

アオモジ葉の機能性に関する研究～特に抗糖化性および抗炎症性について

研究年度 令和4年度

研究代表者名 古場 一哲

共同研究者名 松澤 哲宏、岡本恭子、川邊田晃司

I. はじめに

アオモジ (*Litsea cubeba*) は、クロモジ (*Lindera umbellata*) とともに、クスノキ科に属する植物である。クロモジは本州に自生する薬用植物で、これまでに抗菌・抗ウイルス作用、抗炎症作用などが知られ¹⁾、その効果を期待したのど飴やハーブティなどがすでに市販されている。一方、アオモジは国内では長崎県から佐賀県に自生する薬用植物であるが、その生理作用はよくわかっておらず利用もされていない。私たちは令和3年度の学長裁量教育研究費でアオモジ葉乾燥粉末を2%含む食餌を健常ラットに4週間与えたところ、血中の終末糖化産物の一つであるペントシジン濃度が低下し、アオモジ葉が抗糖化作用を有することを観察した²⁾。クロモジ葉でも類似の作用が観察された。一般に、生体内の糖化は糖尿病合併症をはじめ様々な老化関連疾患のリスクを増大させる危険因子と考えられている³⁾。そこで本研究ではアオモジ葉の摂取が血糖値が高い病態時でも抗糖化作用を示すのかをクロモジ葉と比較して調べた。また、アオモジの葉には、香気成分（テルペン類、ピネン類、アルデヒド類など）やポリフェノール類が含まれることも知られているため^{4,5)}、抗糖化に加え抗炎症性についても調べた。

II. 実験方法

長崎県から佐賀県にかけて自生しているアオモジ（今回は佐賀県太良町）の葉を採取し、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た。クロモジ葉は島根県山間部で採取し、同様に凍結乾燥後粉末化したものをクロモジ葉の試験試料とした。それぞれの一般成分組成は Table 1 の通りであった。

Table 1. 実験試料の一般成分組成 (%)

	クロモジ葉粉末	アオモジ葉粉末
水分	3.5	1.6
タンパク質	15.1	16.9
脂質	6.9	6.9
炭水化物	68.2	72.2
（糖質）	23.2	39.0
（不溶性食物繊維）	44.2	32.7
（水溶性食物繊維）	0.8	0.5
灰分	6.3	2.4

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⁶⁾ に準拠した純化食を対照食とした。対照食の2%をクロモジ葉粉末または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、クロモジ食、アオモジ食とした。

実験動物として、2型糖尿病モデル動物である KK-Ay マウス（4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3群に分け、各実験食を5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、マウスを6時間絶食させ、イソフルラン含む麻酔下でEDTA-2Na（1.86mg/mL）を25 μ L含むシリンジで、腹部大静脈より1mL採血した。採血した血液を遠心分離して上層の血漿を採取し、下層から赤血球サンプルを調製した。血漿は分析に使用するまで-80 $^{\circ}$ Cで保存した。

実験結果は、一元配置分散分析の後、Tukey-Kramerの多重解析法により統計的有意性（ $p < 0.05$ ）を検定した。

III. 結果および考察

Table 2に示すように、クロモジ葉およびアオモジ葉の摂取は飼育期間中の摂食量に影響しせず、終体重も各群間で違いはなかった。また、体重100gあたりの肝臓重量についてもクロモジ葉またはアオモジ葉の摂取の影響は認められなかった。

Table 2. 体重、摂食量および各組織重量

	群名		
	対照	クロモジ	アオモジ
初体重(g)	21.7 \pm 0.7	21.1 \pm 0.5	21.1 \pm 0.5
終体重(g)	36.5 \pm 1.3	36.5 \pm 0.5	37.8 \pm 0.6
摂食量(g/day)	5.62 \pm 0.24	5.73 \pm 0.37	5.23 \pm 0.25
肝臓重量(g/100g体重)	5.28 \pm 0.15	5.23 \pm 0.11	5.19 \pm 0.13

平均 \pm SE (n=6), 有意差なし.

血漿成分の分析結果をTable 3に示した。アオモジ葉およびクロモジ葉の摂取は、トリグリセリド、コレステロールおよびリン脂質の各血漿脂質濃度に影響しなかった。

血漿グルコース濃度はいずれの群も300 mg/dL以上の高値を示したが、群間の違いは認められなかった。血漿インスリン濃度も群間で違いはなかった。これらの結果は、前回の健常ラット（SD系オス）で認められた結果²⁾と同様であり、アオモジ葉およびクロモジ葉の血漿脂質濃度および血漿グルコース濃度への影響は小さいと考えられた。

前回の実験では、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、対照群に比べ、クロモジ群およびアオモジ群で有意に低かった²⁾が、今回の血糖値が高い状態ではそのような効果は認められなかった。前回の健常ラットで観察された抗糖化作用については、*in vitro*の実験系でも観察されている（結果未公表）。今回、抗糖化作用が認められなかった一因として、今回のKK-Ayマウスのような高血糖条件下で、アオモジ葉およびクロモジ葉の効果がマスクされた可能性が考えられた。

血中の別の糖化産物であるヘモグロビンA1c（HbA1c；糖化ヘモグロビン）の割合をTable 4に示した。一般に、血糖値が高いほどヘモグロビンに結合するグルコースも多くなるため、HbA1cは長期的な血糖値の平均レベルを反映する値として使用されるが、本研究では糖化の指標として測定した。その結果、対照群に比べ、クロモジ群では同程度、アオモジ群では対照群に比べ平均値で14%低い傾向であったものの有意差はなく、抗糖化作用は明確でなかった。

本研究では、炎症性マーカーとしてインターロイキン-6（IL-6）の血漿濃度を測定した（Table 4）。

IL-6は、炎症早期に産生されるサイトカインであるが、今回の結果では、対照群に比べクロモジ群もアオモジ群も同レベルの濃度で、今回の実験条件では炎症性に関しても影響は認められなかった。

また、血中の脂質過酸化物質濃度の指標として、チオバルビツール酸反応物質（TBARS）を測定した（Table 4）。TBARS濃度については、個体間のばらつきが非常に大きく、結論を得るには至らず、再確認が必要と考えられた。

なお本研究では、肝機能障害の指標となるトランスアミナーゼ（ASTおよびALT）の血漿中の活性も測定した。血漿ALT活性は対照群に比べ、クロモジ群およびアオモジ群で同程度であった。血漿AST活性も、個体間の値のばらつきが大きかったものの群間で有意差はなく、クロモジ葉、アオモジ葉ともに肝機能への悪影響は特に認められないと判断された。

Table 3. 血漿成分濃度

	群名		
	対照	クロモジ	アオモジ
トリグリセリド(mg/dL)	305 ± 36	295 ± 37	260 ± 25
総コレステロール(mg/dL)	97.5 ± 10.5	110 ± 5	93.4 ± 3.9
リン脂質(mg/dL)	234 ± 15	237 ± 11	209 ± 6
グルコース(mg/dL)	368 ± 30	338 ± 24	338 ± 19
インスリン(ng/mL)	1.33 ± 0.19	1.55 ± 0.44	1.10 ± 0.11
ペントシジン(ng/mL)	2.52 ± 0.37	3.25 ± 0.43	2.73 ± 0.39
IL-6(pg/mL)	20.7 ± 0.9	19.6 ± 0.6	19.2 ± 0.4
TBARS(mg/mL)	35.1 ± 10.1	37.2 ± 14.9	70.6 ± 26.8
AST(Karmen単位)	173 ± 85	80.7 ± 8.8	189 ± 59
ALT(Karmen単位)	22.8 ± 2.6	17.4 ± 1.1	23.2 ± 1.4

IL-6, インターロイキン-6; TBARS, チオバルビツール酸反応性物質;

AST, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ; ALT, アラニンアミノトランスフェラーゼ
平均 ± SE (n=6), 有意差なし.

Table 4. ヘモグロビンA1c(HbA1c)の割合

	群名		
	対照	クロモジ	アオモジ
HbA1c (%)	8.20 ± 1.11	7.98 ± 0.81	7.03 ± 0.95

平均 ± SE (n=6), 有意差なし.

以上のように、2型糖尿病モデル動物であるKK-Ayマウスを用いた摂食実験結果から、高血糖条件状態下において、アオモジ葉の抗糖化作用はマスクされ、抗炎症作用についても明確でないことが示された。血漿脂質濃度への影響も事実上なかった。このことから、アオモジ葉およびクロ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が示唆された。

IV. おわりに

本研究で、アオモジ葉の抗糖化作用および抗炎症作用は、2型糖尿病のような極端な高血糖状態ではマスクされることが示唆された。これらの作用はいずれもメタボリックシンドローム改善につながる作用であり、今後、アオモジ葉の機能の可能性を解明するためには、様々な食餌条件（高糖質食、高脂肪食など）や動物モデル（潰瘍性大腸炎モデル、老化促進モデルなど）で系統的に検討する必要がある。

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 (2022) 令和3年度長崎県立大学学長裁量研究成果報告書.
- 3) Yonei Y, Yagi M, Takabe W (2020) *Glycative Stress Res.*, **7**, 13-21.
- 4) Wang YS, Wen ZQ, Li BT, Zhang HB, Yang JH (2016) *J. Ethnopharmacol.*, **181**, 66–107.
- 5) Asakawa Y, Tomiyama K, Sakurai K, Kawakami Y, Yaguchi Y (2017) *J. Oleo Sci.*, **66**, 889-895.
- 6) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC (1993) *J. Nutr.*, **123**, 1939-1951.