

エゴマ葉の胆汁酸吸着能の検証

Verification of Binding Capacity of Bile Acids to Perilla Leaves

藤田 恭輔

FUJITA Kyosuke

【要約】

脂質の消化に寄与する胆汁酸は、生体内でコレステロールから生合成され、9 割程度は腸管において再吸収を受ける。胆汁酸は、一次胆汁酸と二次胆汁酸に分類され、それぞれの生理作用には差異がある。シソ科の植物であるエゴマ葉の健康効果はあまり知られておらず、特に水耕栽培されたエゴマ葉の機能は未知である。本研究では、エゴマ葉の *in vitro* における胆汁酸吸着能および *in vivo* における胆汁酸排泄作用について検討した。*in vitro* においてエゴマ葉乾燥粉末は、二次胆汁酸であるリトコール酸に対して、コレステロール吸着剤であるコレスチラミンと同程度の吸着能を示したが、一次胆汁酸であるコール酸に対する吸着能は見られなかった。2%エゴマ葉粉末添加食をマウスに与えたが、胆汁酸排泄に変化は見られなかった。本研究より、エゴマ葉が二次胆汁酸を特徴的に吸着することが明らかになった一方で、食事からの摂取による胆汁酸排泄促進作用は見出すことができなかった。

キーワード エゴマ葉、胆汁酸、胆汁酸吸着

1.はじめに

胆汁酸は、肝臓においてコレステロールから合成される胆汁中の成分であり、その乳化作用により脂質の消化吸收を促進する。胆汁酸には、肝臓で合成されるコール酸等の一次胆汁酸、一次胆汁酸が腸内細菌により代謝されたデオキシコール酸等の二次胆汁酸に分類される。胆汁酸はその種類により、物理化学的性質や FXR や TGR5 等の胆汁酸受容体への作用が異なり、体内の胆汁酸バランスは糖や脂質代謝などの生理機能に影響すると考えられている¹⁾。

胆汁酸は胆汁成分として十二指腸に分泌後、約 9 割は腸管により再吸収され、門脈を通り肝臓へと運ばれ再利用され、糞便中へは約 1 割程度しか排泄されない。コレスチラミンなどの胆汁酸吸着剤は、胆汁酸吸着作用により胆汁酸の排泄を促進し、血中コレステロールを低下させる作用があるため、高コレステロール血症患者に対しても臨床的に用いられる。また、胆汁酸吸着剤は、血糖降下作用にも示すといわれている²⁾。食物に含まれる水溶性食物繊維も、胆汁酸を吸着する作用があり、血中コレステロールを低下させる作用があることが明らかになっている³⁾。

エゴマ (*Perilla frutescens*) は、シソ科の植物であり、種子と葉が食される。エゴマ種子から抽出したエゴマ油は、 α -リノレン酸を含有する食用油として用いられる。一方で、エゴマ葉は、その健康効果もあまり知られておらず、食感の悪さや、えぐみがあることから、日

本では好んで食されていない。近年、エゴマを水耕栽培にて生産することで、食べやすさを向上させたエゴマ葉が販売されている。しかしながら、水耕栽培したエゴマ葉の健康に対する効果は明らかになっていない。本研究では、エゴマと生物学的に同属の植物であるシソの葉に食物繊維が豊富に含まれていることに着目し、エゴマ葉の胆汁酸吸着能および通常マウスにおける胆汁酸排泄量に対する影響を検討する。

2.方法

2-1. *in vitro* における胆汁酸吸着能の測定

水耕栽培したエゴマの葉の乾燥粉末であるエゴマ葉パウダー（健菜堂）の胆汁酸吸着能は、松本らの方法を参考に行った⁴⁾。本研究はコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸（東京化成工業）に対する吸着能を評価した。各胆汁酸は、ジメチルスルホキシド（富士フィルム和光純薬）に 200 mM となるように溶解し、その溶液を PBS で終濃度が 4 mM となるように希釈した。胆汁酸溶液に対して 1 w/v% となるようにエゴマ葉パウダーまたはコレステラミン（SIGMA）を加え、室温で 10 分間振盪した。その後、室温において 15,000 rpm で 15 分間遠心し、上清を水で 10 倍希釈したものを測定サンプルとした。胆汁酸の濃度測定には、胆汁酸測定キットを用いて（総胆汁酸-テストワコー、富士フィルム和光純薬）を用いた。各胆汁酸に対する吸着能は、以下の式で求めた。

$$\text{胆汁酸吸着能 (\%)} = 100 - \frac{\text{試料添加の胆汁酸量}}{\text{試料無添加の胆汁酸量}} \times 100$$

2-2. *in vitro* における胆汁酸吸着能の測定

マウスにおける胆汁酸排泄量の測定

本研究における動物実験は、富山短期大学実験動物委員会の承認を受けて実施した。実験動物として、C57BL/6 マウス（オス、6 週齢、12 匹）を使用した。12 匹中 6 匹は普通食（CE-2、日本クレア社）、6 匹は 2% エゴマ葉を加えた飼料を 5 日間摂取させ、最後の 72 時間の糞を 1 日毎に採取した。試験期間中は、餌摂取量と体重を測定した。

採取した糞を乾燥した後、乾燥糞 100 g に対し、90% メタノール 1 mL で懸濁し、65℃、2 時間加熱することで、胆汁酸を抽出した。この抽出液の胆汁酸濃度を、胆汁酸測定キットを用いて測定した。

2-3.統計

結果は、平均値±標準誤差で示す。2 群間の比較を Student's t-test によって行い、 $P < 0.05$ の場合を有意差ありとした。

3. 結果

エゴマ葉パウダーおよび胆汁酸吸着剤であるコレスチラミンの、*in vitro* における胆汁酸吸着能を表 1 に示す。ポジティブコントロールとして用いたコレスチラミンは、胆汁酸の種類に関わらず、約 9 割以上の吸着能を示した。エゴマ葉パウダーにおいては、リトコール酸に対しては 98.1%と、コレスチラミンと同等の吸着能を示した。一方で、デオキシコール酸に対する吸着能は 46.7%、コール酸に対する吸着能は 11.2%であり、エゴマ葉パウダーの胆汁酸吸着能は、胆汁酸の種類に依存していた。

表1. 各胆汁酸に対する吸着能 (%)

	エゴマ葉パウダー (n=3)	コレスチラミン (n=3)
コール酸	11.2 ± 1.0	89.8 ± 0.3
デオキシコール酸	46.7 ± 0.2	95.8 ± 0.1
リトコール酸	98.1 ± 0.2	96.2 ± 0.3

マウスに、2%エゴマ葉添加食を 5 日間投与した後の体重は 21.1 ± 0.7 g であり、通常食を与えたマウスの体重 (20.8 ± 0.5 g) と有意な違いは見られなかった。2%エゴマ葉添加食を与えた時の摂餌量、糞排泄量、糞中胆汁酸量を図 1 に示す。摂食量及び糞重量は、2%エゴマ葉を添加しても、変化は見られなかった。糞 1g に含まれる胆汁酸の量をエゴマ葉の有無で比較しても、両者に有意な差は見られなかった。マウス 1 匹の 1 日における胆汁酸の排泄量も同様にエゴマ葉の添加により変化は見られなかった。

4. 考察

本研究において、エゴマ葉は *in vitro* において二次胆汁酸であるリトコール酸やデオキシコール酸に対して特異的な吸着能を示すことが明らかとなった。特に、リトコール酸に対する吸着能は、今回の実験条件において、胆汁酸吸着剤であるコレスチラミンと同程度の胆汁酸吸着能を示した。しかしながら、*in vivo* において通常食を与えたマウスにおいて総胆汁酸の糞中排泄に与える影響は見られなかった。そのため、エゴマ葉が血中コレステロール低下を持つとは言い難い結果となった。

一方で、二次胆汁酸の吸着性は高いため、長期的な摂取により腸肝循環中の胆汁酸のバランスが変化する可能性もある。特に腸肝循環中の二次胆汁酸の増加は、大腸がんのリスクにもなると考えられる⁵⁾。エゴマ葉の長期的な摂取が、腸肝循環における胆汁酸バランスに影響を与えるかを検証することで、エゴマ葉の有用性に迫れる可能性があると考ええる。

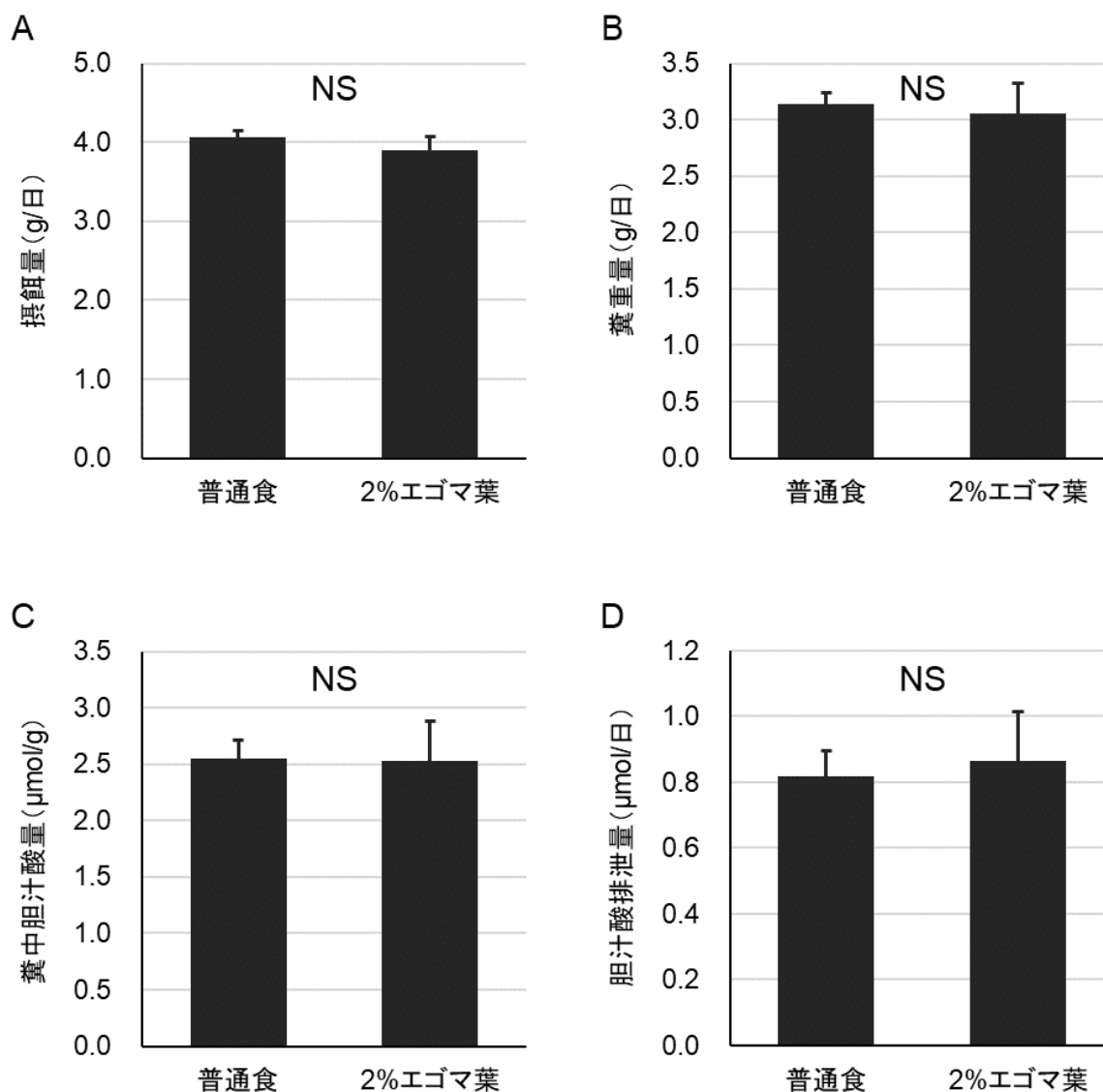


図 1. マウスの胆汁酸排泄に対するエゴマ葉添加食の効果

普通食摂取群 (n=6)、2%エゴマ葉添加食摂取群 (n=6) における、摂餌量 (A)、糞重量 (B)、糞中胆汁酸量 (C)、胆汁酸排泄量 (D) を示す。NS: 有意差なし ($P > 0.05$)

参考文献

- 1) 石塚敏, 胆汁酸分子種の多様性 構造・代謝と生理作用, *化学と生物* 52, 301-306 (2014)
- 2) 渡辺光博, 胆汁酸代謝を介した肥満および糖・脂質代謝異常への介入, *糖尿病* 54, 156-160 (2011)
- 3) 池本真二, 食物繊維と脂質代謝, *日本食物繊維研究会誌* 4, 1-8 (2000)
- 4) 松本健司, 増田かおる, 竹川加奈子, 小柳喬, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 61, 543-547 (2014)
- 5) 東村泰希, 内藤裕二, 胆汁酸代謝と大腸がん *ビタミン* 91, 53-56 (2017)