

越後白雪茸研究会

2016.08.09 13:00～

NSGカレッジリーグ学生総合プラザSTEP



Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences

新潟薬科大学

越後白雪茸がもつ抗肥満効果

2016年4月 特許申請

新潟薬科大学 応用生命科学部 食品分析学研究室

佐藤 眞治

メタボリック症候群の診断基準

内臓脂肪蓄積 ウエスト周囲径

男性 85cm以上 女性 90cm以上

この条件に下記の3症状のうち2つ以上
該当した場合、メタボリック症候群と診断
される。

血圧高値

最高(収縮期)血圧 130mmHg以上

最低(拡張期)血圧 85mmHg以上

高血糖

空腹時血糖値 110mg/dL以上

脂質異常

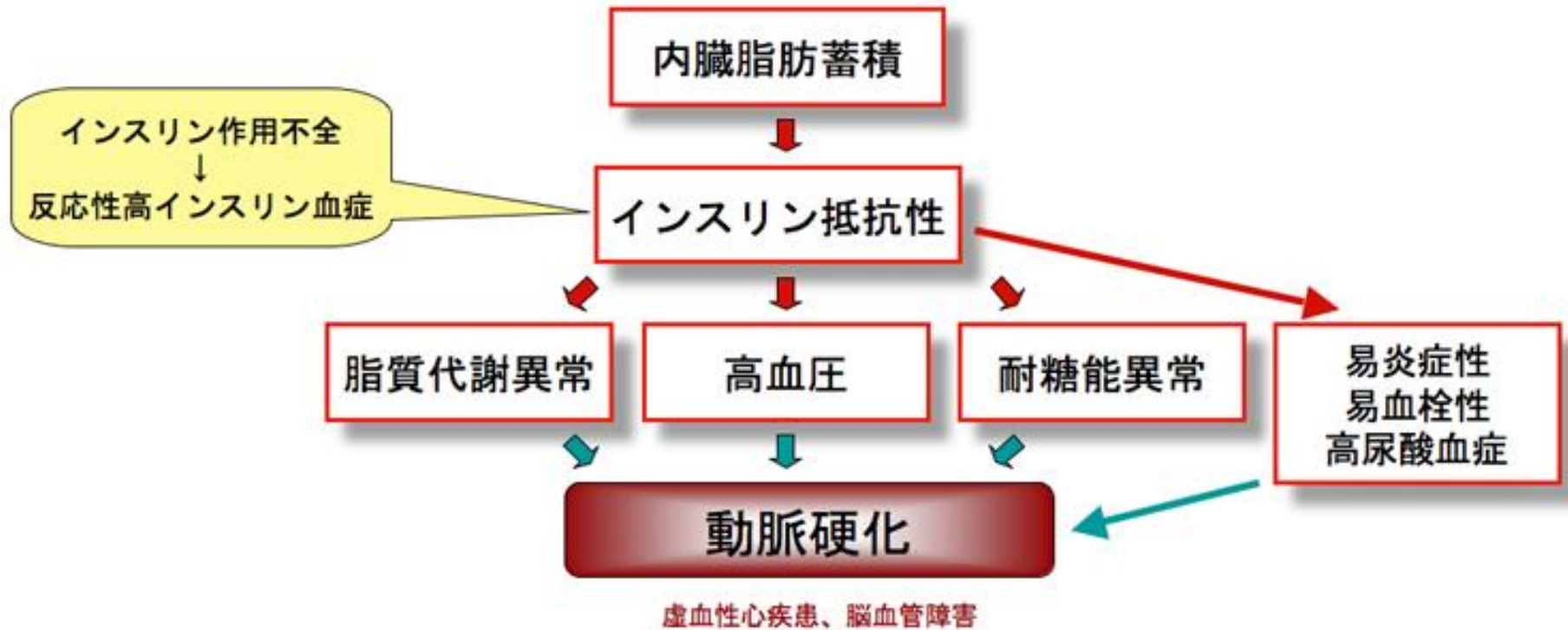
中性脂肪値 150mg/dL以上

HDLコレステロール値 40mg/dL 未満

現在、40～74歳の男性
2人に1人、女性6人に1
人がメタボリックシンド
ロームの疑いまたは予
備群であると報告され
ている。

平成25年 厚生労働省
「国民健康・
栄養調査報告」

メタボリック症候群と心血管系疾患



メタボリック症候群を構成するのは
心血管系疾患のリスク増加因子

内臓脂肪蓄積・脂質代謝異常症・高血圧・耐糖能異常

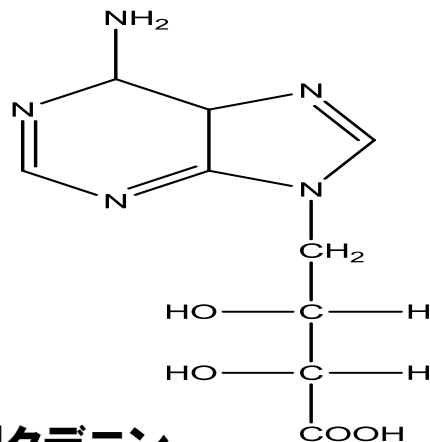
機能性食品としてのキノコ

メタボリックシンドロームが身近な存在となっている中で、「**機能性食品**」が注目されている。

＜**機能性食品**として知られているキノコの一例＞

『シイタケ』

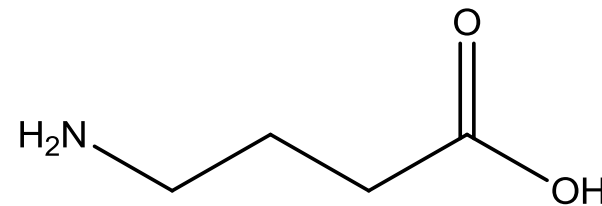
シイタケには「エリタデニン」と呼ばれる機能性成分が含まれており、「エリタデニン」はコレステロール低下作用を有している。



エリタデニン

『カワリハラタケ』

カワリハラタケはγ-アミノ酪酸を豊富に含有するキノコであり、このγ-アミノ酪酸は高血圧症を改善する有効成分として知られている。



γ-アミノ酪酸

キノコの摂取により、メタボリックシンドロームに対して予防・改善効果が期待できる。

越後白雪茸

越後白雪茸(*Basidiomycetes-X*)

新潟県の魚沼で発見された新種の食用キノコであり、一般的なキノコの形を作らないという特徴を持っている。

<越後白雪茸の機能性>

- ・高いヒドロキシラジカル消去活性を示し、抗酸化作用を有する
- ・アトピー性皮膚炎患者の皮膚状態改善作用を有する
- ・免疫賦活作用を有する



本研究室では以前、越後白雪茸を用いた長期摂餌試験を行っており、

肝機能改善効果

脂質代謝改善効果

血糖値上昇抑制効果

が報告されている。

越後白雪茸の一般成分分析



越後白雪茸乾燥粉末

(/100g)	越後白雪茸乾燥粉末
エネルギー (kcal)	179
水分 (g)	8.2
タンパク質 (g)	16.0
脂質 (g)	1.9
糖質 (g)	36.7
食物繊維 (g)	32.7
灰分 (g)	4.5
ナトリウム (mg)	10.1
β-グルカン(g)	13.5

他のきのこと同様に糖質・タンパク質・食物繊維
が比較的豊富でβ-グルカンを含んでいる

目的

【きのこに含まれる機能性成分】

作用	活性成分
抗腫瘍作用	β-グルカン α-グルカン ヘテロ多糖 RNA レクチン
抗癌作用	テルペノイド ヘリセノン エリナビロン類
抗ウイルス作用	β-グルカン タンパク質
抗血栓作用	レンチナン 核酸
コレステロール低下作用	エリタデニン グリホリン ネオグリホリン
食物繊維効果	β-グルカン ヘミセルロース キチン質
骨粗鬆症予防効果	エルゴステロール(ビタミンD)

きのこには様々な機能性成分が含まれており、その作用も多岐にわたる



越後白雪茸を混餌した高脂肪高ショ糖飼料を摂取させたラットを用いて、メタボリック症候群発症予防効果について検討を行った。

実験方法

実験区分

Cont.群: AIN-93M飼料摂餌群

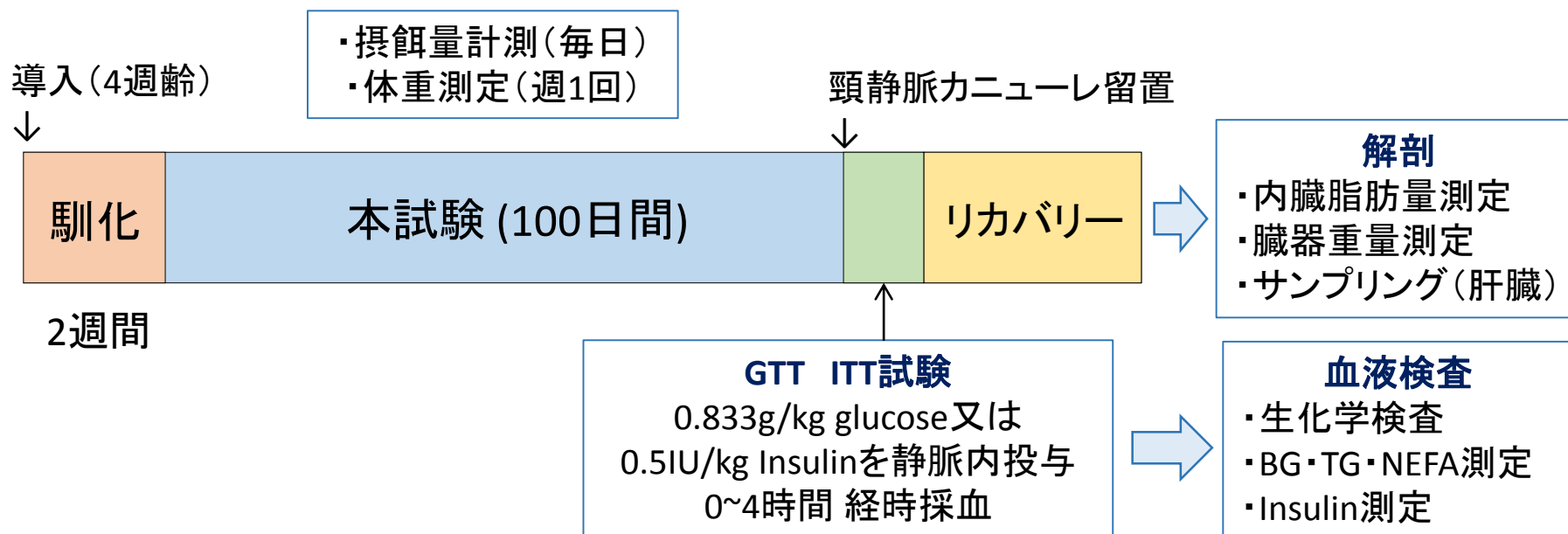
HFHS群: 高脂肪高シヨ糖飼料摂餌群

白雪茸群: 高脂肪高シヨ糖食

+5%越後白雪茸乾燥粉末飼料摂餌群

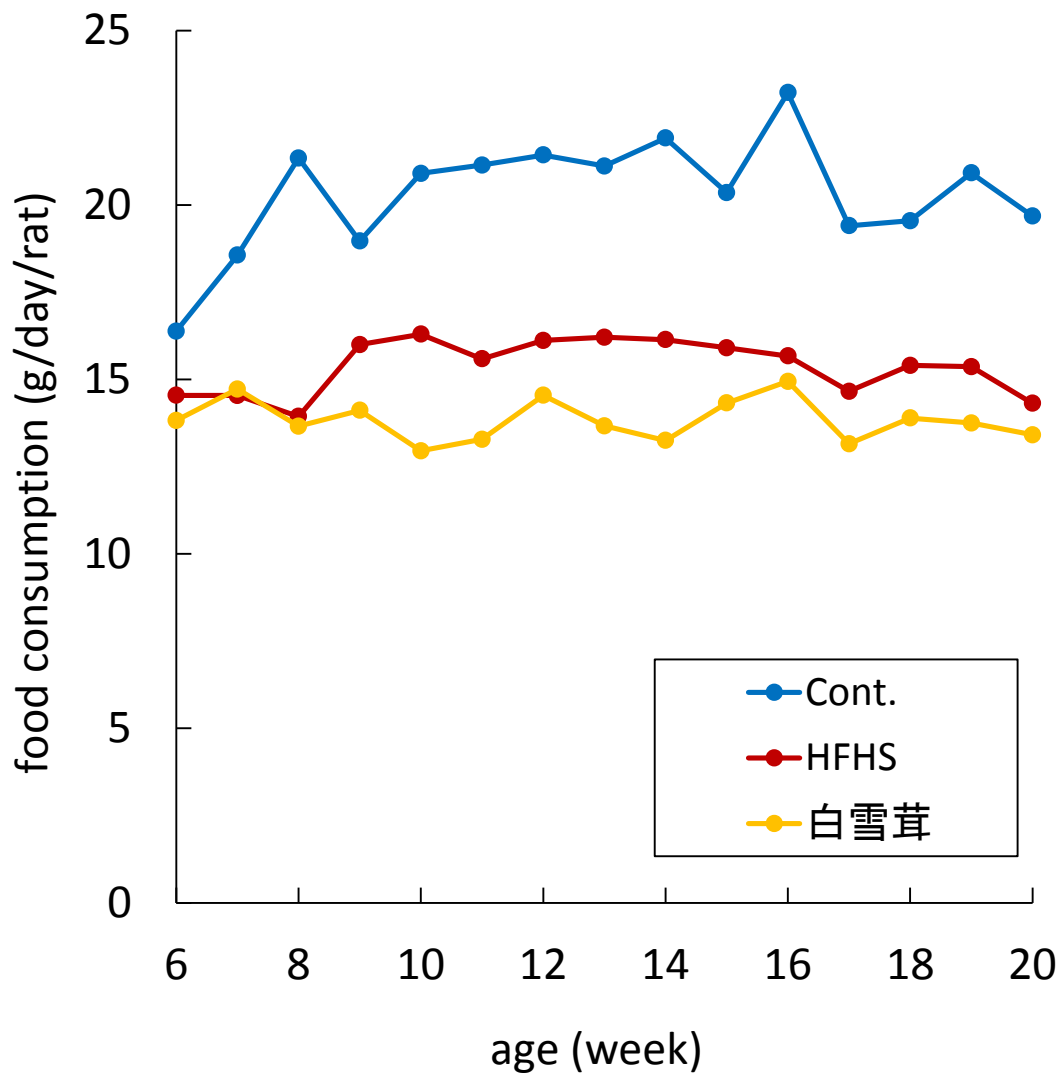
*カロリーはHFHS群と統一

実験スケジュール

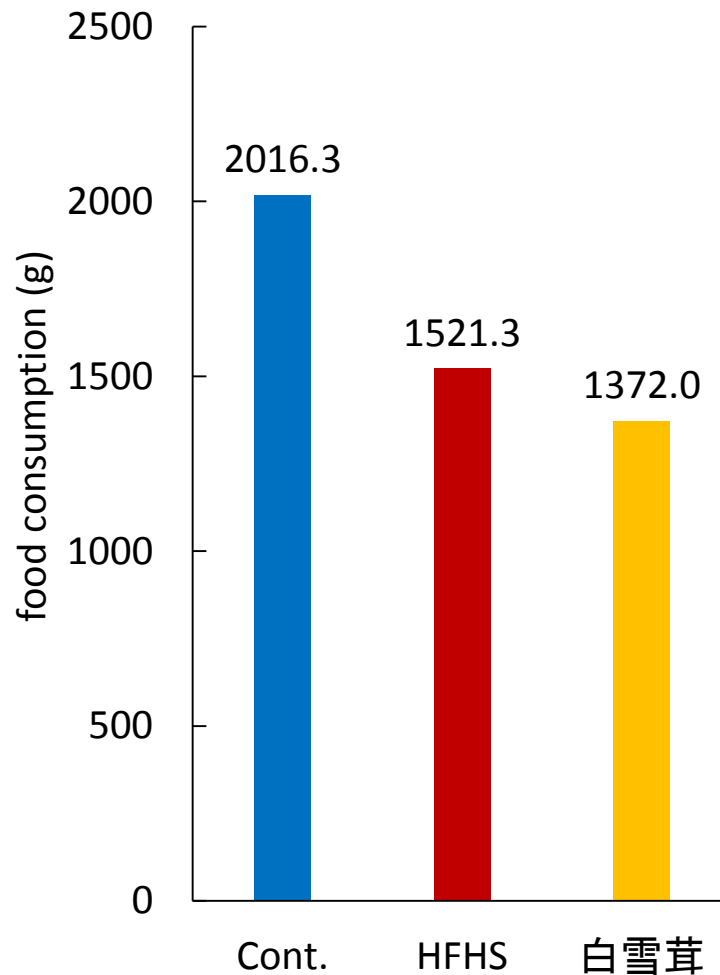


摂餌量の推移と累積摂餌量

【1日あたりの平均摂餌量の推移】

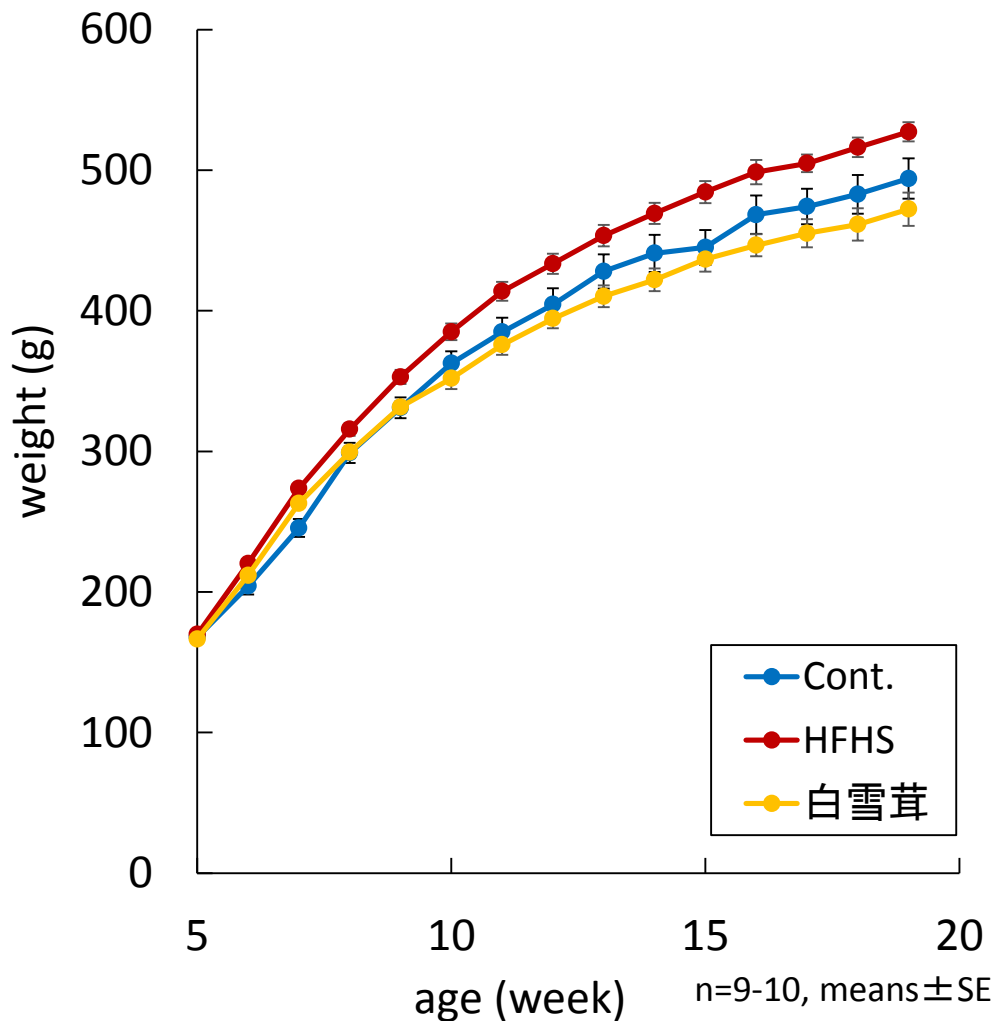


【累積摂餌量】

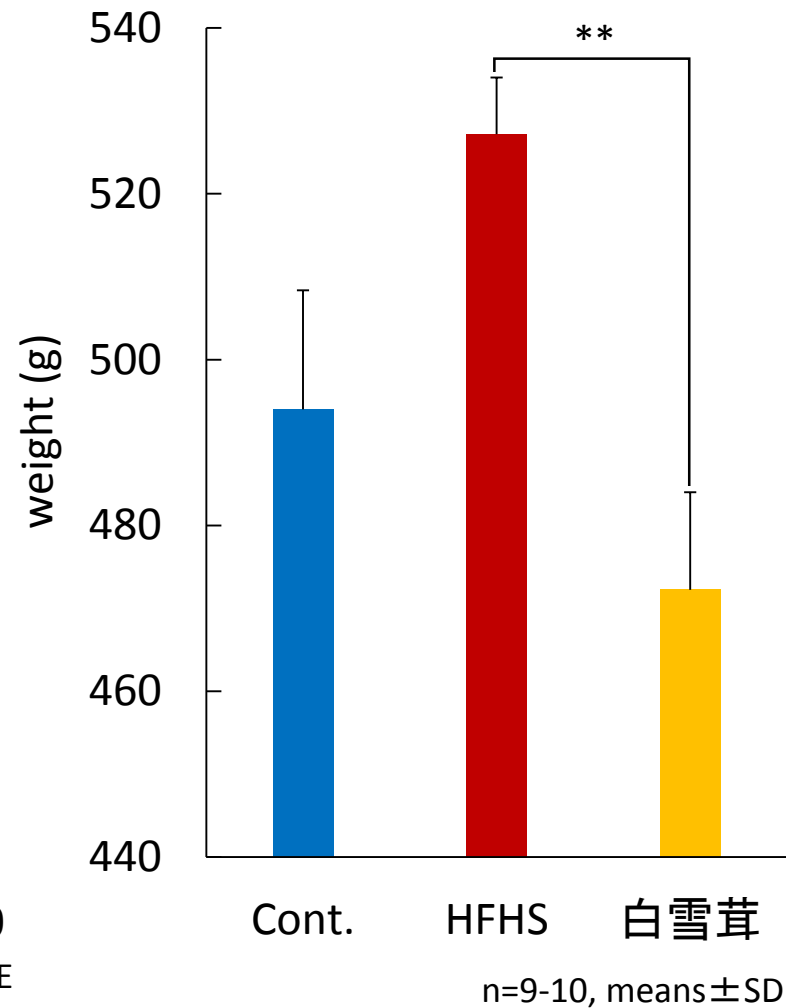


体重の推移

【体重の推移】



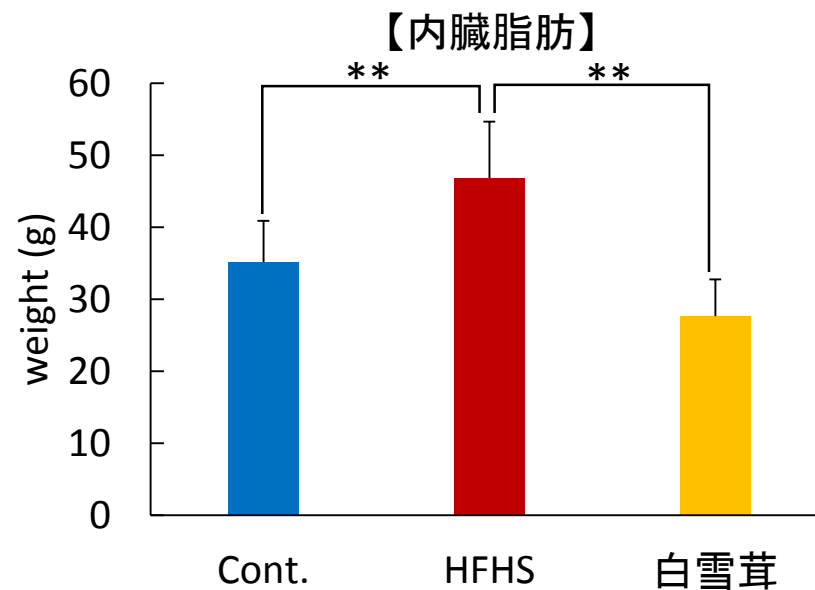
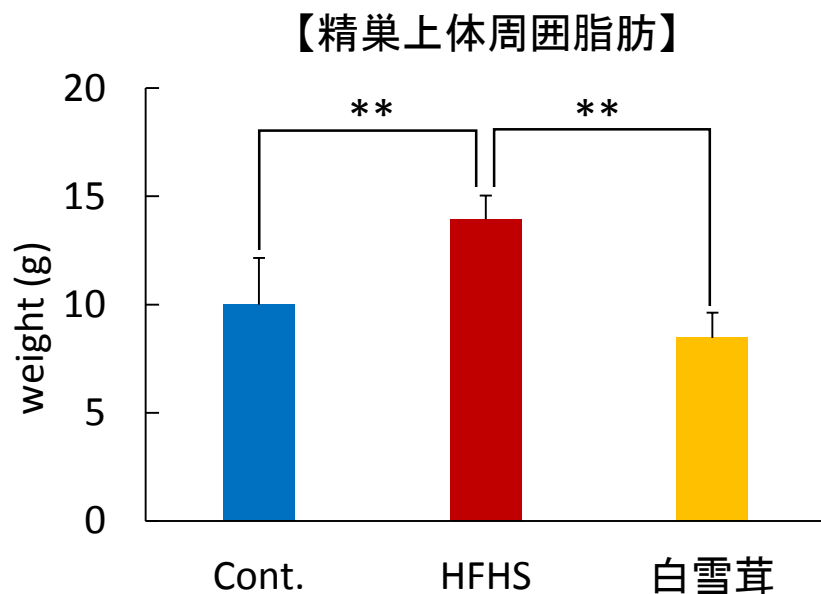
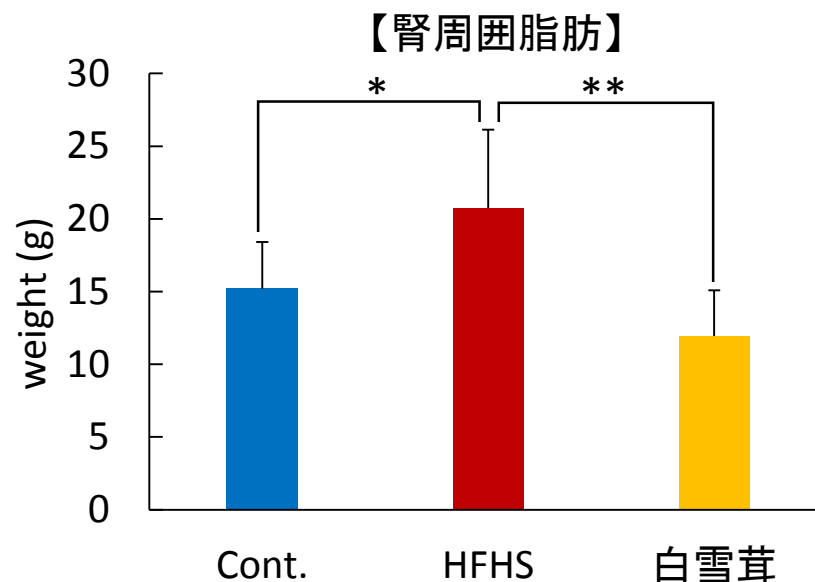
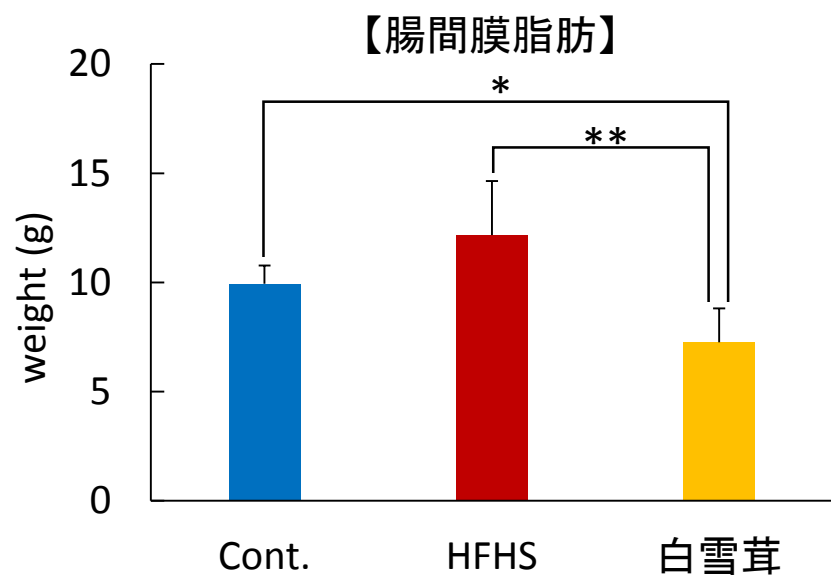
【100日飼育後の体重】



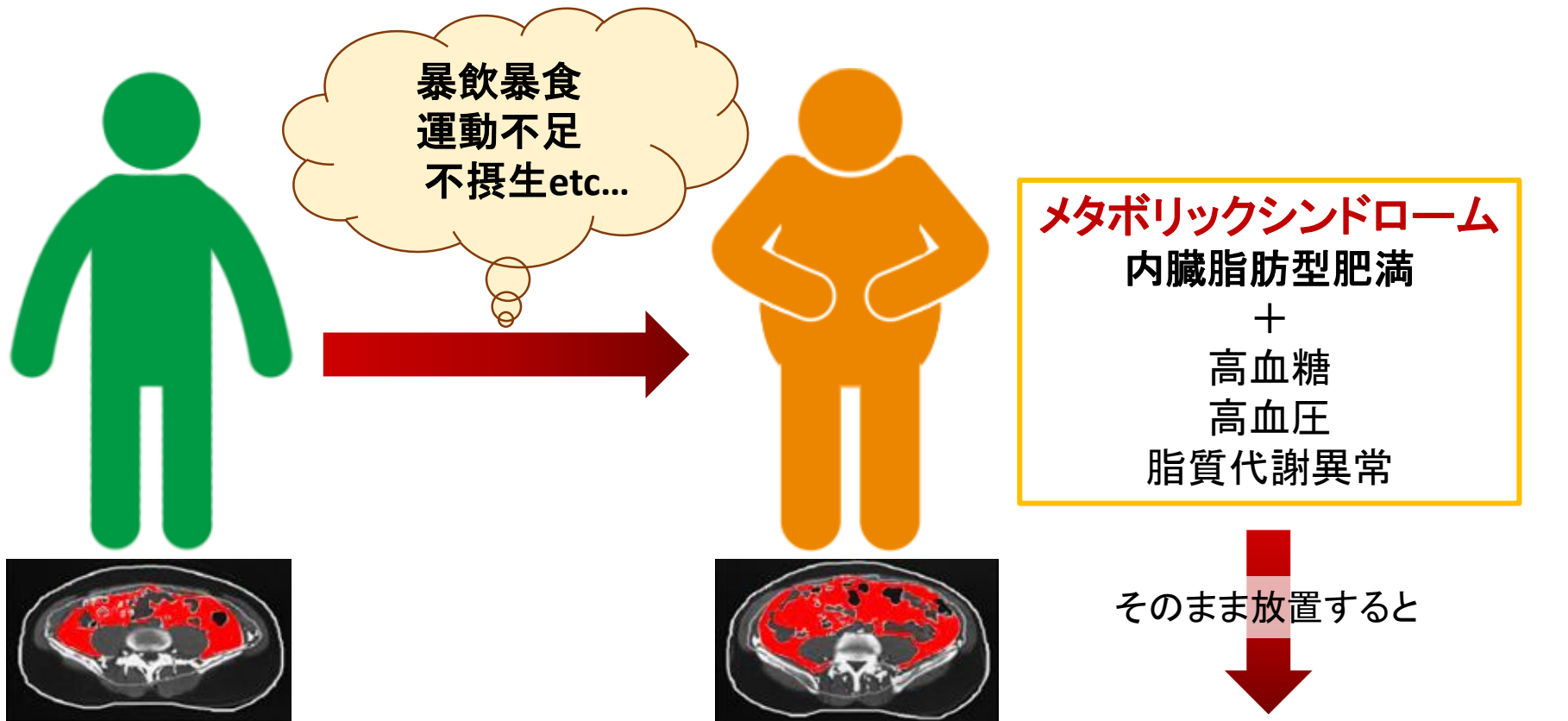
内臓脂肪量の比較

n=6-9, means ± SD

** P<0.01, * P<0.05 Tukey-Kramer test



内蔵脂肪の蓄積が様々な疾患を誘発する



白雪茸摂取により体重・内臓脂肪重量が有意に減少した

→抗肥満効果, 抗内臓脂肪蓄積効果

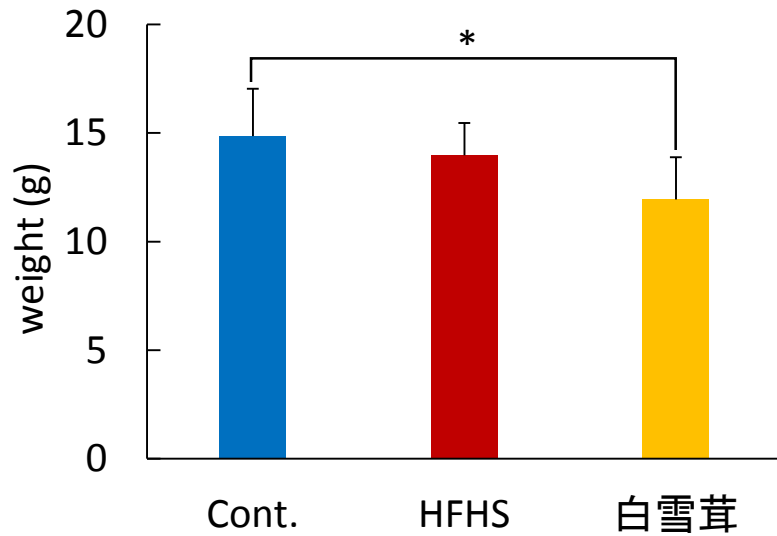
虚血性心疾患(心筋梗塞・狭心症)
脳卒中(脳梗塞・脳出血)
糖尿病及び糖尿病性合併症
(失明・腎不全)

肝機能系【肝臓重量・肝臓脂質】

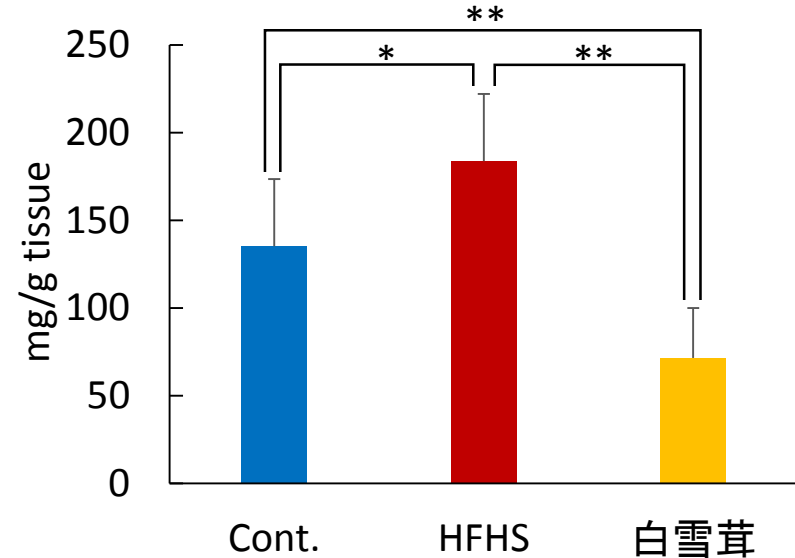
n=6-9, means±SD

** P<0.01, * P<0.05 Tukey-Kramer test

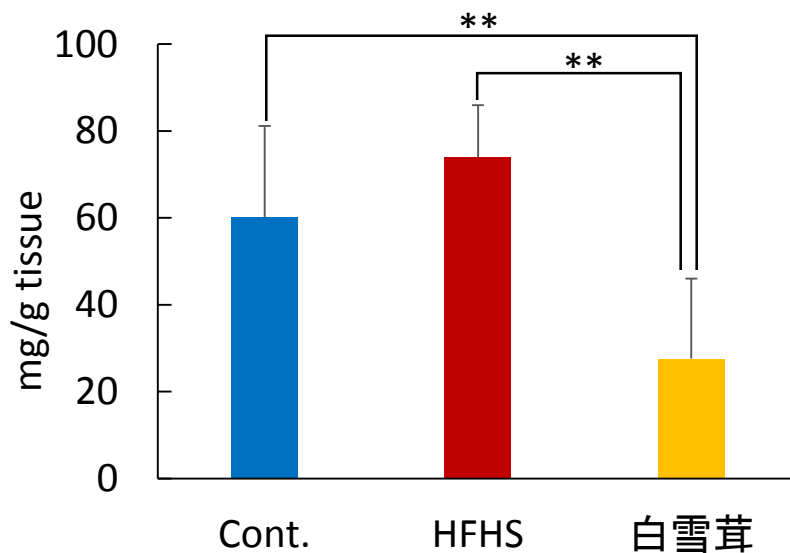
【肝臓重量】



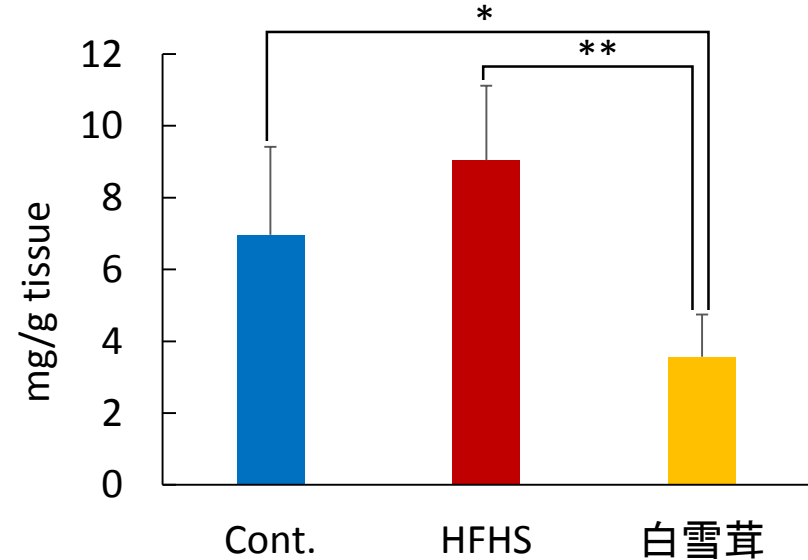
【肝臓総脂質量】



【肝臓中性脂肪】



【肝臓総コレステロール】

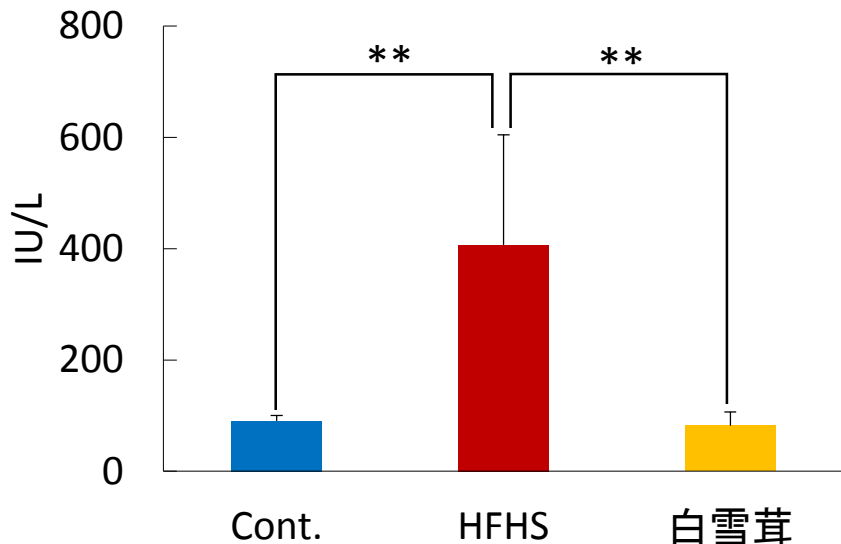


肝機能系【生化学分析】

n=6-9, means±SD

** P<0.01, * P<0.05 Tukey-Kramer test

【AST (GOT)】

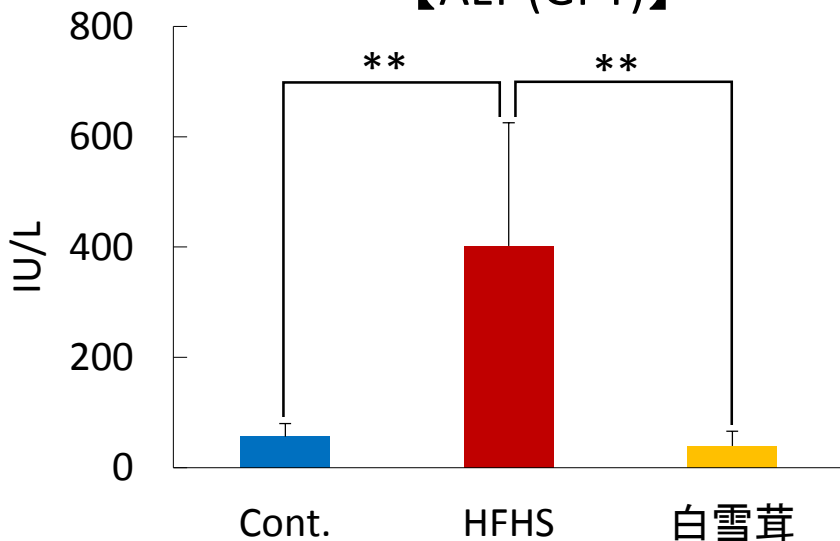


AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)
ALT (アラニンアミノトランスフェラーゼ)
LDH(乳酸脱水素酵素)

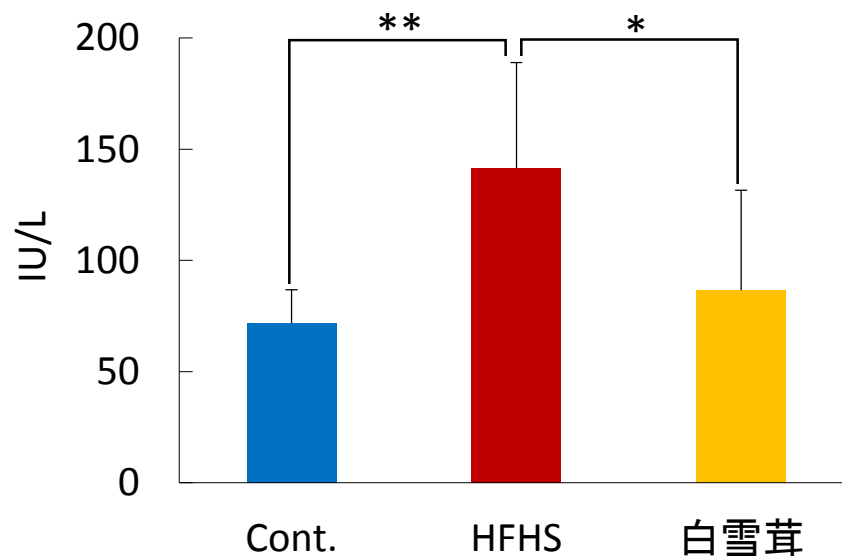


いずれも組織中に存在し、細胞が障害されることにより細胞外へ漏出する(逸脱酵素)。
特にALTは肝細胞にのみ存在するため、肝障害の重要な指標となる

【ALT (GPT)】

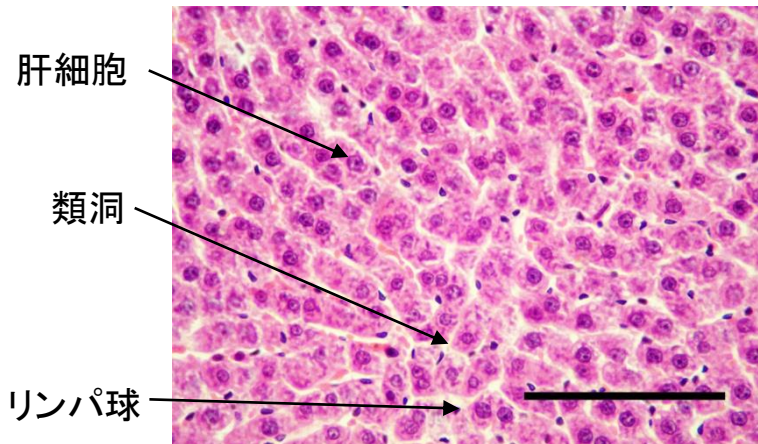


【LDH】

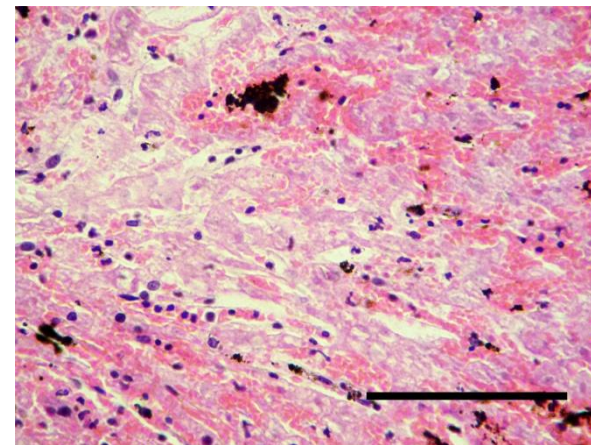


肝障害と肝臓中脂質の増加の関係性

HE 染色 x400
Scale 200μm

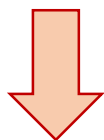


正常な肝組織



壊死

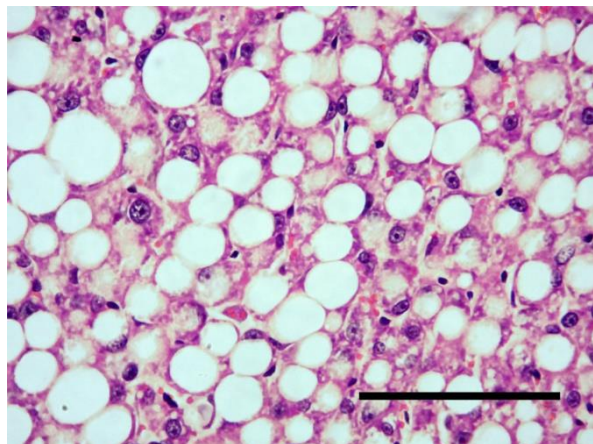
老化・不摂生
高脂肪食



白雪茸摂取により肝臓への脂質蓄積が抑制→肝機能改善



炎症の進行

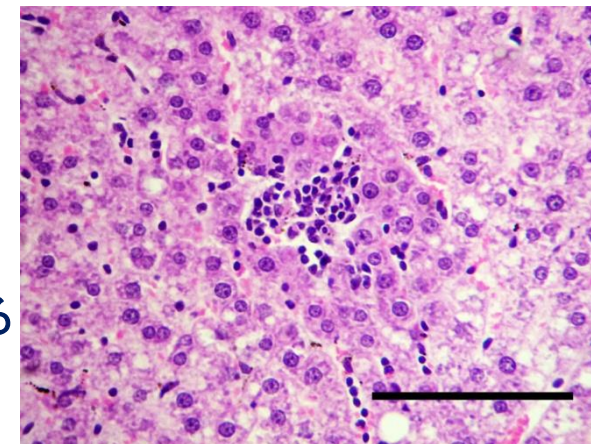


脂肪滴の蓄積(脂肪肝)

AST ↑
ALT ↑



異常な細胞に対する
リンパ球の応答
→細胞の破壊

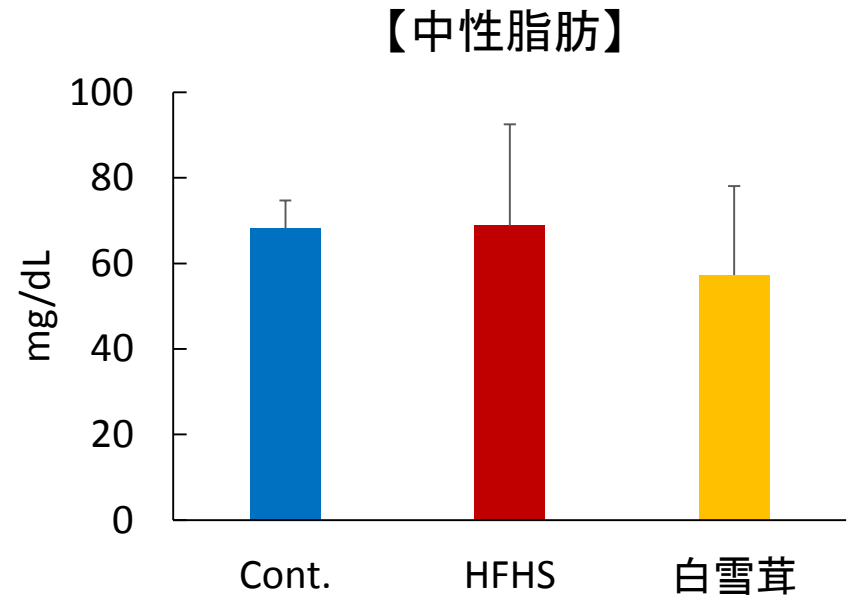
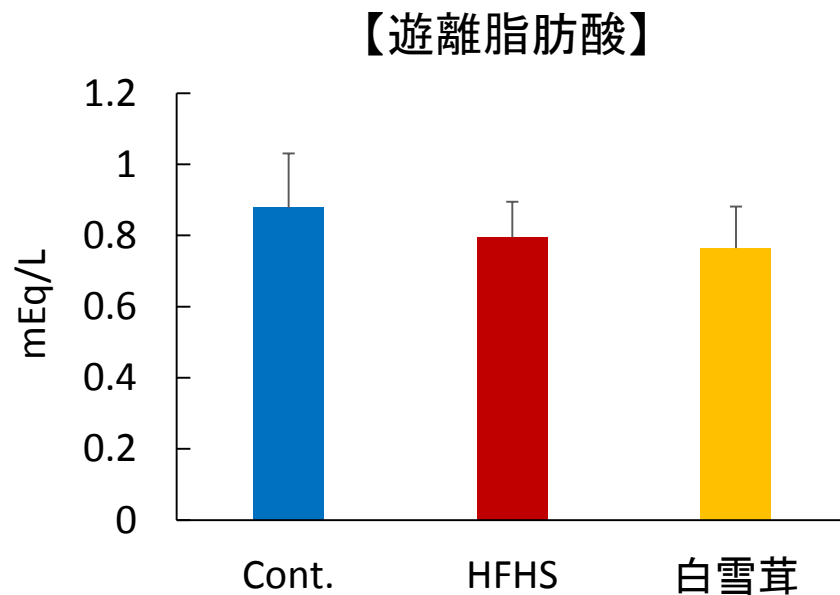
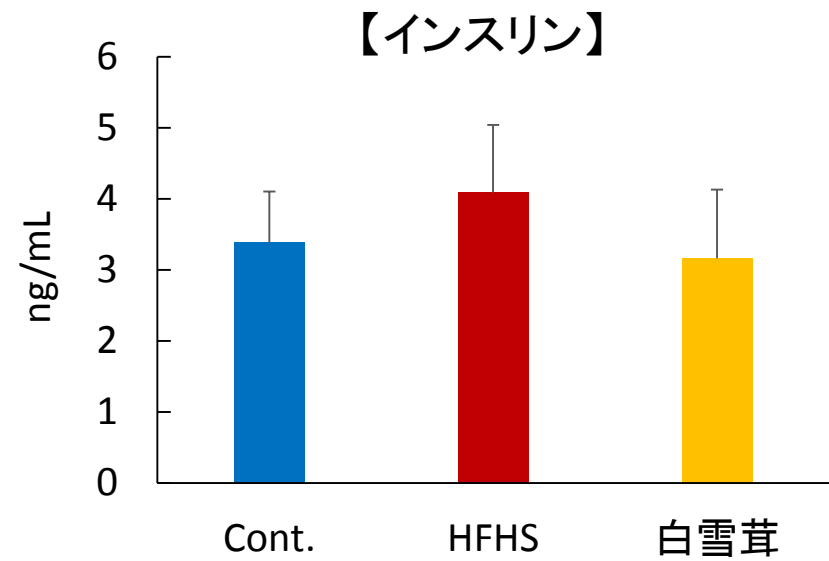
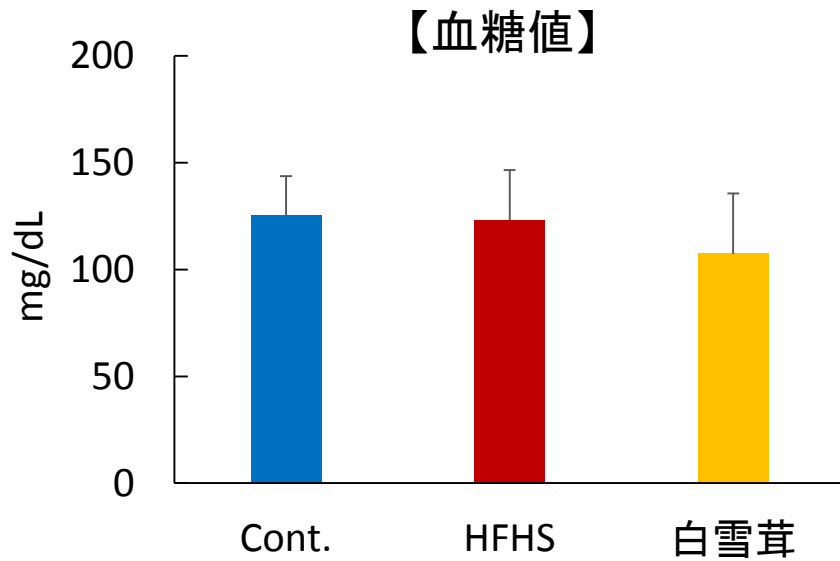


炎症

生化学分析【BG・Insulin・TG・NEFA】

n=6-9, means±SD

** P<0.01, * P<0.05 Tukey-Kramer test

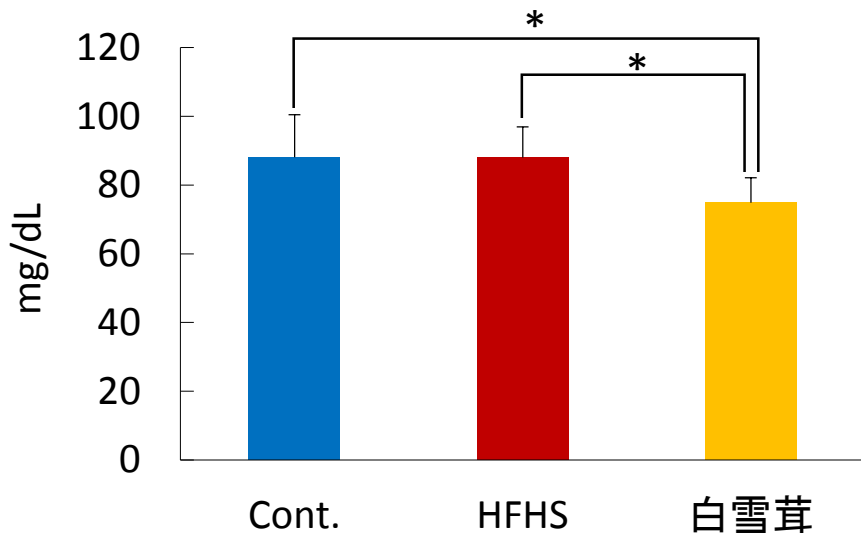


生化学分析【血漿コレステロール】

n=6-9, means±SD

** P<0.01, * P<0.05 Tukey-Kramer test

【総コレステロール】

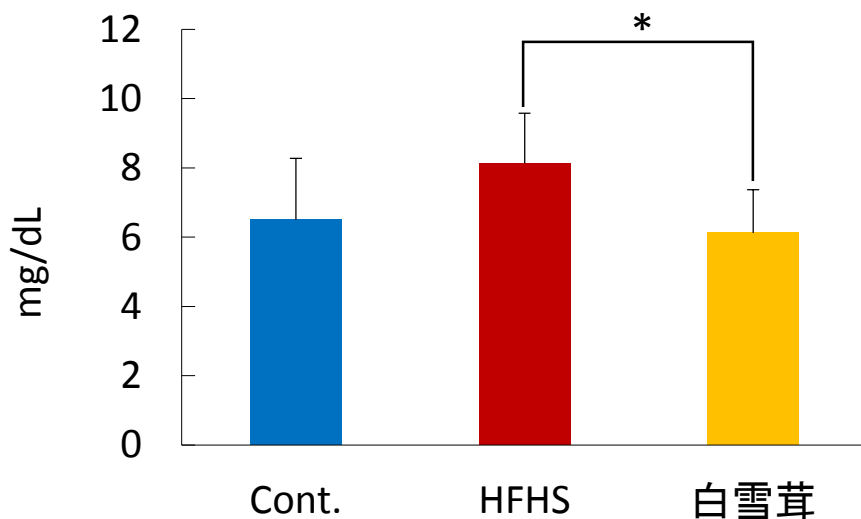


白雪茸摂餌群では総コレステロール及びLDL-コレステロール濃度が有意に減少した一方、HDL-コレステロール濃度には差が見られなかった。

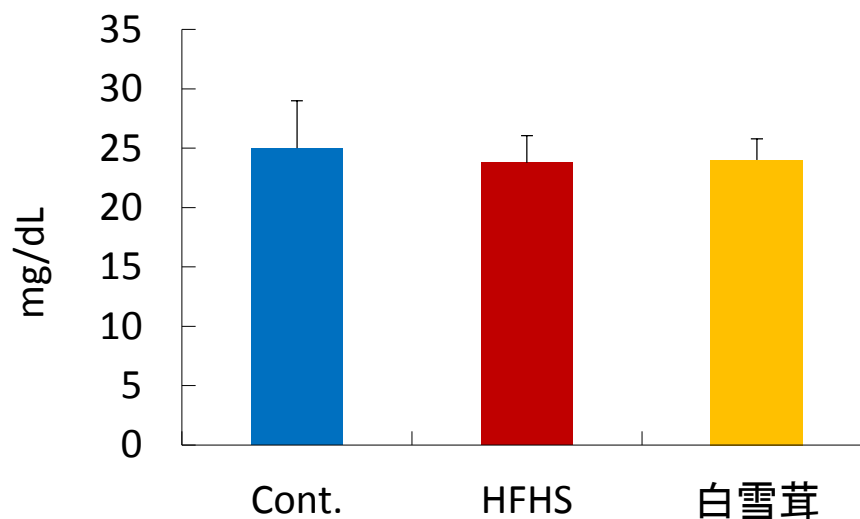


高脂肪高シヨ糖食によるLDL-コレステロールの増加が白雪茸により選択的に抑制された

【LDL-コレステロール】



【HDL-コレステロール】



静脈内負荷試験 (GTT・ITT)

0.833g/kg グルコース (Glucose Tolerance Test) 又は 0.5IU/kg インスリン (Insulin Tolerance Test)

経時的に採血
(0,1,5,10,15,20,30,40,50,60,80,100,120,150,180,210,240min)

血漿を分離

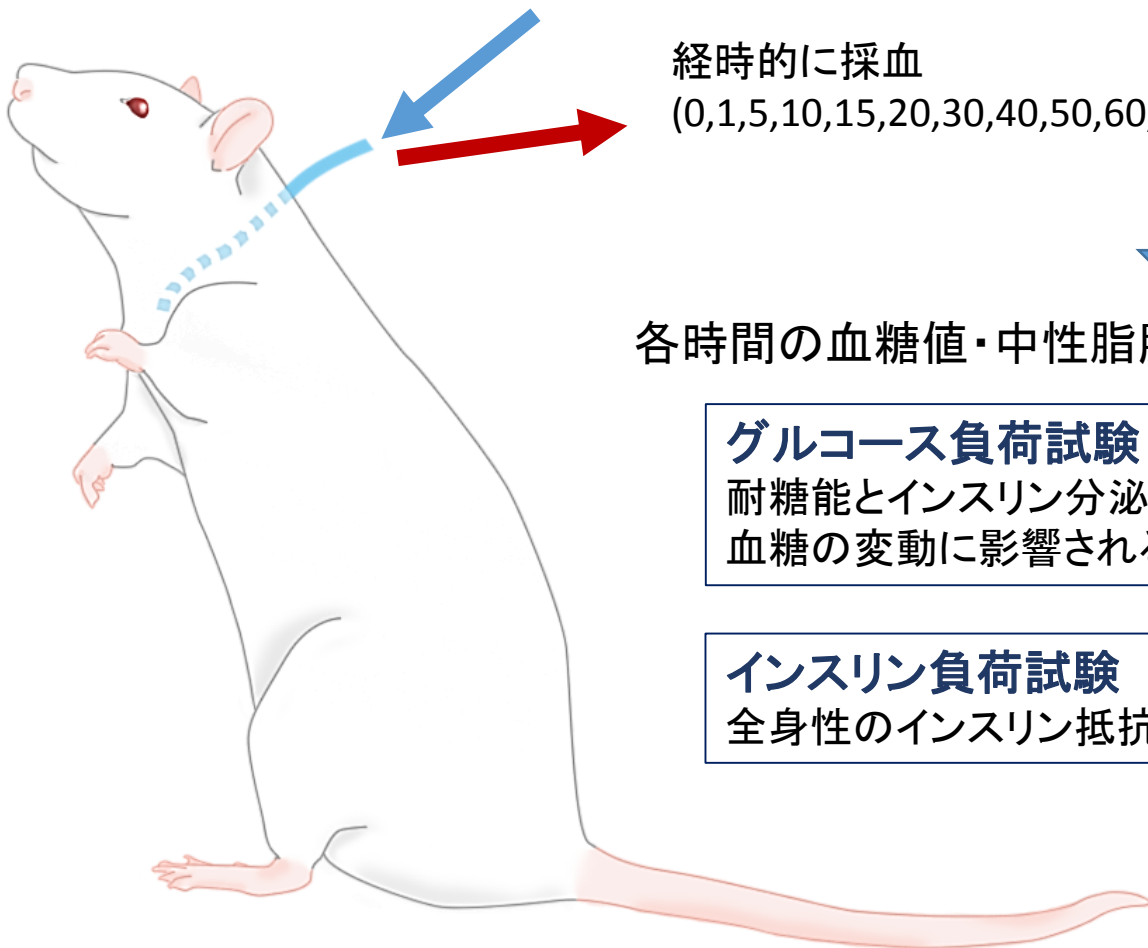
各時間の血糖値・中性脂肪・遊離脂肪酸濃度を測定

グルコース負荷試験

耐糖能とインスリン分泌の評価
血糖の変動に影響される他の代謝系の評価

インスリン負荷試験

全身性のインスリン抵抗性の評価

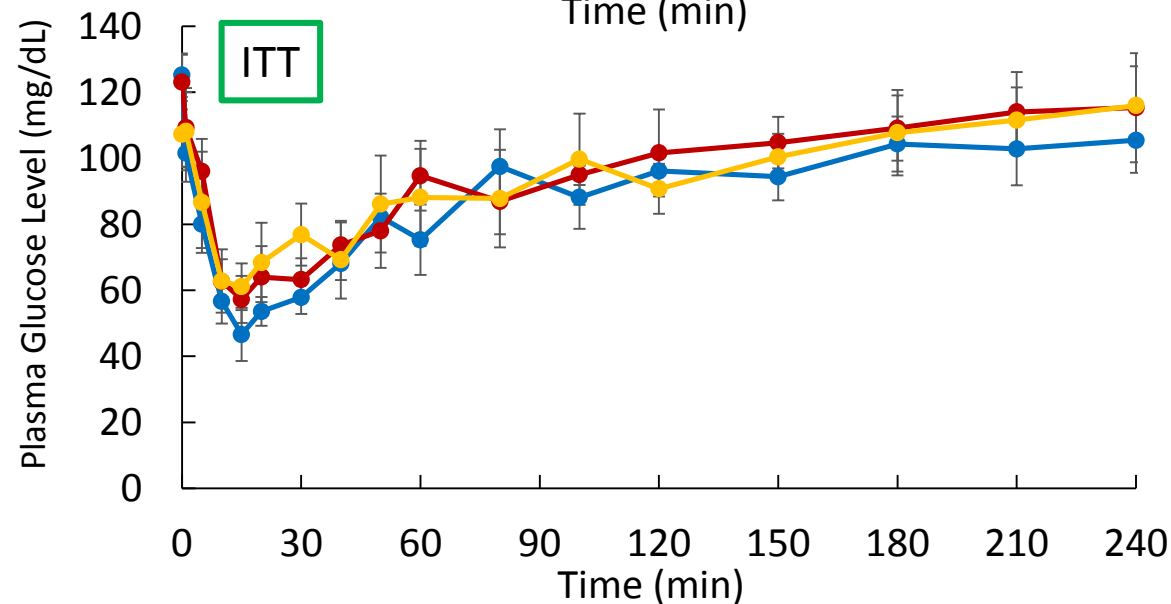
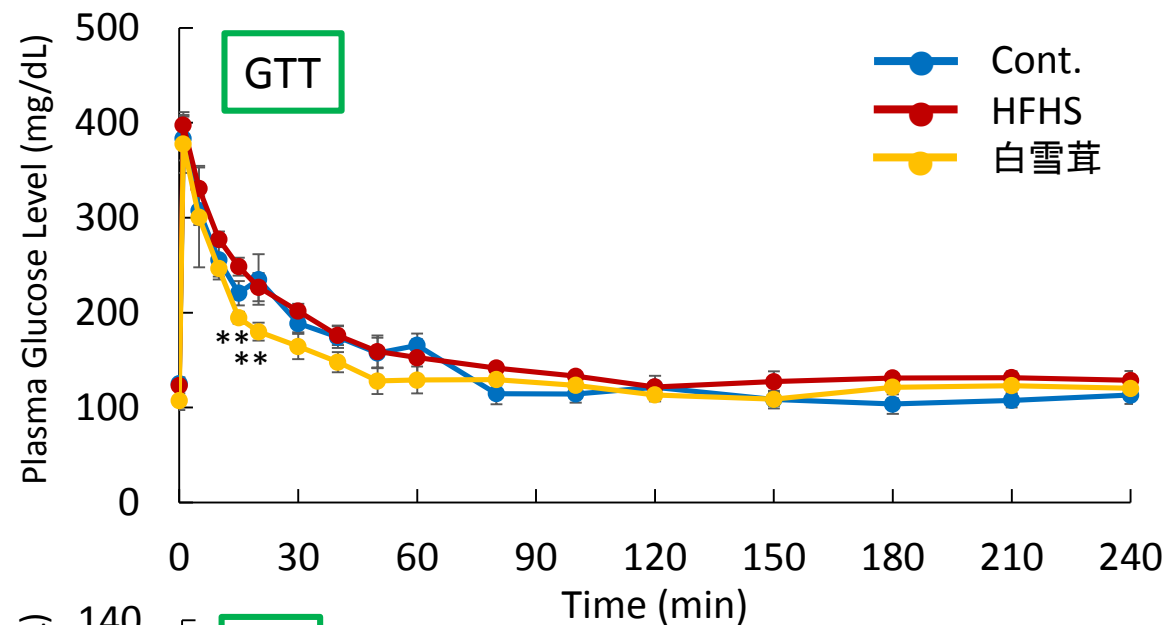


GTT・ITTによる血糖値の変動

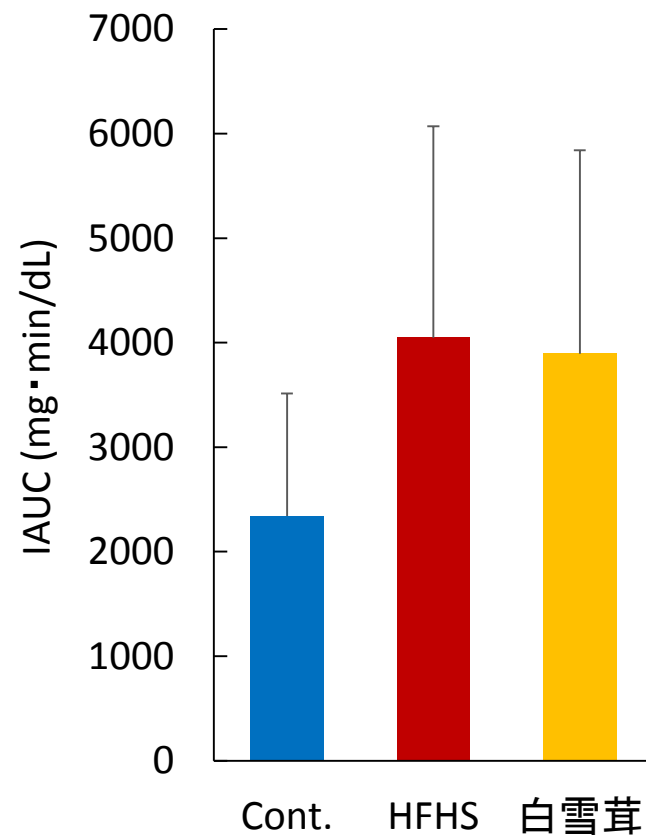
n=4, means±SE

** P<0.01, * P<0.05 Student's T-test

(HFHS vs 白雪茸)



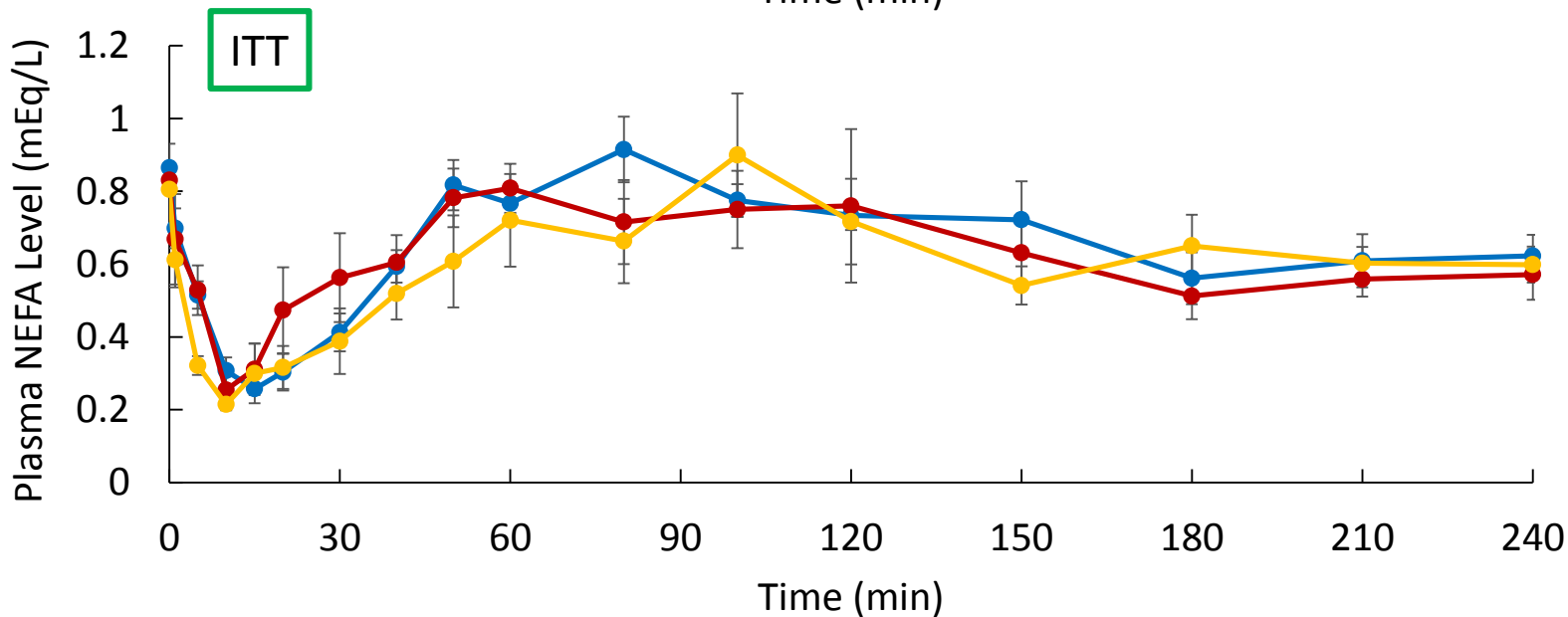
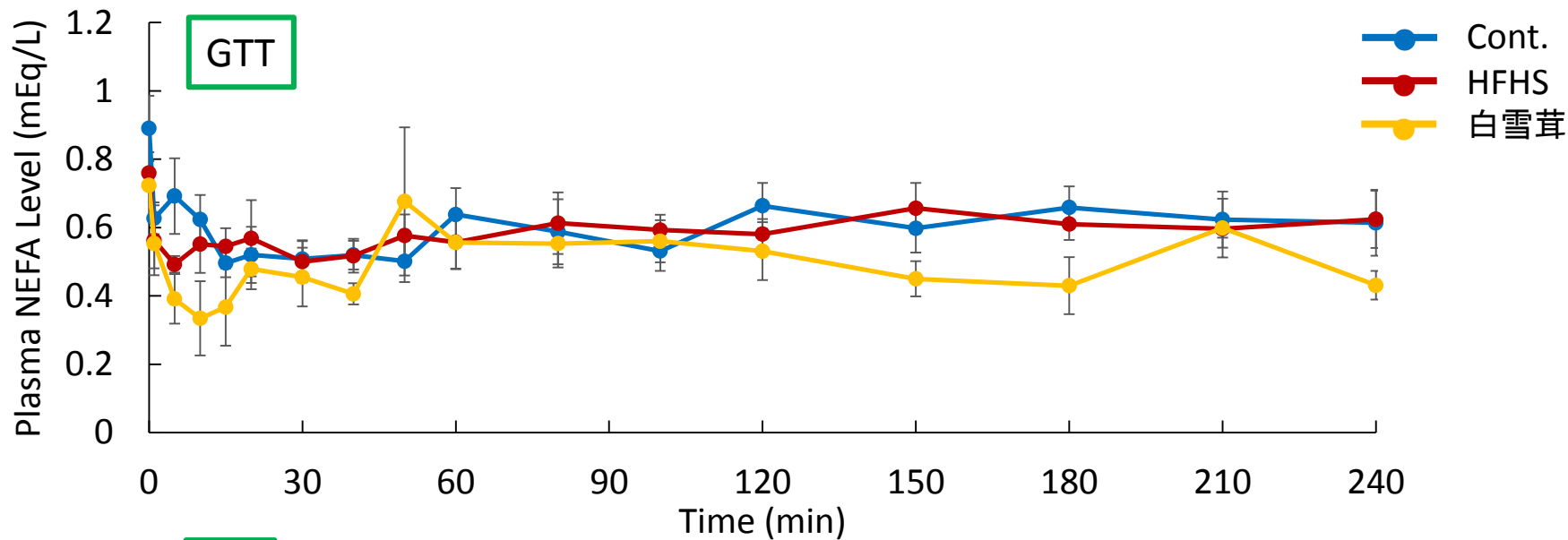
GTT 120分後における
血糖値上昇曲線下面積
(IAUC)



GTT・ITTによる遊離脂肪酸の変動

n=4, means ± SE

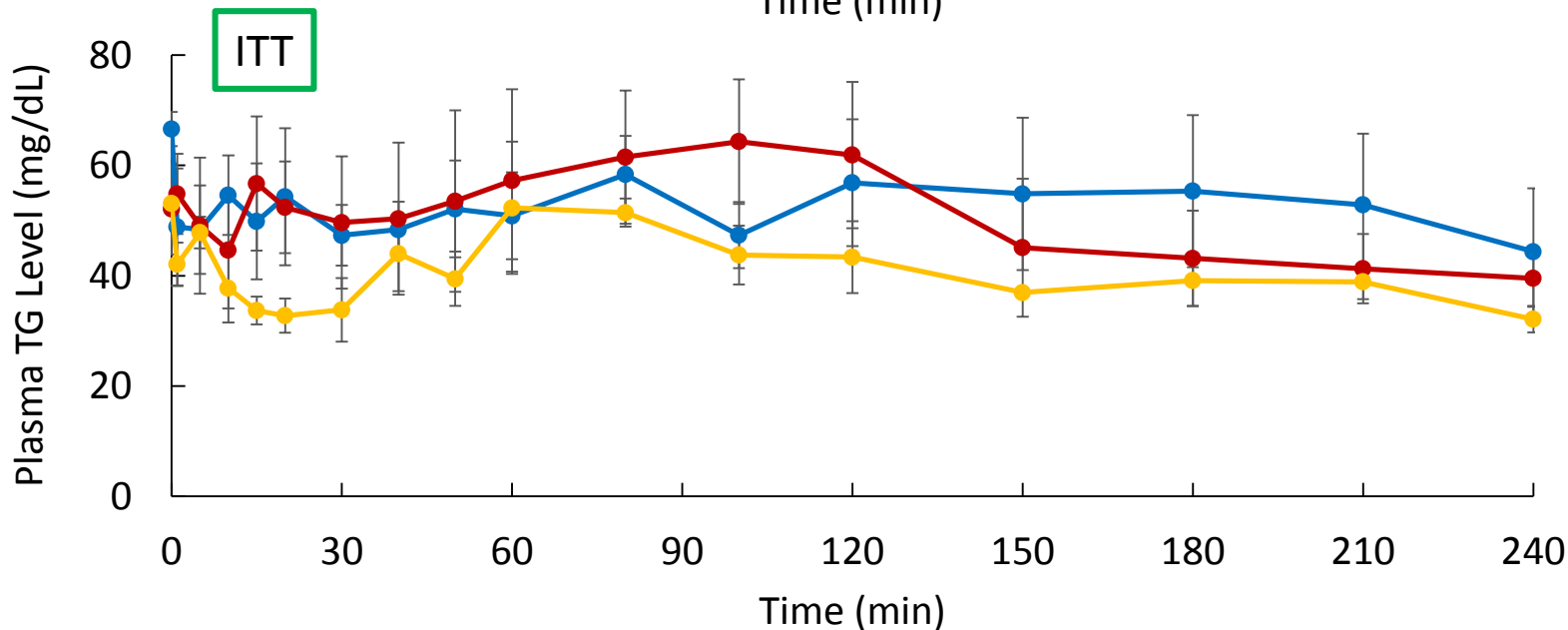
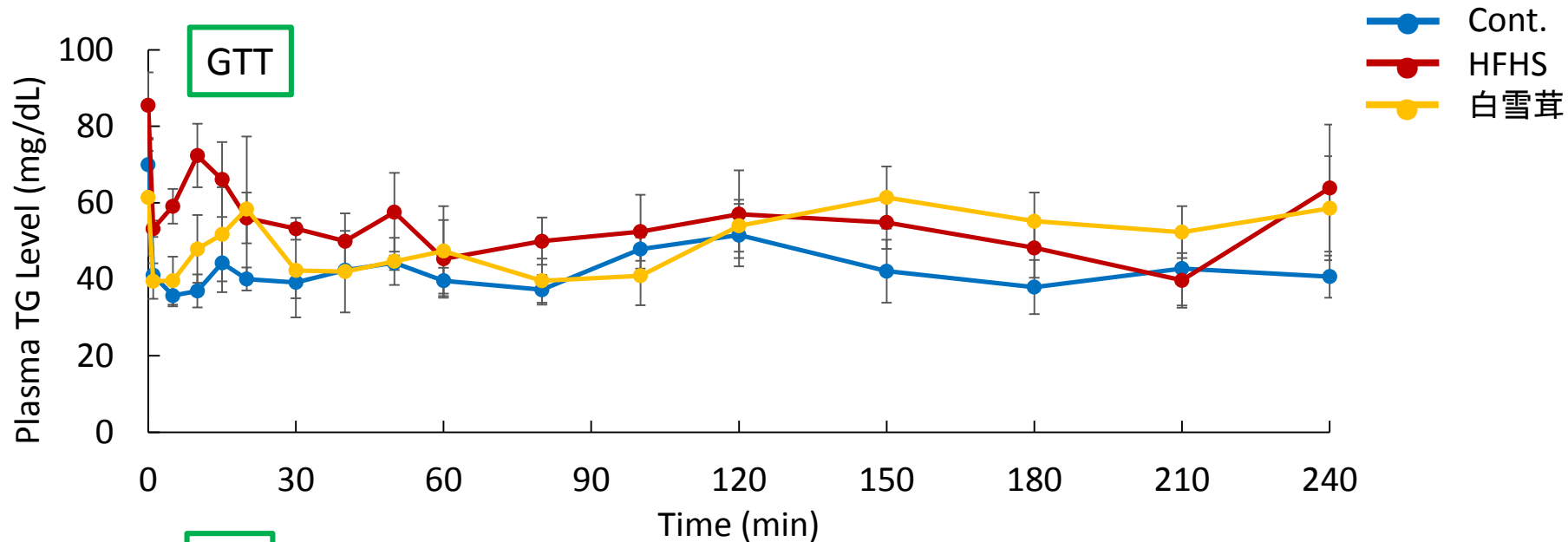
** P<0.01, * P<0.05 Student's T-test
(HFHS vs 白雪茸)



GTT・ITTによる中性脂肪の変動

n=4, means±SE

** P<0.01, * P<0.05 Student's T-test
(HFHS vs 白雪茸)



まとめ

【摂餌量・体重】

- ・摂餌量はHFHS群と比較して低い傾向が見られた
- ・体重はHFHS群と比較して有意に減少した。内臓脂肪を測定したところいずれの内臓脂肪もHFHS群と比較して有意に減少していた

【肝臓】

- ・肝臓脂質は総脂質・中性脂肪・総コレステロールいずれもHFHS群より有意に減少していた
- ・肝機能パラメータもHFHS群より有意に改善した

【GTT・ITT】

- ・GTTにおいて血糖値が低く推移した



越後白雪茸乾燥粉末を摂取することにより内臓脂肪の減少及び肝臓の脂質を減少させ、肝機能を改善させる効果

越後白雪茸画分の抗肥満効果

実験区分

1. Cont.群: AIN-93M飼料摂餌群
2. HFHS群: 高脂肪高シヨ糖飼料摂餌群
3. 白雪茸群: 高脂肪高シヨ糖食
+5%越後白雪茸乾燥粉末飼料摂餌群
4. 白雪茸エタノール抽出群:
高脂肪高シヨ糖食
+白雪茸エタノール抽出粉末飼料摂餌群
5. 白雪茸エタノール抽出残渣群: 高脂肪高シヨ糖食
+白雪茸エタノール抽出残渣粉末飼料摂餌群

越後白雪茸画分の抗肥満効果

越後白雪茸の水抽出物および水抽出残渣を用いて、
各画分の抗肥満効果について検討を行う。



越後白雪茸の有効成分がどの画分に含まれているか？
また、画分による効果に差があるのか？

越後白雪茸乾燥粉末の一般成分分析

(/100 g)	越後白雪茸乾燥粉末	越後白雪茸水抽出物 乾燥粉末	越後白雪茸水抽出残渣 乾燥粉末
エネルギー(kcal)	179	372	311
水分(g)	8.2	0.8	0.4
タンパク質(g)	16.0	4.7	21.0
脂質(g)	1.9	0.2	1.9
糖質(g)	36.7	86.5	30.9
食物繊維(g)	32.7	2.9	43.3
灰分(g)	4.5	4.9	2.5
ナトリウム(mg)	10.1	12.0	4.0

実験方法

<実験動物>

Wistar系雄性ラット

5週齢

4週齢で導入し、1週間馴化させた。

<群分け>

・標準飼料(改変AIN93-M): **Cont.群**

・高脂肪高シヨ糖飼料: **HFHS群**

・越後白雪茸乾燥粉末 + 高脂肪高シヨ糖飼料: **BX-T群**

・越後白雪茸水抽出物乾燥粉末 + 高脂肪高シヨ糖飼料: **BX-E群**

・越後白雪茸水抽出残渣乾燥粉末 + 高脂肪高シヨ糖飼料: **BX-R群**

越後白雪茸
乾燥粉末

水抽出

(各群n=10、越後白雪茸乾燥粉末それぞれは飼料全体に対して5%となるように加えた)

<実験デザイン>

馴化期間

15週間の摂餌試験中

摂餌試験終了後

・群分け

・摂餌量測定(毎日)

・体重測定(週1回)

・代謝試験

・解剖

・病理診断

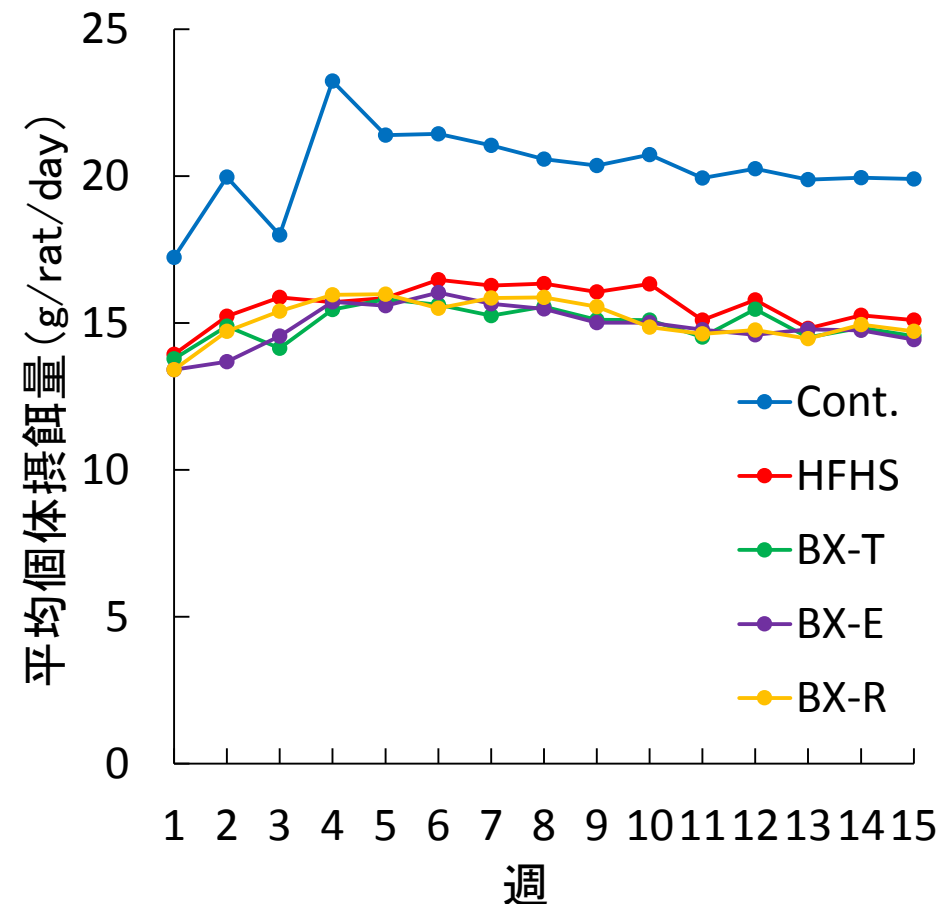
・血漿サンプル測定

・肝臓中の脂質測定

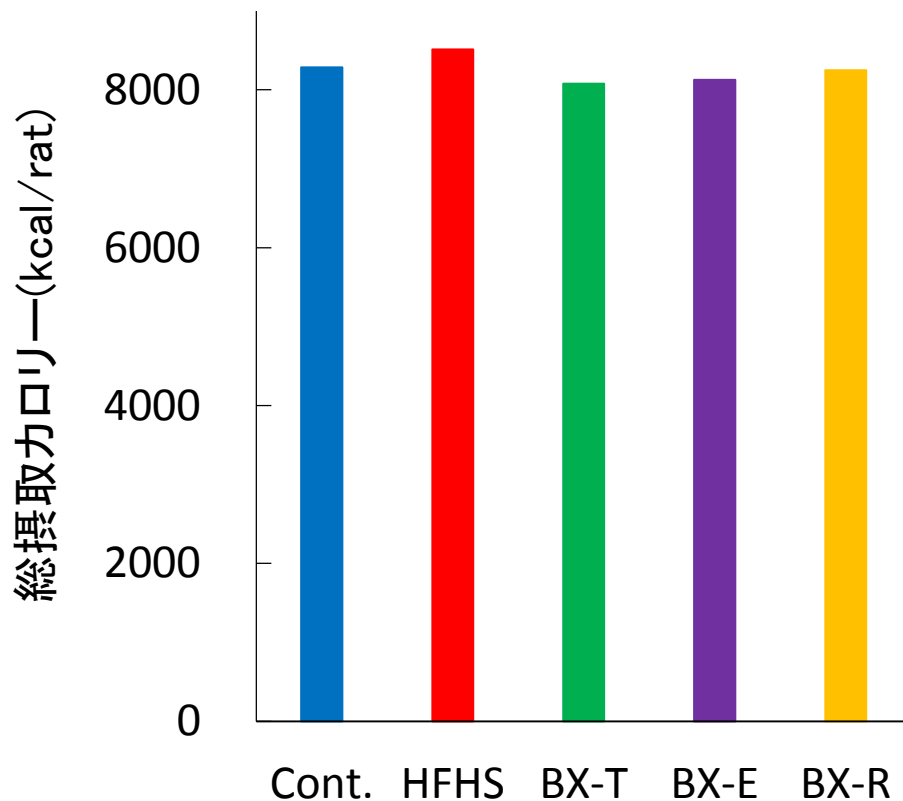
摂餌量

n=8-10

摂餌量の推移



総摂取カロリー

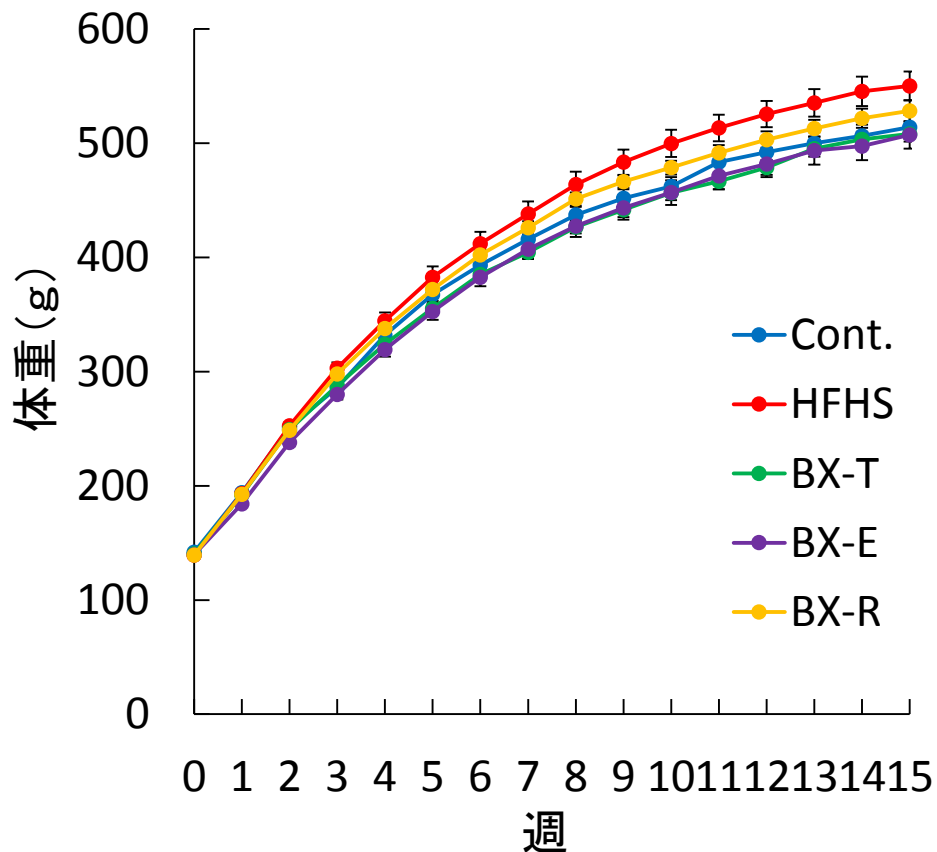


Cont.群は摂餌量が高く推移していたが、総摂取カロリーは全群ほぼ同程度であった。

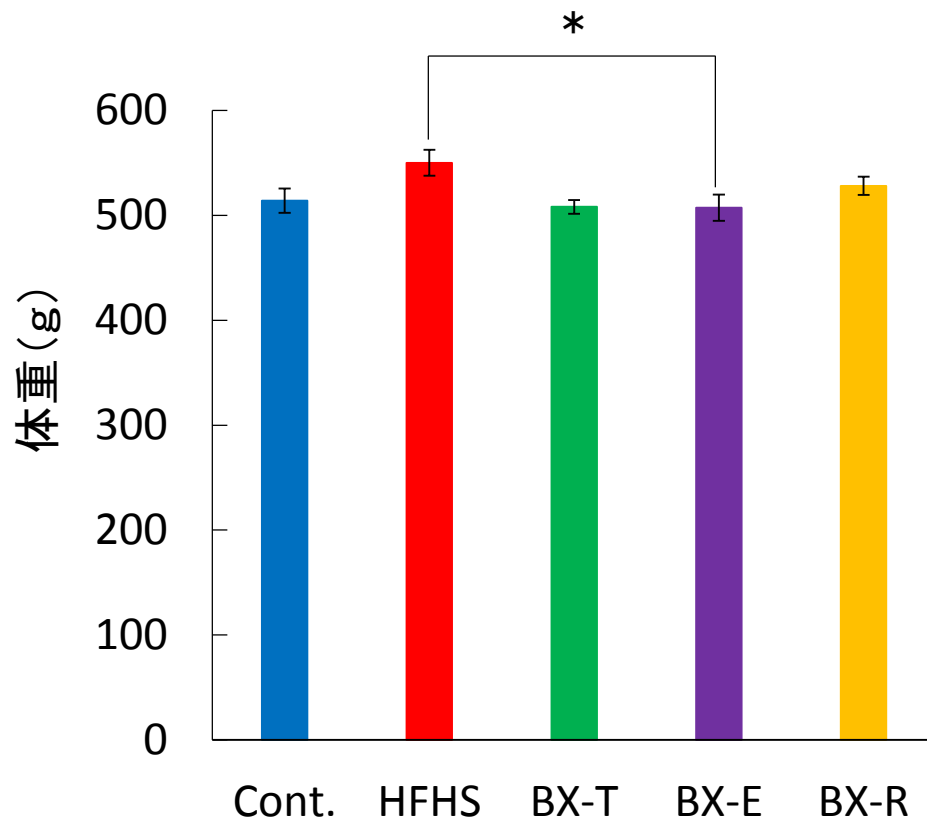
体重

n=8-10, means±SEM

体重の推移



摂餌試験終了時の体重



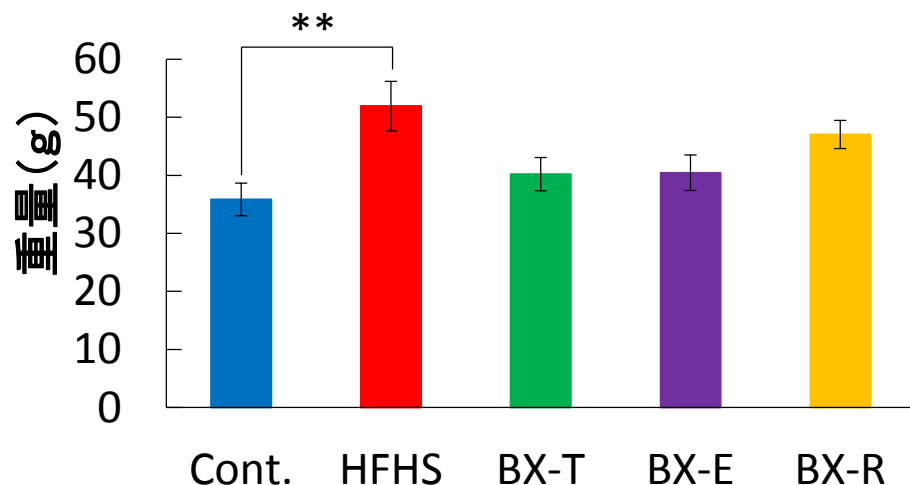
越後白雪茸含有群(BX-T,BX-E,BX-R)はHFHS群と比較して低値を示しており、その中でもBX-E群は有意に低値を示した。

内臓脂肪重量

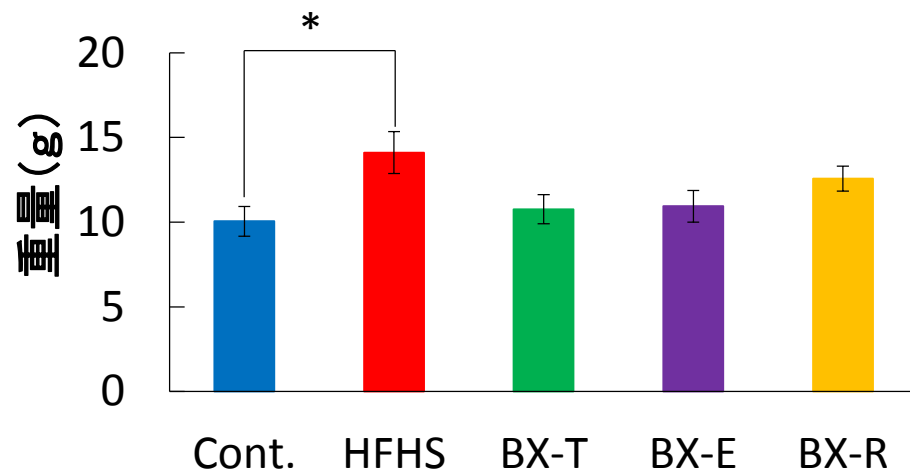
n=8-10, means±SEM

**P<0.01 *P<0.05 Tukey-Kramer test(vs HFHS)

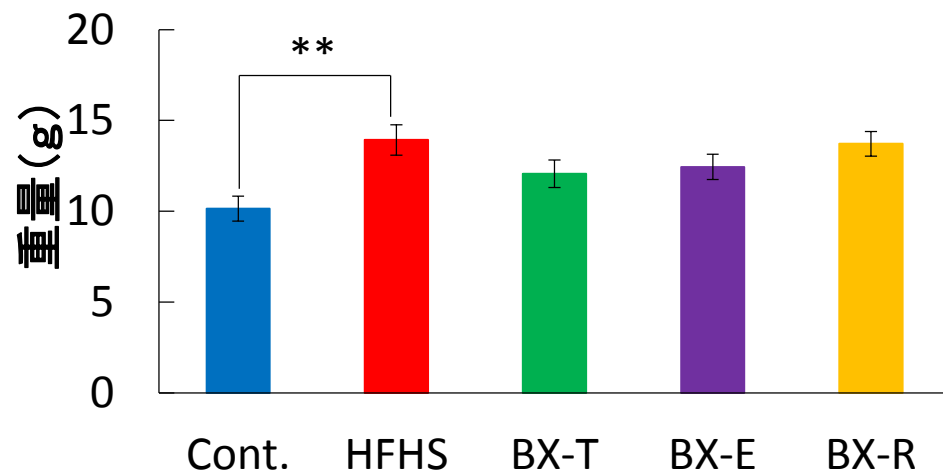
内臓脂肪重量



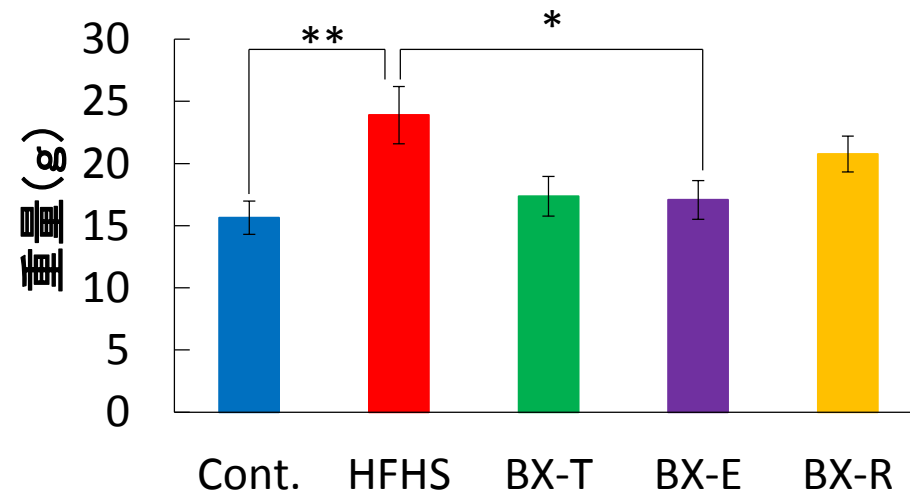
腸間膜脂肪重量



精巣上体周囲脂肪重量



腎周囲脂肪重量



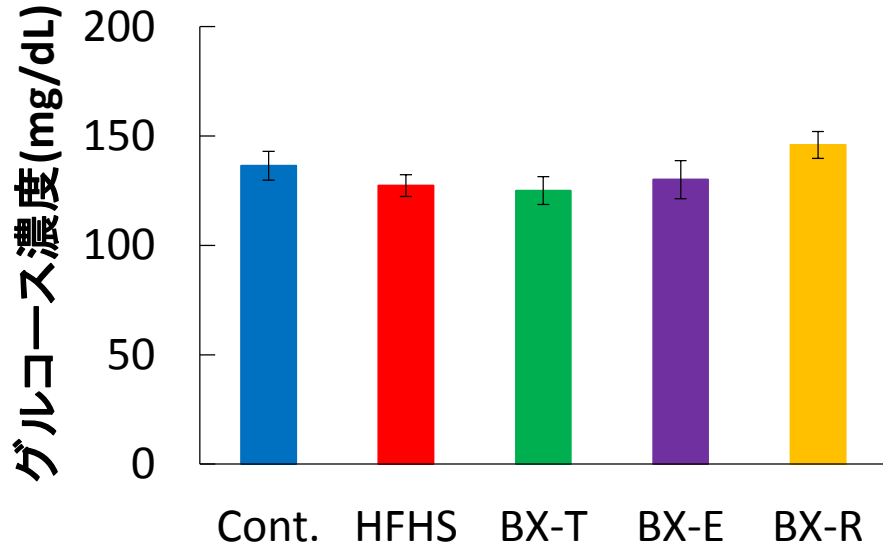
(内臓脂肪は腸間膜脂肪、精巣上体周囲脂肪、腎周囲脂肪の合算値)

血糖値、中性脂肪、遊離脂肪酸

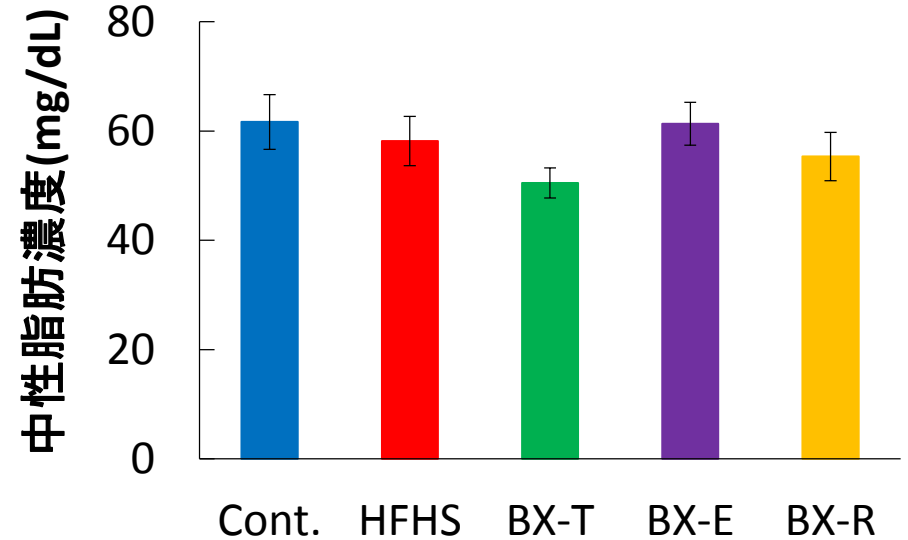
n=8-10, means \pm SEM

**P<0.01 *P<0.05 Tukey-Kramer test(vs HFHS)

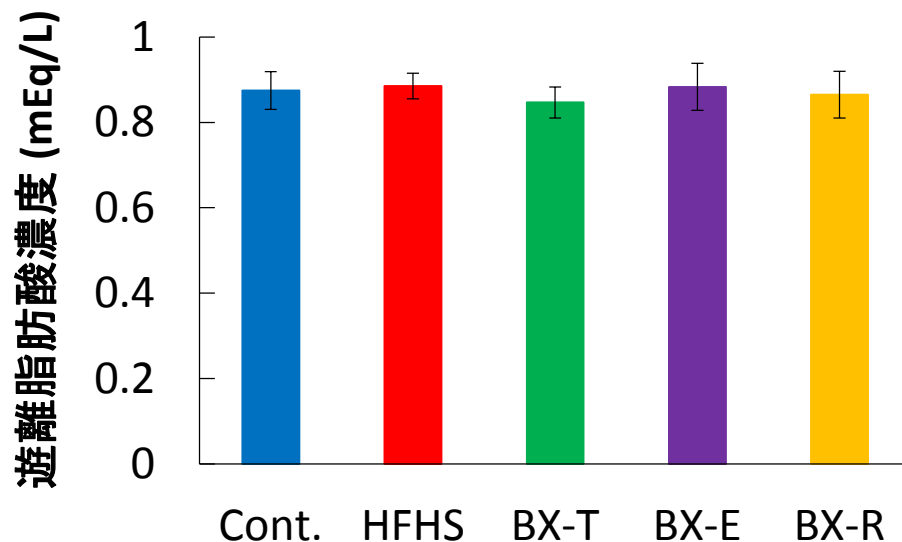
空腹時血糖



空腹時中性脂肪



空腹時遊離脂肪酸



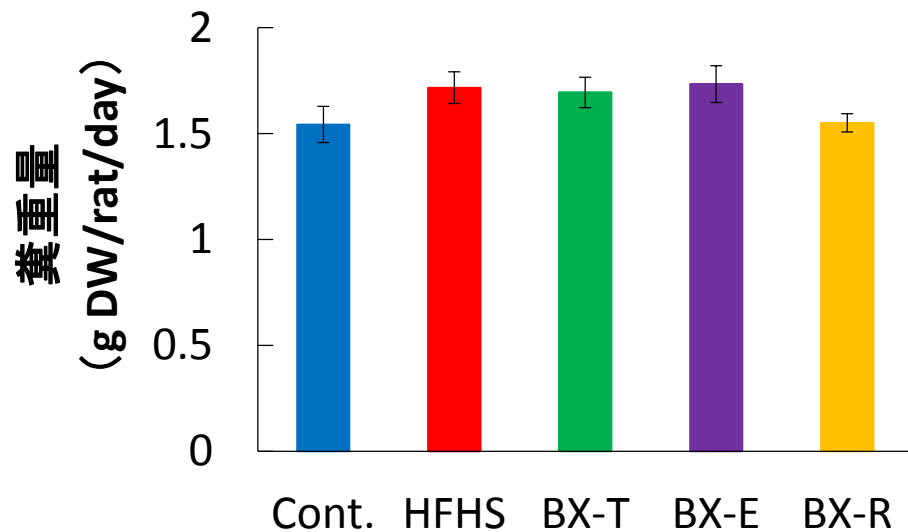
- 空腹時血糖においてBX-R群はHFHS群と比較して高値を示した。
- 空腹時中性脂肪においてBX-T群はHFHS群と比較して低値を示した。
- 空腹時遊離脂肪酸はどの群においても大きな差はみられなかった。

糞中脂質排泄量(24時間)

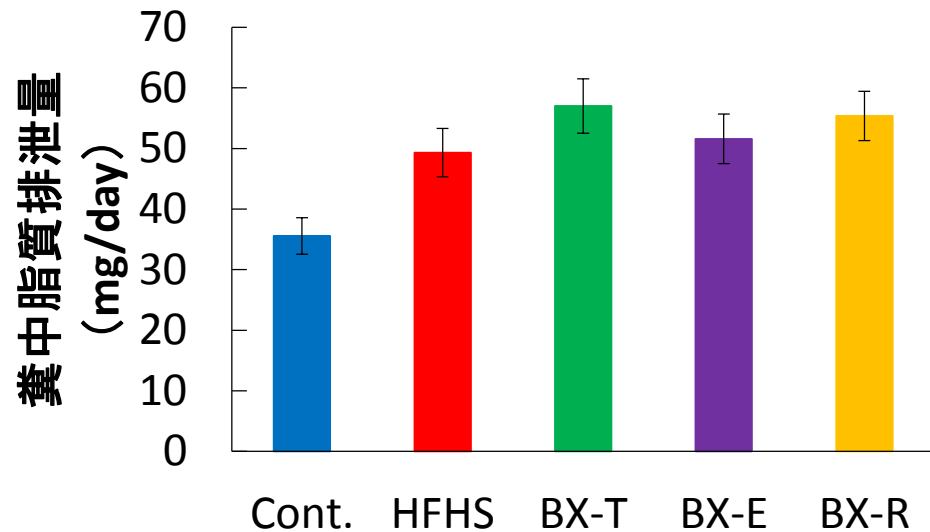
n=8-10, means±SEM

**P<0.01 *P<0.05 Tukey-Kramer test(vs HFHS)

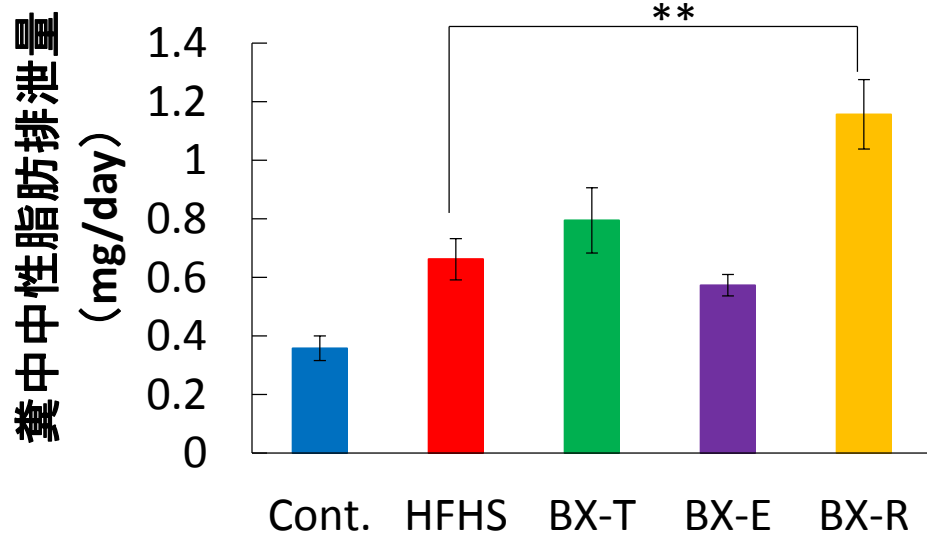
糞排泄量



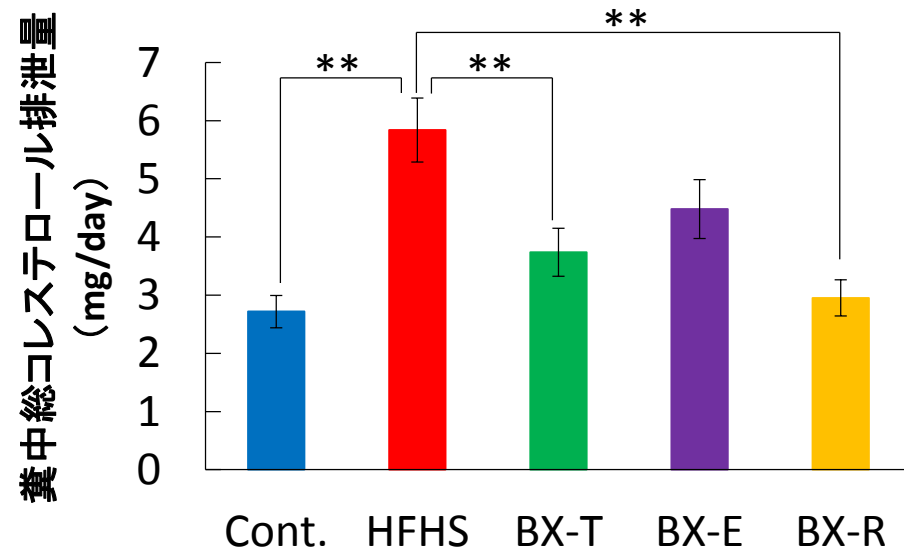
糞中脂質排泄量



糞中中性脂肪排泄量

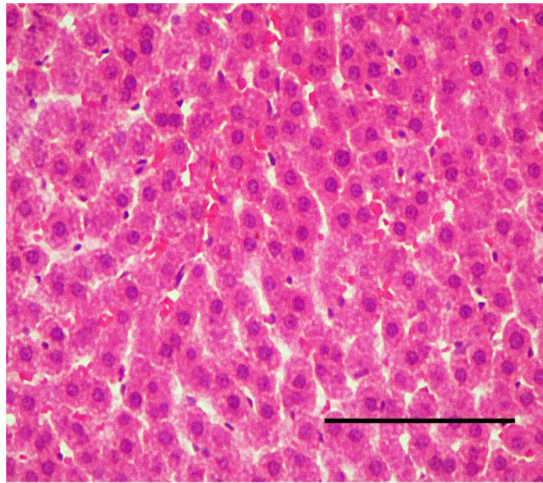


糞中総コレステロール排泄量

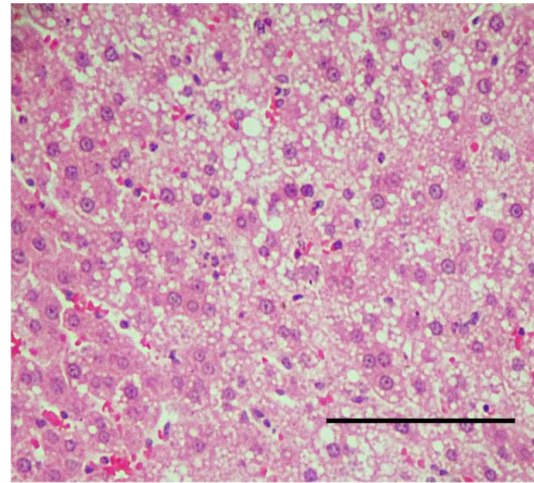


肝臓組織切片像

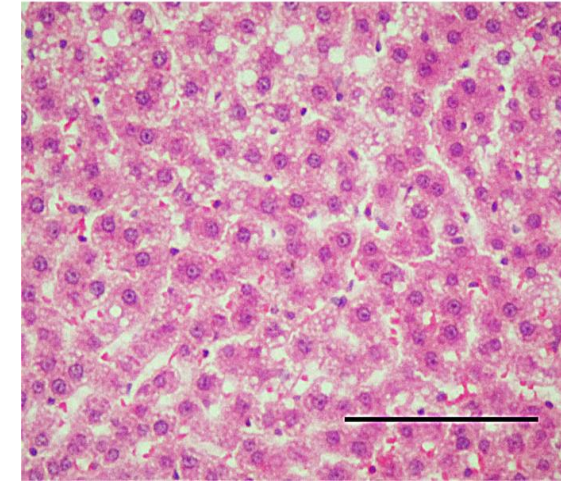
scale bar=100μm



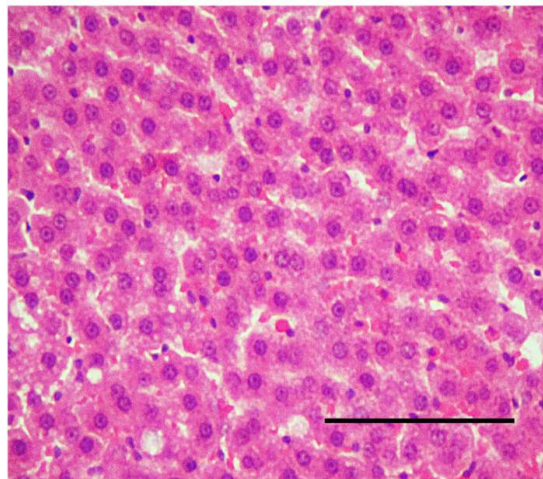
<Cont.群>



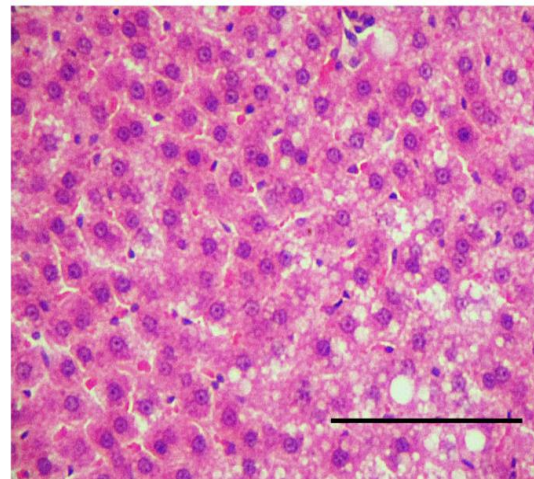
<HFHS群>



<BX-T群>



<BX-E群>



<BX-R群>

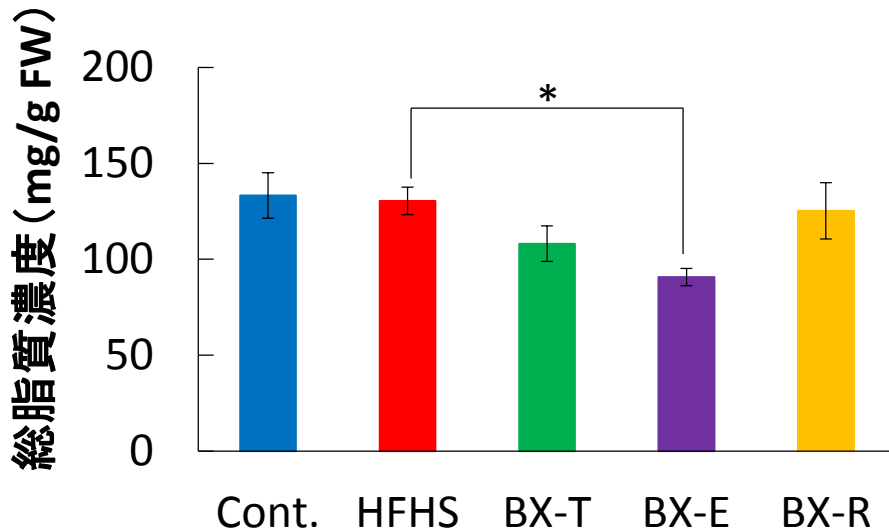
- HFHS群と比較して BX-E群は脂肪の蓄積が少ない。
- BX-E群はBX-R群と比較しても脂肪の蓄積が少ない。

肝臓中脂質濃度

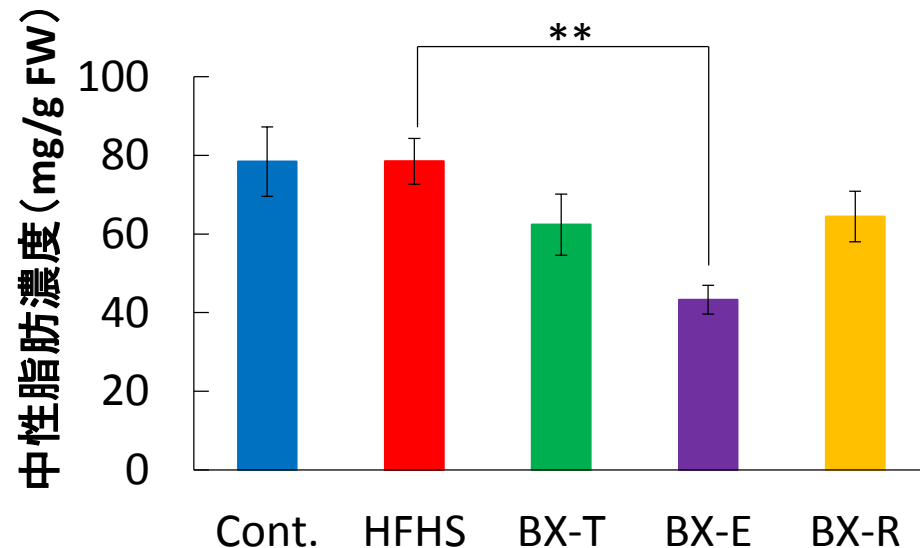
n=8-10, means±SEM

**P<0.01 *P<0.05 Tukey-Kramer test(vs HFHS)

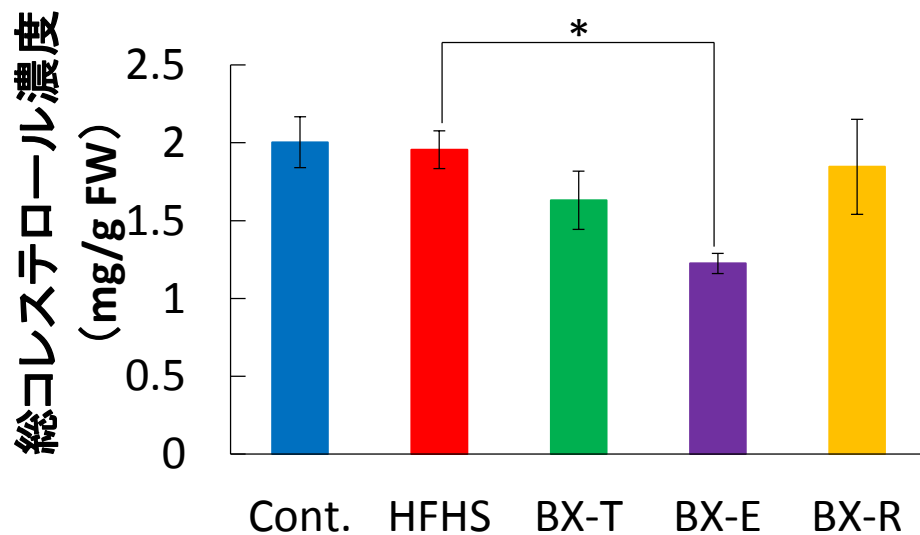
肝臓中総脂質量



肝臓中中性脂肪量



肝臓中総コレステロール量

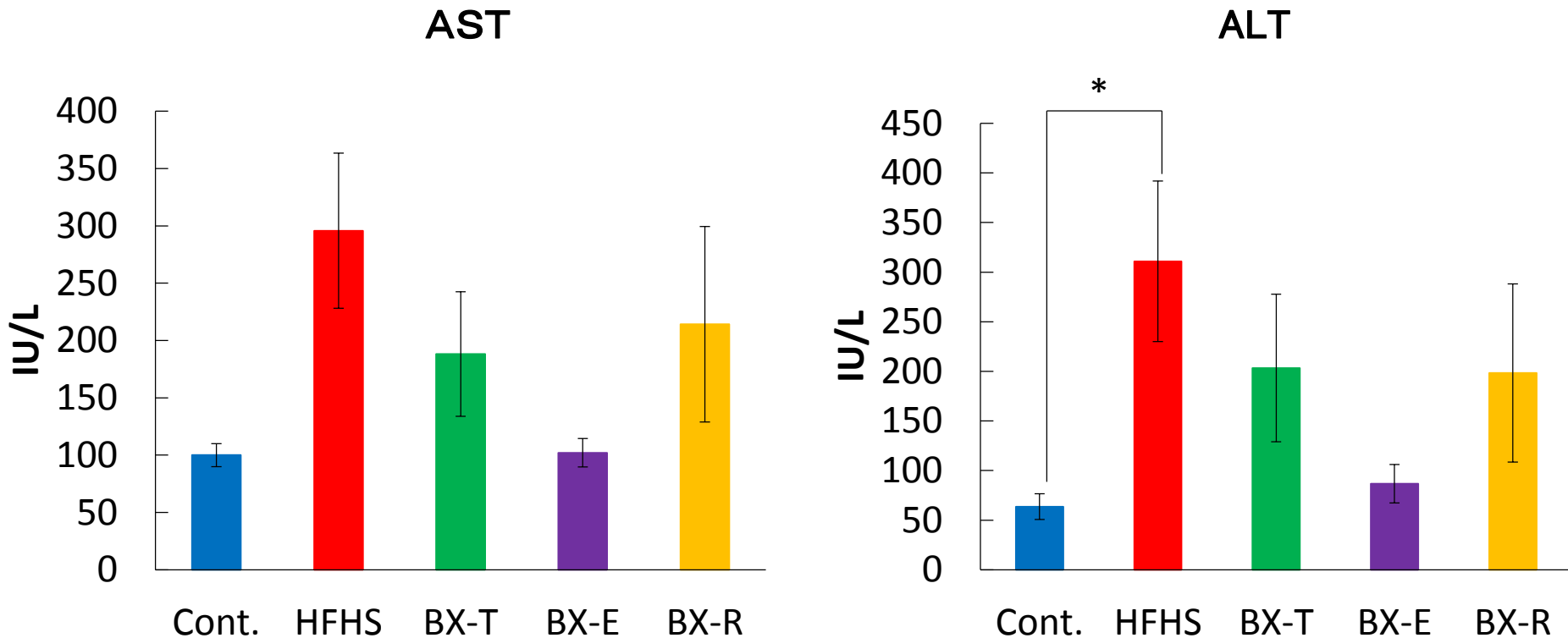


- BX-E群はHFHS群と比較して総脂質量、中性脂肪量、総コレステロール量が有意に低値を示した。
- BX-E群はBX-R群よりも低値を示した。

肝臓機能

n=8-10, means±SEM

**P<0.01 *P<0.05 Tukey-Kramer test(vs HFHS)



•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)

これらの酵素は肝細胞に存在し、肝細胞の変性壊死により血中に逸脱する。

BX-E群はHFHS群と比較してAST、ALT共に特に低値を示した。

考察

越後白雪茸の水抽出物及び水抽出残渣それぞれの得られた結果をまとめると

＜越後白雪茸水抽出物＞

HFHS群と比較して、

- 体重の増加抑制作用を示した。
- 肝臓中への脂質蓄積を抑制した。
- ASTおよびALTが低値を示した。
- 内臓脂肪の蓄積を抑制した。

＜越後白雪茸水抽出残渣＞

HFHS群と比較して、

- 糞中の脂質量を増加させた。
- 糞中の脂質のうち、特に中性脂肪量を増加させた。
- 内臓脂肪の蓄積を抑制した。

以上のことから、越後白雪茸水抽出物は肝機能改善効果が高く、
越後白雪茸水抽出残渣は糞中への脂質排泄促進作用が高いことが明らかとなった。

越後白雪茸水抽出物



水溶性食物繊維による作用は考えにくいいため、
水溶性の機能性成分の存在が示唆された。

越後白雪茸水抽出残渣



水不溶性食物繊維による腸管での
中性脂肪の吸収抑制作用が示唆された。