

短報

大和マナに含まれる 3-ブテニルグルコシノレートおよびフェネチルグルコシノレートの食餌誘導性肥満モデルマウスでの効果

鷲田和人^{*1}・宮田光義^{*2}・小山智之^{*2}・矢澤一良^{*2}・西本登志・浅尾浩史・野本享資^{*1}

Effects of 3-Butenyl Glucosinolate and Phenethyl Glucosinolate on Obese Mice Induced by a High-Fat Diet

Kazuto WASHIDA^{*1}, Mitsuyoshi MIYATA^{*2}, Tomoyuki KOYAMA^{*2}, Kazunaga YAZAWA^{*2}, Toshi NISHIMOTO, Hiroshi ASAO, and Kyosuke NOMOTO^{*1}

Key Words: Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group), obesity, 3-butenyl glucosinolate, phenethyl glucosinolate, obese mice induced by a high-fat diet

大和マナ (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) は奈良県在来のツケナであり、主に、9月から4月にかけて栽培され、葉と花蕾が収穫される。しかしながら、葉が黄色くなり劣化する現象「黄化」しやすいこと、形の不均一さが流通上の問題であり、奈良県外への出荷が困難であった。それゆえ、これらの問題を克服するため、F₁ ハイブリッド育種の研究が進行中である¹⁾。

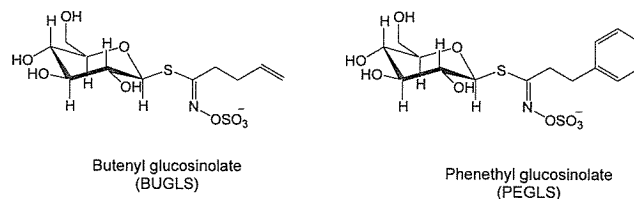
アブラナ科植物の主要な二次代謝産物としては、イソチオシアネートとその前駆体配糖体のグルコシノレートがよく知られている。グルコシノレートは、側鎖を持ったβ-チオグルコシド-N-ヒドロキシイミノサルフェートであり、安定な水溶性化合物である。しかしながら、その植物を傷つけたり、切断したりすることで内因性のチオグルコシダーゼ（ミロシナーゼ）によって、グルコシノレートはイソチオシアネートに変化する。イソチオシアネートの生理活性に関する研究は数多く報告されている⁵⁻⁶⁾。しかし、グルコシノレートの生理活性に関しては、持久力増強活性⁴⁾ や抗原虫活性³⁾ が報告されているが、まだ十分に研究されていない。

最近われわれは、大和マナ含有成分の 3-ブテニルグルコシノレート (3-butenyl glucosinolate, 以下 BUGLS) の単回投与がコーン油負荷マウスの脂質吸収を有意に抑制させることを見出したが⁷⁾、その連続投与の効果は不明である。本研究では食餌誘導性肥満モデルマウスを用いて BUGLS およびフェネチルグルコシノレート (phenethyl glucosinolate, 以下 PEGLS) の抗肥満効果を検討した。

材料および方法

グルコシノレートの精製、単離

BUGLS および PEGLS は Barillari によって報告されている方法²⁾ に準じて精製を行った。大和マナ「奈良県農業総合センター系統」の種からは BUGLS (1.25%) を、キバナクレス (*Barbarea verna*) の種からは PEGLS (2.93%) を前回論文で報告した方法⁷⁾ により単離した。第1図にこれらの構造を示す。



第1図 3-ブテニルグルコシノレートおよびフェネチルグルコシノレートの構造

Fig. 1. Structures of 3-butenyl glucosinolate and phenethyl glucosinolate

抗肥満試験

4週齢の ddY マウス (雌, SLC) を1週間予備飼育したのち、実験に使用した。本動物実験は「東京海洋大学動物実験指針」に従って実施した。

マウスは平均体重が等しくなるように、標準食群 (ND, n=8), 高脂肪食群 (HFD, n=8), 高脂肪食+0.03%BUGLS (BUGLS, n=8), 高脂肪食+0.03%PEGLS (PEGLS, n=8) の4群に分け、第1表に示した実験食を与えた。飼育期間中、餌と水は自由摂取させた。

飼育開始8週間後で絶食を行い、絶食10時間後に

*1 財団法人奈良県中小企業支援センター

*2 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科

この研究は JST の奈良県地域結集型研究開発プログラムのもとで実施した。

マウスの尾部より採血し、遠心分離によって得られた血漿を血中糖質パラメーターとアディポサイトカインの測定まで-80℃で保管した。また、これらの測定は市販されているキットを用いてプロトコールに従って行った。さらに、絶食 24 時間後に解剖を開始し、傍子宮脂肪組織、肝臓、脾臓、腎臓を摘出した。なお、各測定値は、平均値±標準誤差で表示し、各群間の有意差は student-t test で検定した。

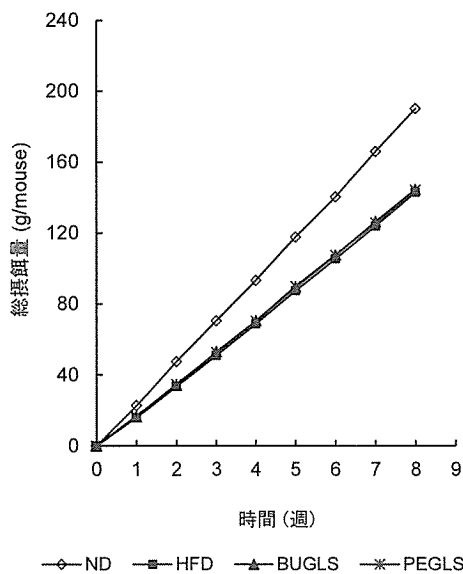
第1表 飼料組成(g)

Table 1. Composition of the experimental diets(g)

	ND	HFD	BUGLS	PEGLS
カゼイン	140.000	140.000	140.000	140.000
牛脂	40.000	400.000	400.000	400.000
β-コーンスターチ	465.692	105.692	105.392	105.392
α-コーンスターチ	155.000	155.000	155.000	155.000
スクロース	100.000	100.000	100.000	100.000
セルロースパウダー	50.000	50.000	50.000	50.000
ミネラル	35.000	35.000	35.000	35.000
ビタミン	10.000	10.000	10.000	10.000
L-シスチン	1.800	1.800	1.800	1.800
重酒石酸コリン	2.500	2.500	2.500	2.500
第3ブチルヒドロキノン	0.008	0.008	0.008	0.008
BUGLS	0.000	0.000	0.300	0.000
PEGLS	0.000	0.000	0.000	0.300
計	1000.000	1000.000	1000.000	1000.000

ND：標準食，HFD：高脂肪食，BUGLS：高脂肪食+0.03%BUGLS，PEGLS：高脂肪食+0.03%PEGLS

ND: normal diet, HFD: high fat diet, BUGLS: HFD+0.03%BUGLS, PEGLS: HFD+0.03%PEGLS



第2図 摂餌量の推移

Fig. 2. Total food intake

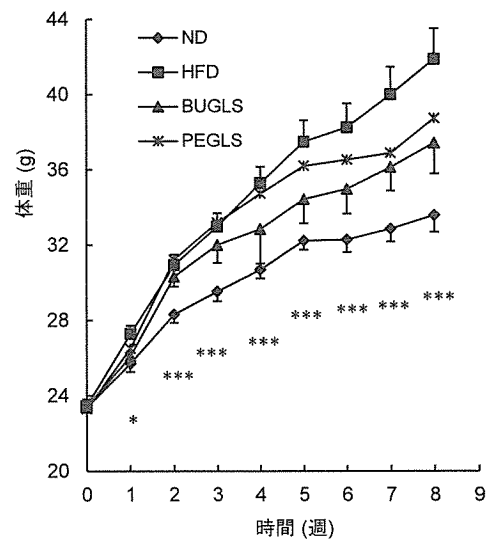
結果および考察

摂餌量

飼育期間中、標準食摂取群と比べて、高脂肪食摂取群では摂餌量が減少したが、高脂肪食に BUGLS や PEGLS を添加しても、摂餌量に影響はなかった。(第2図)

体重および子宮傍脂肪組織重量

第3図に示すように、8週間飼育後において、高脂肪食摂取群の体重は標準食摂取群に比べて有意に高値を示し、肥満状態になっていた。一方、BUGLS, PEGLS 摂取群は、高脂肪食摂取による体重の増加をそれぞれ 54%, 38%減少させる傾向を示した。加えて、第4図に示すように、BUGLS, PEGLS 摂取群は、高脂肪食摂取による子宮傍脂肪組織重量の増加をそれぞれ 47%, 51%減少させる傾向を示した。



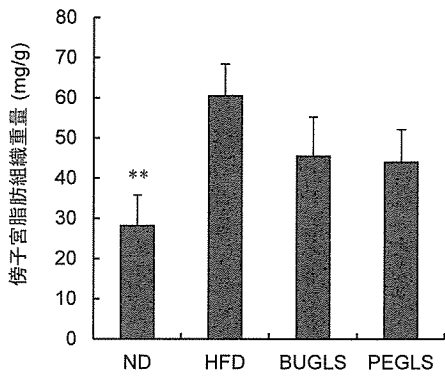
第3図 BUGLSとPEGLSの肥満マウスの体重への影響

Fig. 3. Effects of BUGLS and PEGLS on body weights of obese mice

(*: p<0.05 vs HFD, **: p<0.01 vs HFD, ***: p<0.005 vs HFD)

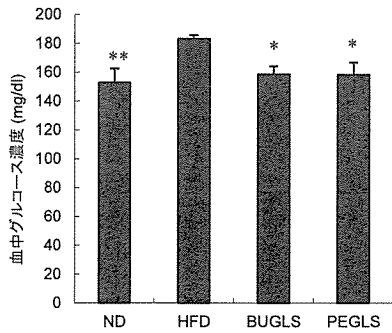
血糖値

第5図に示すように、8週間飼育後において、高脂肪食単独摂取群は標準食摂取群と比べて有意な血中グルコース濃度の上昇が認められた。しかしながら、BUGLS, PEGLS 摂取群は、高脂肪食摂取による血中グルコース濃度の上昇をそれぞれ有意に 19%, 18%低下させた。



第4図 BUGLSとPEGLSの肥満マウスの子宮傍副脂肪組織重量への影響
 Fig. 4. Effects of BUGLS and PEGLS on parametrial adipose tissue weights of obese mice

(**): p<0.01 vs HFD)



第5図 BUGLSとPEGLSの肥満マウスの血中グルコース濃度への影響
 Fig. 5. Effects of BUGLS and PEGLS on plasma glucose levels of obese mice

(*: p<0.05 vs HFD, **: p<0.01 vs HFD)

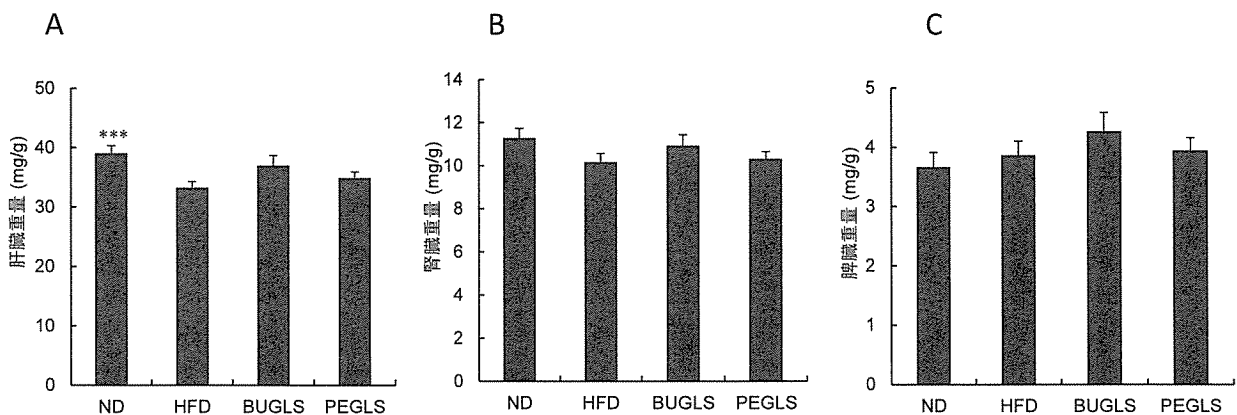
臓器重量および血中サイトカイン濃度

第6図に示すように、8週間飼育後において、肝臓(A)、腎臓(B)および脾臓(C)の重量は、高脂肪食単独摂取群とBUGLS、PEGLS摂取群との間で有意差も傾向もみられなかった。

また、第7図に示すように、肥満に伴い増減する炎症に関わるサイトカイン、血中アディポネクチン(A)、TNF-α(B)およびMCP-1濃度(C)については、8週間飼育後において、標準食摂取群、高脂肪食単独摂取群、BUGLSおよびPEGLS摂取群の間で有意差も傾向もみられなかった。

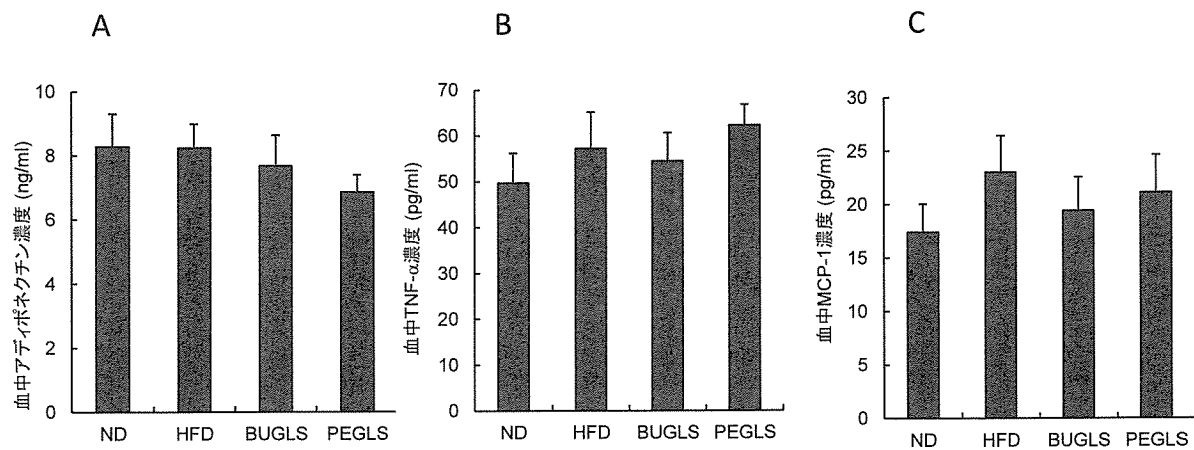
考察

今回の試験ではBUGLSとPEGLSは混餌投与試験において食餌誘導性肥満モデルに対して抗肥満傾向を示したが、有意差は得られなかった。その原因としては、マウスの個体差と肥満の程度が軽かったことが考えられた。肥満により増減するサイトカインが標準食摂取群と高脂肪食単独摂取群で有意差も傾向も認められなかったことから、肥満の程度が軽かったことが裏付けられた。今後は、重度の肥満状態にするために飼育期間を延長するか、自然発症性肥満モデルマウスなどを用いて実験することが必要であると考えている。また、BUGLSとPEGLSは臓器重量に影響を与えなかったこと、標準食+BUGLSまたはPEGLSの試験において、体重に影響を与えなかったことから(未発表データ)、毒性が少ないことが示唆された。BUGLSはマウスの*in vivo*の単回投与試験で脂



第6図 BUGLSとPEGLSの肥満マウスの肝臓(A)、腎臓(B)および脾臓重量(C)への影響
 Fig. 6. Effects of BUGLS and PEGLS on liver (A), kidney (B) and spleen (C) weights of obese mice

(***): p<0.005 vs HFD)



第7図 BUGLSとPEGLSの肥満マウスの血中アディポネクチン (A), TNF-α (B) および MCP-1 濃度 (C) への影響

Fig. 7. Effects of BUGLS and PEGLS on plasma adiponectin (A), TNF-α (B) and MCP-1 (C) levels of obese mice

質の吸収を有意に抑制することから⁷⁾, その抗肥満効果は脂質吸収抑制作用によると示唆されたが, PEGLSには脂質吸収抑制作用もリパーゼ阻害作用も認められておらず⁷⁾, 今後, その抗肥満作用のメカニズムについて検討する必要がある. また, BUGLSとPEGLSは肥満モデルマウスに対して, 有意な血糖上昇抑制作用が確認されたことから, 糖質吸収抑制作用や細胞内への糖の取り込み促進作用等を有する可能性が考えられた. しかしながら, 標準食+BUGLSまたはPEGLSの長期投与試験においては, 血糖降下作用が確認されなかったことから (未発表データ), この血糖降下作用は糖質吸収抑制によるものではなく, 肥満によるインスリン耐性を改善した結果ではないかと推測している. 今後, さらに研究を進める予定である.

引用文献

- Asao, H., Okuyama, E., Yano, K., Nishimoto, T., Hojo, M., Ochi, Y., Kajita, S. and Takayama, S. 2008. Estimation of S-haplotypes in Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) grown in different seed-production fields. Hort. Res. (Japan). 7(4): 505-510.
- Barillari, J., Gueyrard, D., Rollin, P. and Iori, R. 2001. *Barbarea verna* as a source of 2-phenylethyl glucosinolate, precursor of cancer chemopreventive phenylethyl isothiocyanate. Fitoterapia. 72: 760-764.
- Calzada, F., Barbosa, E. and Cedillo-Rivera, R. 2003. Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from *Lepidium virginicum*. Phytother. Res. 17: 618-619.
- Ikeuchi, M., Koyama, T., Takei, S., Kino, T. and Yazawa, K. 2009. Effects of benzylglucosinolate on endurance capacity in mice. J. Health Sci. 55: 178-182.
- Nakamura, Y., Kawakami, M., Yoshihiro, A., Miyoshi, N., Ohigashi, H., Kawai, K., Osawa, T. and Uchida, K. 2002. Involvement of the mitochondrial death pathway in chemopreventive benzyl isothiocyanate-induced apoptosis. J. Biol. Chem. 277: 8492-8499.
- Talalay P. and Zhang Y. 1996. Chemoprotection against cancer by isothiocyanates and glucosinolates. Biochem. Soc. Trans. 24: 806-810.
- Washida, K., Miyata, M., Koyama, T., Yazawa, K. and Nomoto, K. 2010. Suppressive effect of yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group) constituent 3-butenyl glucosinolate (gluconapin) on postprandial hypertriglyceridemia in mice. Biosci. Biotechnol. Biochem. 74 (6): 1286-1289.