乾燥粉末も同様の血糖値低下作用を有することが確認された (図 1)。ニンニクは血糖値低下作用を有し、この作用の主な関与成分はオイルであることが知られている¹²⁾。PS II の血糖低下作用の関与成分についてもニンニクと同様にオイル成分が血糖低下作用の原因物質である可能性もある。しかし、ニンニク



写真 1 試験後の肝臓の病理組織学写真

のオイル成分はいくつかの報告で空腹時血糖値の低下を認めており¹²⁾、PS II はチコリイヌリンから得られたオリゴフラクトースと同様に空腹時血糖低下作用を示さなかったことから、PS II の糖負荷後の血糖値上昇抑制作用の主な活性成分はイヌリンであると考えられる。

イヌリンの血糖値上昇抑制作用は腸内でイヌリンやオリゴフラクトースが腸内細菌により資化されて短鎖脂肪酸が生じ、この短鎖脂肪酸により腸内分泌細胞が刺激されてプログルカゴンの産生が促進され、このホルモン前駆体からグルカゴン様ペプチド-1 (7-36) アミド (GLP-1) が生じ、この GLP-1 が膵臓のインスリンの産生を促し、インスリンの血中濃度が上昇し、血糖値の低下をもたらされること¹³⁻¹⁵⁾、さらに GLP-1 は STZ により障害を受けた膵臓の細胞の再生や回復を促進すると考えられている¹⁰⁾。

本研究で認められた PS II の STZ 処理ラットにおける血糖低下作用は Cani 等¹⁰⁾ のオリゴフラクトースの作用よりも弱い。この違いにはいくつかの原因が考えられる。それらは糖尿病誘発のための STZ の投与量、イヌリンの重合度、イヌリンの投与量、イヌリンの投与期間等である。先ず STZ の投与量について比較すると、本実験では 60 mg/kg であるのに対して Cani 等の実験では 40 mg/kg であり、本実験の方が多い。STZ の投与量が多いと膵臓の障害はより重くなり、インスリンの産生と分泌は低くなり、またその回復には時間がかかり、インスリンの血中濃度の回復は遅くなり、血糖は高い状態が続き、イヌリンによる血糖低下作用は抑制されることになる。

イヌリンの重合度は体内での生理作用発現に大きな影響を与える。Cani 等の研究で使用されたオリゴフラクトースは重合度 2-7 である。平均重合度 4.5 のオリゴフラクトース、平均重合度 25.0 のイヌリンおよびこれらの等量混合物を用いてプログルカゴン、グルカゴン様ペプチド-1 (7-36) アミド (GLP-1) の産生を検討した研究で、プログルカゴン mRNA の産生促進作用はオリゴフラクトースが最も強く、特に大腸前部と中間部で高いこと、GLP-1 の産生促進作用もオリゴフラクトースが最も高く、次に等量混合物で高重合度 (25.0) のイヌリンでは弱いことと、産生は盲腸と大腸前部で多い現象が報告されている¹³⁾⁻¹⁵⁾。低重合度のイヌリンは主として盲腸と大腸前部で腸内細菌による発酵を受けるが、重合度の高いイヌリンは大腸後部で発酵されることが影響していると考えられている。リーキ種のイヌリンの重合度は 2-23 であることが報告されている⁹⁾。近縁種であるニンニクの鱗茎に含まれるイヌリンの重合度も生育時期によって異なるが、9 月から 10 月に最も高く、約 50 に達する¹⁶⁾。PS II のイヌリンの重合度は 5-40 (平均重合度約 15) であり、オリゴフラクトースの重合度 2-7 (平均重合度 4.5) よりもかなり高い。この違いが PS II の血糖上昇抑制作用がオリゴフラクトースよりも弱い原因の一つと考えられる。陽性対照物質として用いたイヌリンの重合度は

16-17 であり、この重合度もオリゴフラクトースの重合度より高く、このことが血糖上昇抑制作用はイヌリンがオリゴフラクトースよりも低く、PS II とほぼ同程度の作用を示した原因と考えられる。

イヌリンの投与量について比較してみた。著者らの実験で明らかな血糖低下作用が認められた PS II の投与量は 8.3 g/kg であり、これはイヌリンとして 5g/kg に相当する。Cani 等¹⁰⁾ の実験ではオリゴフラクトースを 10% 含有する飼料が自由摂取で投与されている。この実験結果と飼料のエネルギー含量等¹³⁾ から、1 日 kg あたりの投与量を推定すると、Cani 等の研究でのイヌリン投与量はわれわれの実験の投与量よりも約 50% 多い。この差も二つの結果の違いの原因の一つである可能性が高い。

本実験の PS II 投与期間は 2 週間であるのに対し、Cani 等の実験ではオリゴフラクトース投与 4 週間後に糖負荷試験を行っている¹⁰⁾。この投与期間の違いも二つの試験の結果の差の原因の一つである可能性がある。

STZ 処理によって肝臓は障害を受け、PS II は STZ によって障害を受けた肝臓の機能を回復する可能性がみられた (表 2)。さらに PS II を投与した後に AAP を投与すると、AAP による肝障害の発生が抑制された (図 2)。この抑制作用は病理組織学的検査によっても確認された (表 3 および写真 1)。この STZ による障害の回復作用はイヌリン投与では認められていないことから、これらの肝臓保護作用は PS II に含まれるイヌリン以外の成分による作用と考えられる。STZ による膵臓の障害発生の過程では、STZ によりスーパーオキシドラジカルやヒドロキシラジカル等の活性酸素種の生成反応が誘起され、これらの活性酸素種が障害発生の原因であることが知られている¹⁷⁾。肝臓の障害発生にも同様な反応が起こっていると考えられる。AAP による肝障害の発生機構に関しては明確な結論は出ていないが、活性酸素種や酸化窒素ラジカルが関与していることが明らかにされている¹⁸⁾。このように STZ も AAP もラジカルが関与する酸化反応により肝臓障害を引き起こすことから、PS II の肝障害に対する保護作用には PS II について我々が既に確認している抗酸化作用⁹⁾ が一因として考えられる。

PS II 投与後の血液生化学的検査の結果、TG と T-CHO は STZ 処理により上昇傾向を示し、この上昇は PS II 投与により投与量依存的に減少する傾向が認められ、高投与量では STZ 無処理の CT よりも減少する傾向が観察された (表 2)。正常なラットについてオリゴフラクトースは TG、リン脂質、コレステロール等の脂質の合成を抑制することが報告されている¹⁹⁾⁻²³⁾。本試験で観察された PS II による TG と T-CHO の低下は STZ 処理ラットに特有の現象ではなく、高脂血症ラットでも起こる現象であることを著者らは既に報告している²⁾。また、PS II のもつ肝障害抑制作用および肝機能改善作用によって脂質代謝悪化が抑制または

改善されたことも一因として考えられることから、PSⅡのTGとT-CHOの低下作用は特定の原因によるTGとT-CHOの上昇だけに限定されない有用な作用である可能性を示している。

本研究でPSⅡはイヌリンの機能として注目されている食後の高血糖抑制作用を有することが確認された。またPSⅡは肝障害の保護作用を有し、STZにより障害を受けた肝臓の回復作用と、AAPによる肝障害発生の抑制作用が明らかになった。この肝臓障害保護作用はイヌリン以外の成分による作用であることも明らかにされた。ジャンボリーキ中のイヌリンを酵素処理により低分子化したPSⅡの試作とその生理作用の評価、これらの作用のヒト臨床試験での評価ならびにイヌリンおよびオリゴフラクトースとの比較および肝障害保護作用の原因成分の同定は今後の課題である。

要 約

イヌリン含量の高いジャンボリーキの生理学的機能を調べるため、ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病ラットの血糖値および血液生化学的指標とアセトアミノフェン(AAP)投与により発生する肝障害に対するジャンボリーキの凍結乾燥粉末(イヌリン含量60%) (PSⅡ)の影響を検討した。最初の実験ではPSⅡをラットのSTZ(60mg/kg bw)処理の1週間後から、2週間投与した。糖負荷試験は7日目と14日目に行った。血液の生化学的指標は14日目に測定した。2番目の実験では2週間、PSⅡを投与した後にAAP(500mg/kg bw)を投与し肝障害を発生させた。投与24時間後に肝障害の指標である血中ASTとALTの活性を測定し、また摘出した肝臓の病理組織学的検査を実施した。

最初の実験の糖負荷試験において、1日あたり8.3g/kg(イヌリンとして5.0g/kg)のPSⅡの投与により食後血糖値の上昇は抑制されることが確認された。血液の生化学的指標において、総コレステロールとトリグリセリドはSTZ処理により上昇したが、PSⅡの投与によりSTZ無処理の値以下に低下した。またASTとALTの活性に低下傾向が観察された。第二の実験において、ASTとALTの活性は低下し、肝臓の壊死と空腔は抑制され、PSⅡの肝障害保護作用が確認された。

今回の試験にあたり、原料供給を頂きました(株)オサダの長田社長、大蔵製菓(株)、試験を担当下さいました、(株)TTCの臼井様、また日本大学生物資源科学部食品化学研究室、石塚様、宮澤様には、心よりお礼を申し上げます。

文 献

1) Ariga, T., Kumagai, H., Yoshikawa, M., Kawakami, H.,

- Seki, T., Sakurai, H., Hasegawa, I., Etoh, T., Sumiyoshi, H., Tsuneyoshi, T., Sumi, S. and Iwai, K., Garlic-like but odorless plant *Allium ampeloprasum* 'Mushuu-ninniku'. *J. Japn. Soc. Hort. Sci.*, **71**, 362-369 (2002).
- 2) 内田あゆみ, 安部 茂, ラット実験の高脂血症に対するニンニク加工食品(ムシューリックパウダー PSⅡ) 経口投与の効果, *応用薬理*, **61**, 163-167 (2001).
- 3) 吉内光夫, 内田あゆみ, 瀬野悟史, 榎本雅夫, ムシューリック® (*Allium sativum* LINNE Shiro) の抗酸化活性, *医学と薬学*, **46**, 365-370 (2001).
- 4) 内田あゆみ, 天然ニンニク様植物(無臭ニンニク)の生体防御機構の活性化作用, *FOOD Style* **21**, **2**, 45-48 (1998).
- 5) Loo, J.V., Coussement, P., Leenheer, L. D., Hoebregs, H. and Smits, G., On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **35**, 525-552 (1995).
- 6) 独立行政法人農畜産業振興機構「砂糖類情報」, Jan. 2001
- 7) Flamm, G., Glinsmann, W., Kritchevsky, D., Prosky, L. and Roberfroid, M., Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **41**, 353-362 (2001).
- 8) Kaur, N. and Gupta, A.K., Application of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J. Biosci.* **27**, 703-714 (2002).
- 9) Roberfroid, M.B., Introducing inulin-type fructans. *British J. Nutr.* **93**, S31-S25 (2005).
- 10) Cani, P.D., Daubinol, C.A., Reusens, B., Remacle, C., Catillon, C. and Delzenne, N.M. Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats. *J. of Endocrinol.*, **185**, 457-465 (2005).
- 11) 内田あゆみ, 長野産無臭ニンニク「ムシューリック」の機能について, *New Food Industry*, **44**, 22-31 (2002).
- 12) Liu, C.-T., Sheen, L.-Y. and Lii, C.-K., Does garlic have a role as an antidiabetic agent? *Mol. Nutr. Food Res.* **51**, 1353-1364 (2007).
- 13) Cani, P.D., Dewever, C. and Delzenne, N. M., Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br. J. Nutr.*, **92**, 521-526 (2004).
- 14) Delzenne, N.M., Cani, P.D., Daubioul, C. and Neyrinck, A. M., Impact of inulin and oligo-fructose on gastrointestinal peptides. *British J. Nutr.*, **93**, S157-S161 (2005).
- 15) Delzenne, N.M., Cani, P.D. and Neyrinck, A.M., Modulation of glucagon-like peptide 1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: experimental data. *J. Nutrition*, **137**, 2547S-2551S (2007).
- 16) Baumgartner, S., Dax, T.G., Praznik, W. and Falk, H., Characterization of the high-molecular weight fructan isolated from garlic (*Allium sativum* L.), *Carbohydrate Research* **328**, 177-183 (2000).
- 17) Szkudelski, T., The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cell of the rat pancreas. *Physiol. Res.*, **50**, 536-546 (2001).
- 18) Hinson, J.A., Reid, A.B., McCullough, S.S. and James, L. P., Acetaminophen-induced hepatotoxicity: Role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Met. Rev.*, **36**, 805-822 (2004).
- 19) Fiordaliso, M., Kok, N., Desager, J.-P., Goethals, F., Debooyer, D., Roberfroid, M. and Delzenne, N., Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins

- of rats. *Lipids*, **30**, 163-167 (1995).
- 20) Kok, N., Roberfroid, M., Robert, A. and Delzenne, N., Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. *Br. J. Nutr.*, **76**, 881-890 (1996).
- 21) Kok, N.N., Morgan, L.M., Williams C.M., Roberfroid, M. b., Thissen, J.P. and Delzenne, N.M., Insulin, glucagon-like peptide-1, glucose-dependent insulinotropic polypeptides and insulin-like growth factor I as putative mediators of the hypolipidemic effect of oligofructose in rats. *J. Nutr.* **128**, 1099-1103 (1998).
- 22) Delzenne, N.M. and Kok, N., Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **73** (Suppl), 456S-458S (2001).
- 23) Delzenne, N.M., Daubioul, C., Neyrinck, A., Lasa, M. and Taper, H.S., Inulin and oligofructose modulate lipid metabolism in animals : review of biochemical events and future prospects. *Br. J. Nutr.*, **87**, S255-259 (2002).
- (平成 20 年 3 月 5 日受付, 平成 20 年 8 月 8 日受理)
-