

ノート

ウコギ茶摂取がマウスの腸内環境および 小腸組織に及ぼす影響

田村朝子, 本(田渕)三保子*, 山田則子**

(山形大学地域教育文化学部, *和洋女子大学家政学部, **山形県立米沢女子短期大学)

原稿受付平成18年1月4日; 原稿受理平成18年6月3日

Effects of Ingesting Ukogi (*Acanthopanax sieboldianum*) Tea on the Intestinal Environment and Small Intestinal Tissue of Mice

Asako TAMURA, Mihoko Moto-TABUCHI* and Noriko YAMADA**

Faculty of Education, Art and Science, Yamagata University, Yamagata, Yamagata 990-8560

*Faculty of Home Economics, Wayo Women's University, Ichikawa, Chiba 272-8533

**Yonezawa Women's College of Yamagata Prefecture, Yonezawa, Yamagata 992-0025

The different effects of ingesting ukogi (*Acanthopanax sieboldianum*) tea on the intestinal environment and small intestinal tissues were investigated in mice fed with control and non-dietary fiber diets. The mice were divided into 4 groups (control water, control ukogi tea, non-dietary fiber water, and non-dietary fiber ukogi tea) according to the diet and drink administered. The fecal excretion by the control ukogi tea group was significantly higher than that by the two non-dietary fiber groups. In addition, the fecal cholesterol content of the control ukogi tea group was significantly higher than that of other three groups, while the fecal cholesterol excretion by the non-dietary fiber group was the lowest. The serum cholesterol level of the control ukogi tea group was the lowest among the four groups, and the total short-chain fatty acid level in the cecum of the control ukogi tea group was significantly higher than that of the other three groups. Finally, the small intestinal villus length of the control ukogi tea group was significantly greater than that of the other three groups. These results indicate that the intestinal environment of the mice was improved by the ukogi tea intake. This ameliorative action might have been induced by soluble dietary fiber in the ukogi tea and seems to have been increased by the synergistic effect of insoluble dietary fiber being included in the diet.

(Received January 4, 2006; Accepted in revised form June 3, 2006)

Keywords: ukogi tea ウコギ茶, dietary fiber 食物繊維, small intestine 小腸, short-chain fatty acid 短鎖脂肪酸。

1. 緒 言

山形県米沢地方では、江戸時代に上杉9代目藩主上杉鷹山公(上杉治憲公)が救荒対策としてヒメウコギ(*Acanthopanax sieboldianum*)の植栽を奨励して以来、様々な料理の材料として食されてきた。特に、春にウコギ葉の新芽を用いる「切りあえ」「おひたし」などは米沢地方を代表する郷土料理となっている。また葉を乾燥させてお茶としても飲用¹⁾している。ウコギ葉中にはポリフェノールが多く含まれて²⁾おり、これは新芽よりもむしろ強葉に多く含有される。しかし、強

葉は新芽に比べて苦味成分も多く、そのまま食することが難しい。そのためウコギの強葉を煮出して抽出液を「お茶」として利用している。

先にわれわれはウコギ葉を新生児期におけるストレプトゾトシン誘導2型糖尿病ラット(neonatally streptozotocin diabetic rat(n-STZラット)³⁾にウコギ葉を飼料に混合して投与し、ウコギ葉の耐糖能および血糖値改善効果を明らか^{4),5)}にした。さらにウコギ葉摂取が盲腸内発酵および糞便排泄に及ぼす影響についても明らか⁶⁾にしてきた。ウコギ葉には食物繊維が

多く含有されること²⁾からこれらの効果についてはウコギ葉中の食物繊維によることが示唆された。さらにその効果は、ウコギ葉中の含有食物繊維と同量の植物起源の食物繊維を投与したラット群よりもウコギ葉を投与した群で強かったことから、ウコギ葉に含有される食物繊維成分とポリフェノールなどの他の成分との相乗効果であることも示唆された。また、ウコギ葉を投与したラット群において、有意な腸内細菌叢の改善および糞便中コレステロール排泄量増加が認められ、糞便へのコレステロール排泄量増加はウコギ葉中の水溶性食物繊維によるものと推察された。

そこで本研究では、ウコギ葉の強葉の抽出液を用いて茶を調製し、これをマウスに長期投与し、ウコギ茶摂取がマウス腸内環境および小腸組織に及ぼす影響について検討した。前報³⁾で腸内環境改善は、ウコギ葉に多く含有されるポリフェノールと食物繊維との相乗効果があることが示唆されたことから、本研究では、不溶性食物繊維（セルロース）を含む基本飼料および無繊維飼料で飼育したマウスにウコギ茶を投与し、ウコギ茶中に抽出された水溶性食物繊維とポリフェノールなどの他の成分との相乗効果による腸内環境の改善効果を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

(1) ウコギ茶の調製

ウコギ茶にはウコギ葉粉末を用いた。まず、ウコギ葉は平成15年6~7月に米沢市内で採取し、凍結乾燥後ミルミキサーで粉碎し、ウコギ葉粉末を調製した。

ウコギ茶の調製は、80°Cの蒸留水100mlに対してウコギ葉粉末2gを加え、30分間加温しながら攪拌抽出し、遠心分離(3,000 rpm, 15 min)後、上清をろ過し、このろ液をウコギ茶とした。

(2) 動物、飼料および飼育方法

動物実験は総理府告示の実験動物の飼養および保管等に関する基準に従い、実験動物に対し十分に配慮した上で行った。

実験には4週齢ICR雄マウスを用い、標準飼料で1週間(5週齢)の予備飼育後、実験飼料による本飼育を9週間(14週齢)行った。実験飼料組成をTable 1に示した。AIN-76を標準飼料とし、無繊維飼料は、標準飼料から不溶性食物繊維のセルロースを除き、その不足分をグラニュー糖で調整したものを飼料とした。5週齢のマウスを無作為に4群に分け、投与する実験飼料および飲料水によりコントロール水群(標準飼料+水道水, n=16), コントロールウコギ茶群(標準飼料+ウコギ茶, n=16), 無繊維水群(無繊維飼料+水道水, n=17), 無繊維ウコギ茶(無繊維+ウコギ茶, n=17)とした。

マウスはおがくずを敷いたプラスチック製のケージに個別に入れ、室温22~23°C、湿度50~60%、12時間の明暗サイクル(明期:8:00~20:00)の空調動物室で飼育した。飼料および飲料水は自由摂取させた。

実験開始時および終了時に体重を測定し、糞便は実験飼料投与後2週間ごとに回収し重量を測定後、凍結乾燥し糞便中コレステロール排泄量測定用の試料とした。

Table 1. Composition of the experimental diets (%)

Ingredient	Normal diet ^{*1}	Non-fiber diet ^{*2}
Casein	20.0	20.0
Corn oil	5.0	5.0
Vitamin mixture ^{*3}	1.0	1.0
Mineral mixture ^{*3}	3.5	3.5
Choline chloride	0.2	0.2
Cellulose powder	5.0	—
Corn starch	15.0	15.0
Sucrose	50.3	55.3
	100.0	100.0

*¹Control water group and control ukogi tea group were given a normal diet. *²Non-dietary fiber water group and non-dietary fiber ukogi tea group were given a non-fiber diet. *³AIN-76; Oriental Yeast Co, Ltd, Tokyo, Japan.

実験飼料投与 9 週間（14 週齢）後にエーテル麻酔下で屠殺解剖した。なお、解剖時には大腿動脈から全採血した。全血を遠心分離（3,000 rpm, 15 min）後得られた血清は血中総コレステロール分析に用いた。さらに盲腸を摘出し、回収した内容物は重量を測定後、短鎖脂肪酸の分析に用いた。また小腸を摘出し、2 cm に切断後直ちに 10% ホルマリン液に浸漬し組織観察用試料とした。

(3) 血清中総コレステロールの測定

血清中の総コレステロールの測定はコレステロール E-テストワコー（和光純薬）を用いて行った。

(4) 盲腸内の短鎖脂肪酸の分析

盲腸内容物にイオン交換水 3 ml を加え懸濁溶解後、遠心分離（3,000 rpm, 15 min）した。上清 1.5 ml に同量のクロロホルムを加え除タンパクし、水層を 0.45 μm の水系フィルターでろ過し、短鎖脂肪酸測定用試料とした。

短鎖脂肪酸の測定は、高速液体クロマトグラフ（日立 L-7100）を用いて行った。分析条件は、カラム（GL-C 610H-S, 7.8 mm × 300 mm），溶離液 1 mM 過塩素酸、カラム温度 60°C、流速 0.5 ml/分、検出波長 210 nm であった。定量は各標準短鎖脂肪酸と試料中の相当する脂肪酸のエリア比で算出した。

(5) 粪便中コレステロール排泄量の測定

凍結乾燥した糞便 0.1 g をねじ口試験管に入れ、エチルアルコール 2.5 ml を加え、80°C の湯浴中で 1 時間抽出した。遠心分離（3,000 rpm, 15 min）後、上清を回収した。残渣に再びエチルアルコール 2.5 ml を加え、80°C で 1 時間抽出し、遠心分離（3,000 rpm, 15 min）後の上清を回収した。さらにこの操作をもう一度繰り返し、3 回分の上清を集め、60°C の湯浴中で窒素ガスを注入しながら濃縮乾固させた。これにエチルアルコール 2 ml を加え溶解させ、コレステロール定量用試料とした。

糞便中コレステロールの定量は、血清中総コレステ

ロール測定と同様に、コレステロール E-テストワコー（和光純薬）を用いて行い、糞便 1 gあたりコレステロール量に換算した。

(6) 小腸組織

10% ホルマリン液で 1 週間固定した小腸を取り出し、1 時間蒸留水に浸漬した。その後脱水のため、70% アルコール、80% アルコール、90% アルコール、95% アルコール、100% アルコールと順次濃度の高いアルコールに浸漬した。この後、トルエンで透徹し、パラフィン包埋後、8 μm のパラフィン切片を作製した。切片はヘマトキシリン・エオジン染色し、顕微鏡下で小腸絨毛の形態を観察後、顕微鏡下で絨毛の長さを測定した。

(7) 統計処理

実験結果は、各実験群の平均値±標準誤差で表した。統計処理にはエクセル統計を用い、二元配置分散分析（ANOVA）を行った後、Sheffé's F-test の多重比較検定により各群間の有意差検定を行った。また有意差は $p < 0.05$ を統計的に有意と判定した。

3. 実験結果および考察

(1) 体重増加量、飲水量および摂食量

各群のマウスの体重増加量、飲水量および摂食量を Table 2 に示した。

その結果、体重増加量と摂食量は各群間で有意差は認められなかった。しかし飲水量は無纖維水群に比較して、コントロールウコギ茶群および無纖維ウコギ茶群が有意に高く、水よりウコギ茶が多くなっていた。ウコギ葉にはポリフェノール類が多く含有され、その含量は新芽よりも強葉になる程多くなる。そのため渋味が増し、強葉はそのままでは食用には適さないため、山形では茶として用いられることが多かった。強葉を茶にする場合、2%程度で調製することが多いが、渋味、甘味のバランスが適度となるため人の嗜好に適している。マウスの嗜好性については不明であるがウコ

Table 2. Body weight gain, water intake, and food intake of mice fed on the experimental diets

	Control water	Control ukogi tea	Non-dietary fiber water	Non-dietary fiber ukogi tea
Body weight gain (g/9 weeks)	24.1 ± 5.4 ^a	25.0 ± 4.2 ^a	21.8 ± 3.9 ^a	23.4 ± 5.3 ^a
Water intake (g/day)	16.7 ± 4.0 ^{abc}	19.2 ± 1.9 ^{ab}	15.6 ± 2.5 ^c	19.5 ± 3.8 ^a
Food intake (g/day)	34.2 ± 3.0 ^a	34.9 ± 2.6 ^a	33.1 ± 4.5 ^a	34.4 ± 3.8 ^a

Each value is presented as the mean ± SE. ^{a,b,c} Values with the same letters in a row are not significantly different at $p < 0.05$.

ギ茶投与群で飲水量が多くなったのは嗜好的なものが関係するのではないかと考えられる。

(2) 粪便排泄量、便中コレステロール排泄量および血清中総コレステロール量

各群のマウス 1 日あたりの糞便排泄量、便中コレステロール排泄量および血清中総コレステロール量を Table 3 に示した。

その結果、糞便排泄量は、標準飼料を投与したコントロール群が無纖維群より有意に高く、不溶性食物纖維が排便量に大きく寄与することが再確認された。コントロール群間においては、コントロールウコギ茶群の排便量がコントロール水群より有意に高くなかった。また、無纖維群間においては、有意差はないものの、無纖維ウコギ茶群の排便量が無纖維水群より高くなる傾向を示した。ウコギ茶摂取は糞便排泄量を増加させることが示されたが、これは、ウコギを熱水抽出する際に溶出される水溶性食物纖維および糖類に起因するのではないかと考えられる。コントロール水群においては摂取できた食物纖維が、標準飼料に含有される不溶性食物纖維のセルロースのみであったのに対して、コントロールウコギ茶群は、標準飼料の不溶性食物纖維に加え、飲料から水溶性食物纖維を摂取できたことから、両食物纖維による相乗効果で糞便排泄量が有意に多くなったものと推察される。無纖維ウコギ茶群において、糞便排泄量が増加したのは、飲料より水溶性食物纖維が摂取できたことに起因するものと考えられる。

糞便中のコレステロール排泄量は、コントロール群が無纖維群より有意に高い値を示した。コントロールウコギ茶群のコレステロール排泄量はコントロール水群より有意に高く、両食物纖維の相乗効果によるものと考えられる。無纖維群では、無纖維ウコギ茶群のコレステロール排泄量が高い傾向にあった。

血清中総コレステロール量は、4 群間に有意差は認

められなかったが、コントロール群が無纖維群より低値であった。コントロール群間では、コントロール水群に比べコントロールウコギ茶群で低い傾向にあった。前報⁶⁾においてもウコギ葉投与群でコントロール群に比較して血清中総コレステロールが低い傾向にあり、これはウコギ葉中に含有される食物纖維の影響であると推察された。本研究ではウコギ茶を投与していることから、茶中に溶出した水溶性食物纖維が影響したものと考えられる。ペクチン、グアガムなどの水溶性食物纖維は血中コレステロール低下作用および便中コレステロール排泄作用があることが報告^{7)~9)}されている。しかし、ヒトでペクチンの場合 40~50 g/日¹⁰⁾、グアガムの場合 15 g/日以上¹¹⁾ 摂取しなければ有意なコレステロール低下作用が認められないことから、本研究においてもウコギ茶中に含有された食物纖維量が血中で有意なコレステロール低下をみる程の量ではなかったものといえる。今後はウコギ茶中に含有される水溶性食物纖維量を測定するとともに成分についても同定し、より詳細なコレステロールに対する効果を検討したいと考えている。また、オリゴ糖などの糖類は、腸内細菌を増加させ、糞便排泄が改善する¹⁰⁾ことが知られており、食物纖維以外に糞便排泄を増加させた要因には、これらの糖類の影響もあると考えられることから、糖類についても検討する必要があると考えている。

(3) 盲腸内容物の短鎖脂肪酸含量

盲腸内容物の短鎖脂肪酸含量の測定結果を Fig. 1 に示した。

その結果、総短鎖脂肪酸量は無纖維群に比較してコントロール群で有意に高くなった。コントロール群間では、コントロール水群に比較してウコギ茶群で有意に高い値を示した。これは、糞便排泄やコレステロール排泄の結果と同様に、不溶性食物纖維のみのコントロール水群に対して、水溶性食物纖維の加わったコン

Table 3. Fecal weight, fecal cholesterol content, and serum total cholesterol level of mice fed on the experimental diets

	Control water	Control ukogi tea	Non-dietary fiber water	Non-dietary fiber ukogi tea
Fecal weight (g/day)	0.42±0.02 ^a	0.46±0.04 ^b	0.17±0.03 ^c	0.21±0.03 ^c
Fecal cholesterol (mg/day)	49.4±2.2 ^a	53.1±1.6 ^b	36.1±2.1 ^c	37.5±0.8 ^c
Serum cholesterol (mg/dl)	165.0±15.6 ^a	157.7±16.4 ^a	170.5±12.3 ^a	170.1±10.9 ^a

Each value is presented as the mean±SE. ^{a,b,c} Values with the same letters in a row are not significantly different at $p<0.05$.

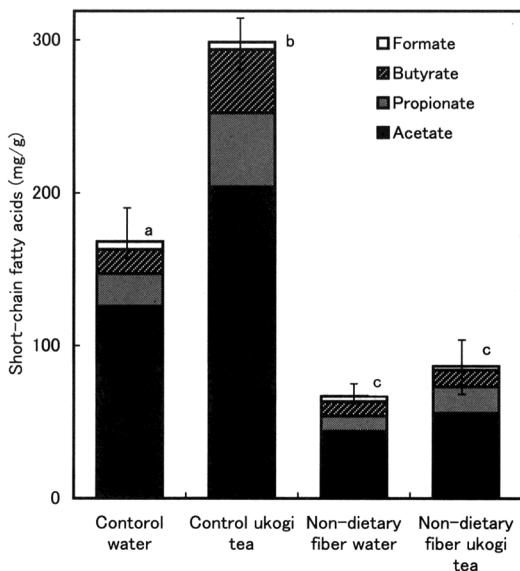


Fig. 1. Contents of short-chain fatty acids in the cecum of mice fed on the experimental diets

a,b,c Values with the same letters are not significantly different at $p < 0.05$.

トロールウコギ茶群において、両食物繊維の存在により短鎖脂肪酸産生量が相乗的に増加したと考えられる。また、無繊維群の短鎖脂肪酸産生量は、コントロール群に比べて有意に低いが、無繊維ウコギ茶群では無繊維水群より若干ではあるが、短鎖脂肪酸産生が増加する傾向が認められた。

ラットやマウスの大腸発酵のおもな場所は盲腸であり、発酵性の飼料を摂取すると腸内細菌による短鎖脂肪酸産生が促進すること^{[12][13]}が知られている。また水溶性食物繊維は、腸内細菌による発酵を受けるものが多い^[14]ともいわれている。したがって、コントロールウコギ茶群で総短鎖脂肪酸産生が有意に高くなり、無繊維ウコギ茶群で増加傾向にあったのも、ウコギ茶中に含まれる水溶性食物繊維の影響によるところが大きいといえる。

(4) 小腸組織

小腸絨毛の長さの測定結果をFig. 2に、小腸組織観察結果をFig. 3にそれぞれ示した。尚、小腸絨毛の長さは、Fig. 3の矢印で示した部分の長さを測定した。

その結果、Fig. 2のように小腸絨毛の長さは、無繊維群に比較してコントロール群で有意に長くなっている。コントロール群間では、水群に対してウコギ茶群

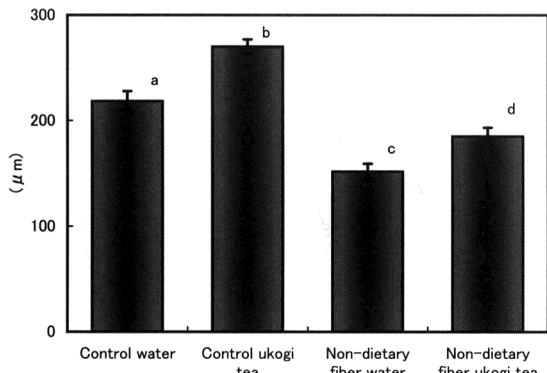


Fig. 2. Small intestinal villus lengths of mice fed on the experimental diets

a,b,c,d Values with the same letters are not significantly different at $p < 0.05$.

で有意に長くなった。また、無繊維群では、水群に比較してウコギ茶群で有意に長くなっていた。

Fig. 3のように、コントロール群では2群ともに小腸組織が大きくよく発達しており、絨毛の幅が広く、円柱状になっていた。これに対して、無繊維群の2群の組織は、組織の発達が小さく、舌状で表面には凹凸がみられ、絨毛と絨毛の間隔が広くなっていた。

小腸においては、絨毛が長く、数が多くなる程、絨毛と絨毛の間が狭くなり、より腸管の蠕動運動が活発になるとされる。Fig. 3では、4群とともに6本の絨毛が観察できるが、コントロールウコギ茶群でその組織が最も長く密になっていた。一方、無繊維水群においては、絨毛1つ1つが太く短く、また絨毛組織が十分に形成されていないことも観察できる。しかし、無繊維ウコギ茶群では、水群に比較して、絨毛間に隙間はあるものの、絨毛が長く小腸絨毛細胞が成長促進される傾向にあることも観察できた。

以上の結果は、これまでの結果と同様に、ウコギ茶に含まれる水溶性食物繊維によるものであると考えられる。水溶性食物繊維には、腸の蠕動運動を活発にするはたらき^[15]があることが知られている。また小腸絨毛細胞の増殖には、食物繊維などの物理的要因のほかに、腸内細菌が食物繊維などから分解生成した短鎖脂肪酸、腸内細菌の分泌する腸管上皮細胞増殖制御因子^[15]などが関与するといわれている。さらに酪酸などの短鎖脂肪酸産生が増加すると、短鎖脂肪酸が腸粘膜のエネルギー源として利用されることによって腸粘膜が防御される^[16]といわれている。これらのことことが要因

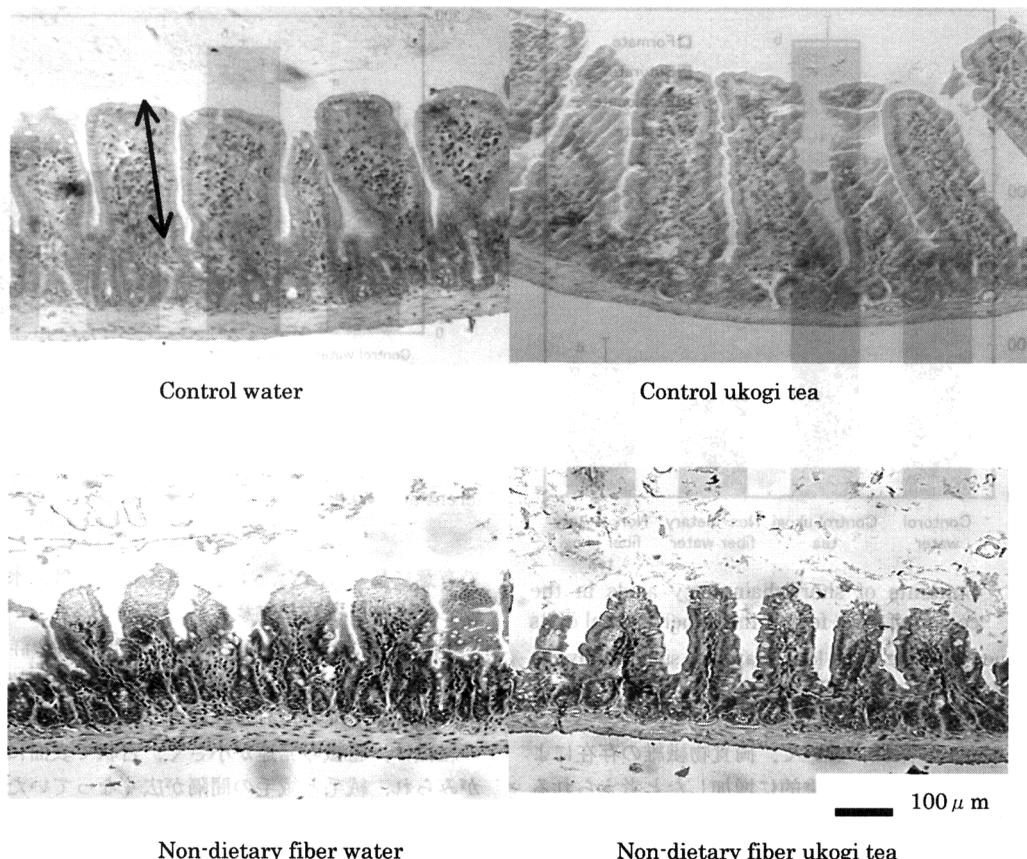


Fig. 3. Microstructure of small intestinal villus of mice fed on the experimental diets

↔ : measurement position of the small intestinal villus lengths.

となって、コントロールウコギ茶群の短鎖脂肪酸の産生量が最も多く、小腸絨毛も有意に長くなったのであろう。

今後は、ウコギ茶の詳細な成分分析をするとともに小腸内細菌叢の検討や小腸内短鎖脂肪酸含量の分析に加え、小腸細胞増殖率の計測を行い、ウコギ茶による腸管上皮細胞への影響についても明らかにしたいと考えている。

4. 要 約

ウコギ葉を熱水で抽出した茶を標準飼料および無纖維飼料で飼育したマウスに長期に摂取させ、腸内環境および小腸組織に対する効果を検討した。投与した飼料と飲料によりコントロール水群、コントロールウコギ茶群、無纖維水群、無纖維ウコギ茶群の4群とし、ウコギ茶の効果を比較した。

- 1) 粪便排泄量および糞中コレステロール排泄量は、コントロール群が無纖維群より有意に高く、4群間ではコントロールウコギ茶群が最も高い値を示した。

- 2) 盲腸中短鎖脂肪酸総量は、コントロール群が無纖維群より有意に高く、コントロール群間ではウコギ茶群が水群より有意に高い値を示した。

- 3) コントロールウコギ茶群の小腸絨毛の長さは他の3群より有意に長く、組織および細胞形態も大きく密になっていた。無纖維ウコギ茶群の絨毛の長さは、無纖維水群より有意に長くなっていた。

以上の結果から、ウコギ茶摂取によって腸の蠕動運動が活発になり、糞便排泄量が増加し、小腸組織の発達が促進された。これらのことは、ウコギ茶中に溶出された水溶性食物纖維の影響によるものと推察されたが、不溶性の食物纖維との相乗効果が大きいと考えられる。

なお、小腸組織観察にあたりご指導賜りました山形県立米沢女子短期大学 鈴木一憲教授に御礼申し上げます。

引 用 文 献

- 1) 日本の食生活全集 山形編集委員会：『日本の食生活全集 6 聞き書山形の食事』、農山漁村文化協会、東京、180-199 (1988)
- 2) 山田則子、田村朝子、田渕三保子：ウコギの一般成分と抗酸化特性、山形県立米沢女子短期大学紀要、**38**, 1-6 (2003)
- 3) 石田 均：n-STZ, 『糖尿病研究ストラテジー第1版』(清野 進, 岡 芳知監修), 秀潤社, 東京, 385-387 (1995)
- 4) 田渕三保子、田村朝子、山田則子：ウコギ (*Acanthopanax sieboldianum*) 葉投与が新生児期のストレプトゾトシン投与による2型糖尿病ラットの耐糖能に及ぼす影響、栄食誌、**56**, 243-246 (2003)
- 5) 田渕三保子、田村朝子、松葉 滋、小野寺準一、山田則子：ウコギ (*Acanthopanax sieboldianum*) 葉のラットにおける食後血糖上昇抑制作用、栄食誌、**57**, 271-275 (2004)
- 6) 田村朝子、田渕三保子、山田則子：ウコギ葉摂取が糖尿病ラットの盲腸内発酵および糞便排泄に及ぼす影響、家政誌、**56**, 181-186 (2005)
- 7) Miettinen, T. A.: Effects of Dietary Fiber on Serum Lipids and Cholesterol Metabolism in Man, in *Atherosclerosis*, Springer-Verlag, New York, 311-315 (1980)
- 8) Jenkins, D. J. A., Reynolds, D., Slavin, B., Leeds, A. R., Jenkins, A. L., and Jepson, E. M.: Dietary Fiber and Blood Lipids Reduction of Serum Cholesterol in Type II, Hypercholesterolemic by Guar Gum, *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 16-18 (1979)
- 9) 佐々木雅也、馬場忠雄：生活習慣病予防と食物繊維、臨床栄養、**100**, 301-305 (2002)
- 10) 辻 啓介、森 文平：『食物繊維の科学』、朝倉書店、東京、131-139 (1997)
- 11) 池上幸江、永山スミ：『すぐに役立つ食物繊維の知識と献立』、第一出版、東京、24-26 (1996)
- 12) 奥 恒行、小西史子、細谷憲政：ラットの生理機能に及ぼす難消化性多糖の性状ならびに飼育期間の影響、栄養と食糧、**34**, 437-443 (1981)
- 13) 田代 操、加藤みづほ：コーンスタークリークより調製された難消化性デキストリン投与がストレプトゾトシン糖尿病ラットの耐糖能に及ぼす影響、栄食誌、**52**, 21-29 (1999)
- 14) 池上幸江：「食物繊維」に関する最近の研究動向と疾患との関係、臨床栄養、**100**, 286-291 (2002)
- 15) 印南 敏、桐山修八：『食物繊維』、第一出版、東京、88-92 (1995)
- 16) 藤山佳秀、安藤 朗：炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎・クローン病）と腸内環境コントロール、臨床栄養、**107**, 295-299 (2005)