

進させることが見られたハーブである

表7 動物実験で用いたハーブの一般的特徴および有用性の根拠等(表2, 3に記載のもの以外)

<p>Melilot メリロート スイートクローバー, <i>Melilotus officinalis</i> 《安2 有1 総3》</p>	<p>【一般的性質】ヨーロッパやアジアの温帯域に分布するマメ科植物 抗血液凝固作用をもつクマロールの前駆体ニクマリンの含有量が高い セルライトへの有効性がわれている【NMCD(安全性) 2】花枝や葉の調製物の中等度の摂取はほぼ安全(LS) 大量摂取はほぼ危険(LUS)で 一過性の肝障害を生じる恐れがある【NMCD(有効性) 1】静脈瘤のような慢性静脈血流不全による障害に恐らく有効(PE) 他の用途は情報不足</p>
<p>Red Clover レッドクローバー, ムラサキノメクサ <i>Trifolium pratense</i> 《安1 有-1 総0》</p>	<p>【一般的性質】俗名をアカノメクサともいう ヨーロッパ原産のマメ科メニシク属の植物で 我が国にも帰化している 利用部位の花には、フィトエストロゲンとして知られるイソフラボン類が含まれる その主なものはbiochanin Aと formononetinであり 摂取すると前者はゲニステインに 後者はダイゼインに変換【NMCD(安全性) 1】通常の食用量の摂取はほぼ安全(LS) 薬用量の適切な摂取は恐らく安全-1年まで(PS)【NMCD(有効性) -1】閉経後女性中等度の高コレステロール血症 顔面紅潮のような更年期症状に恐らく無効(0) 他の用途は情報不足</p>
<p>Passion Flower ハノンフフラワー, チャホトケイノウ <i>Passiflora incarnata</i> 《安1 有1 総2》</p>	<p>【一般的性質】北米原産のトケイノウ科つる性植物 結実期の全草を薬用に また果実を食用とする 多種のアルカロイドやフラボノイドを含む 鎮静, 抗不安 精神安定, 不眠改善等の作用を期待して利用される【NMCD(安全性) 1】通常の食用量の摂取はほぼ安全(LS) 薬用量の適切な摂取は 短期なら恐らく安全(PS) 過剰量摂取は恐らく危険(LUS)【NMCD(有効性) 1】不安症状をともなう適応障害, 全般性不安障害 不眠, あへんの退薬症状に恐らく有効 他の用途は情報不足</p>

RNA later RNA Stabilization Reagent, RNeasy Protect Mini Kit, OneStep RT-PCR Kit はキアゲンより, Rat Cytochrome P450 Competitive RT-PCR Set およびプレキャストアガロースゲル(Reliant Gel System, 4% Nusieve 3 1)は宝酒造より購入した PCR用のプライマーは, Rat Cytochrome P450 Competitive RT-PCR Set に添付されているもの,あるいはシグマシエノンスキャンパンに合成を依頼したものを用いた 合成を依頼したプライマーの塩基配列は, GenBank より得た対象遺伝子の DNA 塩基配列を, Whitehead Institute/MIT Center for Genome Research (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi)が公開するソフトウェアに入力し, 出力された候補の中から選択した 抗ラット CYP1A1 抗血清(ウサギ)および抗ラット CYP3A1 抗血清(ウサギ)は Chemicon, ペルオキシターゼ標識抗ウサギ IgG 抗体(H+L/ヤギ)は Jackson ImmunoResearch Laboratories, SuperSignal Substrate は PIERCE, イモビロントランスファーメンブレンはミリポアの製品をそれぞれ用いた

(2) 実験動物

実験に用いた全てのラットは, 埼玉実験動物供給所より購入した 通常の実験では, 約7週齢のSD系の雄ラットを用い, 空調システムを22°Cに設定し, 6:00-18:00を明期, 18:00-6:00を暗期とする環境下で飼育した 飲用水は少なくとも2日に1回は新鮮なものに交換し, オリエンタル酵母製ラット用飼料 MF ないしはその粉砕物(下記)とともに, 自由に摂取させた

カハ抽出物投与にともなうラット肝臓における薬物代謝系酵素の誘導について, 性差を検討する場合には, 約7週齢のSD系雌雄ラットを用い, 上記に準じて飼育した また, カハ抽出物投与にともなう肝臓における薬物代謝系酵素の誘導について, ラットの系統差を検討する場合には, 約7週齢の次の系統の雄ラットを用い, 上記に準じて飼育した Crj CD(SD), Crj Donryu, Crj LEC

カハ抽出物製品(KV-SN)をラットの胃内に反復投与する場合は, ソフトゲルから取り出した内容物をプールし, 40°Cに保温しながらよく攪拌させたものを, サフィートフィーディングチューブ Fr 5(テルモ)につけたカスタインリンシで必要量を取り, 投与した 投与量については,

ヒトの体重を 60kg として、各ラットに対して体重当たりでヒトの常用量の上限値の 100 倍量と等量 (KV-SN [100] 群), あるいは 10 倍量と等量 (KV-SN [10] 群) になるように設定した KV-SN の希釈にはコーン油を用いた

ハーブ製品含有食餌を調製する場合は、まずカプセルから取り出したハーブを粉砕機を用いて均一化させ、これを家庭用ミキサーで粉末化させたオリエンタル酵母製ラット用飼料 MF に均等に混合させて作成した 飼料は酸素吸収剤およびシリカゲルとともに密封し、使用時まで -20°C に保存した ハーブ製品の含有量については、体重約 200g のラットが 1 日に約 20g の食餌を摂取することか知れているので、この値をもとに、ヒトの体重を 60kg として、体重当たりでヒトの常用量 (製品の表示による量) の上限値の 100 倍量に相当するハーブをラットが摂取することとなるように設定した

ハーブの反復投与の期間は、胃内投与実験、ハーブ含有食餌投与実験のいずれの場合も 8 日間とした 表 8 に用いたハーブ製品のリストを示す

(3) 組織試料の調製

ラットを実験最終日の前日より絶食 (~ 18 時間) させ、エーテル麻酔下で前胸郭口より心臓に穿刺して血液を採取し、放血死させた後、肝臓および小腸を速やかに摘出した トータル RNA 調製用の試料として、摘出した肝臓より組織 100mg を取り、1.5ml の RNA later RNA Stabilization Reagent に投入し、室温で 2~4 時間インキュベートした後、用時まで -80°C に保存した 小腸は、生理食塩水を注入して洗浄した後、切開し、水気を除き、空腸中心部近傍より約 2~3cm の長さを切り出し、上記肝臓組織の場合と同様に処理した

肝臓ミクロソーム画分を調製する場合は、ポリロンを用い、水冷下において 100 mg の新鮮組織を 10 ml の緩衝液 (50mM Tris-HCl/0.15M KCl, pH7.4) 中でホモシナイス (ダイアル 4, 10 秒 x 2 回) した後、 $750 \times g$, 4°C で 10 分間遠心し、その上清を $12,000 \times g$, 4°C で 10 分間遠心した さらに、その上清を $453,000 \times g$, 4°C で 20 分間遠心し、得られた沈渣を 0.8 ml の 50mM Tris-HCl/1mM EDTA/1mM DTT/20%(v/v) グリセロール, pH7.4 に懸濁させてミクロソーム画分とし、用時まで -80°C に保存した

血清は、凝固血液を $700 \times g$, 20 分間遠心し、上清として得た

(3) 薬物代謝系酵素等の遺伝子発現の検討

RNA later RNA Stabilization Reagent 中に保存した肝臓あるいは空腸の細片 30mg を、RNeasy Protect Mini Kit のホモシナイス溶液 400 μl およびジルコニアヒーズ ($\phi 5$ mm) を入れたマイクロチューブに取り、Mixer Mill MM 300 (キアゲン) を用いてホモシナイズした後、 -80°C に保存した (2 日以内) トータル RNA を調製する際は、この試料を室温に戻した後、RNeasy Protect Mini Kit のマニュアル通りに操作を行った RNA 濃度および純度 ($A_{260}/A_{280}=1.8\sim 2.0$) は Ultraspec 300 Pro 紫外・可視分光光度計 (アマシャム ファルマシア ハイオテック社) を用いて測定した

このように調製した試料について、OneStep RT-PCR Kit を用いて、そのマニュアルにしたがってワンステップ逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応 (one step RT-PCR) を行い、薬物代謝系酵素等の遺伝子発現へのハーブ投与の影響を調べた 内部標準には、ハウスキーピング遺伝子マーカーの cyclophilin を用いた one step RT-PCR による増幅反応終了後、その

表8 本研究の動物試験で使用了たハーブ製品の一覧

成分本質 商品名	製造または販売者	製品の略記	1日使用量 (上限)		胃内反復投与実験		添加食投与実験	
			1日使用量 (上限)	1日使用量 (上限)	8日間	投与量 (mg/kg)	8日間	添加量
カハ								
Kava Gold	SOURCE NATURALS	KV-SN	4ソフトゲル	300mg (根抽出物)	○	500mg/kg (根抽出物)		
Kava "Nakamaru"	ECLECTIC INSTITUTE	KV-EL	3カプセル	1275mg (根液汁凍結乾燥物)			○	2 125%
イチョウ葉								
GINKGOLD	Nature's Way	GG-NW	4錠	240mg (葉抽出物)	○	400mg/kg (葉抽出物)		
レント クローハー								
RED CLOVER-POWER Standardized Extracts	TWINLAB	RC-TL	1カプセル	400mg (花抽出物)			○	0 667%
RED CLOVER Fresh Freeze-Dried	ECLECTIC INSTITUTE	RC-EL	3カプセル	600mg (花粉末凍結乾燥物)			○	1 000%
セイヨウカノコソウ								
VALERIAN EXTRACT	TWINLAB	VL-IL	3カプセル	750mg (根抽出物)			○	1 250%
パニヨンブライアー								
PASSION FLOWER Fresh Freeze-Dried	Nature's Way	PF-NW	3カプセル	600mg (花 葉粉末凍結乾燥物)			○	1 000%
メリロート								
メリロート*	ティーエイチシー	ML-DHC	3粒	300mg (抽出物末)	○	500mg/kg (抽出物末)		

* メリロート抽出物末のほか、クミスクチン抽出物末、イチョウ葉抽出物、トウガラシ抽出物等を含む

産物をプレキャストアガロースゲルを用いて泳動した。泳動後のゲルをエチンウムブロマイドで染色した後、トランスイルミネーターによる紫外線照射下で画像データをプリントグラフ AE-6914 型(アトー)で記録した。

なお、one step RT-PCR に用いたプライマーのうち、Rat Cytochrome P450 Competitive RT-PCR Set に添付のもの(CYP)以外は、シグマジェネンズジャパンに合成を依頼したオリゴ DNA を用いた。表9にこれらの塩基配列を示す。

(4) イムノブロットイング

肝臓ミクロソーム画分を試料に、35 µg タンパク質/lane として SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動²²⁾を行った。分離されたタンパク質をゲルからイモビロントランスファーメンブレンに転移・吸着²³⁾させた後、免疫染色を行った²⁴⁾。すなわち、メンブレンを 20 mM Tris-HCl/150 mM NaCl(TBS, pH 7.6)で 2-3 回洗浄した後、10 %(W/V) スキムミルク/TBS 溶液(SMTBS)と反応(室温にて 60 回/分の振とう, 10 分間)させ、ブロッキングした。次いで、SMTBS で 5,000 倍に希釈した第一抗体(抗ラット CYP3A1 抗血清あるいは抗ラット CYP3A2 抗血清) 10 ml と反応(室温にて 60 回/分の振とう, 2 時間)させた後、メンブレンを十分に洗浄した。洗浄操作は、純水によるすすぎを 3 回、TBS 中での振とう(60 回/分, 3 分間)を 1 回で 1 サイクルとし、計 3 サイクルで完了とした。洗浄後のメンブレンは SMTBS で 30,000 倍に希釈した第二抗体(ペルオキシンダーセ標識抗ウサギ IgG) 10 ml と反応(室温にて 60 回/分の振とう, 2 時間)させた。上記と同様に洗浄後、化学発光を利用する SuperSignal Substrate を基質として用い、添付マニュアルの通りに染色し、ケミルミネッセンス撮影装置(Light-Capture, アトー)を用いて画像データを記録した。

(5) 血液生化学検査

血清を試料に、自動分析装置(富士ドライケム 3500S)を用いて GOT (L-aspartate 2-oxoglutarate aminotransferase) および GPT (L-alanine 2-oxoglutarate aminotransferase) を測定した。

(6) その他

実験結果の統計処理には、統計解析用ソフトウェア StatView を用いた。

【結果ならびに考察】

1. カハ的作用に対するラットの性差の影響

既に報告したように、カハ単品を成分本質とする dietary supplement を、ヒトの常用量の 100 倍の用量で雄ラットの胃内に 5 日~4 週間反復投与すると、調べた製品の全てについて、肝臓の肥大、CYP1A1, CYP2B1/2 および CYP3A1 の遺伝子発現の亢進をもたらすことが明らかとなっている⁸⁾。そこで、今回はまずカハ的作用に対する性差の影響を検討した。

1) 体重および臓器重量等への影響

雌の KV-SN[100]群では、体重増加が抑制されていたが、その程度は軽度であり、また雄ではこのような影響は認められなかった(表10)。肝臓の実重量および相対重量は、雌雄いずれにおいても KV-SN[100]群で有意に増大していたか、KV-SN[10]群では有意な影響は認められなかった。他の臓器については、カハ投与の有意な影響は見られなかった。

カハ摂取は雌雄いずれにおいても血清 GOT・GPT 値に影響を与えなかった(表10)。

表9 本研究で使用したプライマーの塩基配列 (Competitive RT-PCR Setに添付以外のもの)

名称	# NCBI ACCESSION	Left Primer	Right Primer	Product Size
CYP1A1	K02246	5'-GGAGGTTACTGGTTCTGGAT-3'	5'-TGGTTACCAGGTACATGAGG-3'	332 bp
CYP3A1	L24207	5'-CCATCACCGACACAGAAATG-3'	5'-TGCCTTCTGCACAGAAATCCAG-3'	547 bp
GST-P	X02904	5'-GCTCCCAAGTTTGAAGATG-3'	5'-GGACAGCAGGGTCTCAAAAAG-3'	250 bp
GST-M2	M13590	5'-AGTTGGCCATGCTCGTAC-3'	5'-GCAAAGATTGGCTTGGAGAG-3'	301 bp
cyclophilin	M19533	5'-TTGCTGCAGACATGGTCAAC-3'	5'-AATCCTTCTCCCCAGTGTCT-3'	148 bp
CYP1B1	NM_012940	5'-AAGCCCTCACCCCTCTCTCTC-3'	5'-CCATGGAGGCTCAAAATCACT-3'	252 bp
Aldehyde Dehydrogenase Tumor	J03637	5'-AGAAAGCCCTGGCACTCTAT-3'	5'-CTGGCCTTGTGAGCTTCTTTC-3'	250 bp
NAD(P)H: Quinone Reductase	M31805	5'-CTTTCTGTGGGCCATCATTT-3'	5'-GAGGGCCCTAATCTGACCTC-3'	245 bp
UDP-Glucuronosyl Transferase	U75903	5'-ATCTAAATTGCTGGCCACACC-3'	5'-CACCCACAAAACATGAGCAC-3'	251 bp
MRP1	AJ277881	5'-TGAGTGTGCAGAAGGTGGAG-3'	5'-CAGCCGATGAGCAATAGTGA-3'	202 bp
MRP2	X96393	5'-GACCAACATTGTGGCAGTTG-3'	5'-CCTTCTCTCCGCTCTTGTG-3'	200 bp
MRP3	AF072816	5'-ACACCGAGCCAGCCATATAC-3'	5'-TCAGCTTCACATTGCCCTGTC-3'	201 bp
AhR	NM_013149	5'-GTCCTCAGCAGGAACGAAAAG-3'	5'-GTGCAGGGATCGTTCAAAAT-3'	197 bp
ARNT1	NM_012780	5'-TGGACCCCTGTTCCATGAAT-3'	5'-CAATGGCCACTAGGCAGAAAT-3'	201 bp
ARNT2	NM_012781	5'-CAACACCAACGTC AAGCAAC-3'	5'-CCTGCAAAACATCTCAGCAAA-3'	201 bp
GST1YA Rat GST a1-#01	K00136	5'-TGATTGACATGTAATTCAGAGGGTA- 3'	5'-CGGGTCAGCCCTGTTACCTAC-3'	193 bp
GST1YA Rat GST a1#02	K00136	5'-GAGAGCCCTGATTTGACATGTAT-3'	5'-CGGGTCAGCCCTGTTACCTAC-3'	201 bp
Rat GST a2	NM_017013	5'-CCTGATTGACATGTACACCGAAG-3'	5'-GTTCAGCAGCGGTGGATGTCT-3'	218 bp
MDR1a	S66618	5'-ACCAAAGAGGCTCTGGATGA-3'	5'-TGGATTTACGGGGTGTCAATT-3'	194 bp
MDR1b	M81855	5'-TCTGGTATGGGACCCCTCCTTG-3'	5'-TGGTTGAGAAGCTGTCCGATG-3'	201 bp

表10 KAVA胃内反復投与ラットにおける臓器重量 - 性差の影響

	MALE				FEMALE			
	CONTROL	KV-SN[10]	KV-SN[100]	CONTROL	KV-SN[10]	KV-SN[100]	CONTROL	KV-SN[100]
BODY WEIGHT	INITIAL (g)	204±5	204±5	174±3	174±3	174±3	174±3	174±3
	FINAL (g)	249±8	245±4	247±2	189±2	190±2	189±2	176±3**
HEART	(g)	1.056±0.060	1.050±0.031	1.035±0.041	0.804±0.043	0.797±0.006	0.804±0.043	0.718±0.021
	(g/100g BW)	0.423±0.015	0.429±0.010	0.419±0.015	0.425±0.021	0.418±0.007	0.425±0.021	0.406±0.013
KIDNEY	(g)	2.203±0.095	2.337±0.068	2.381±0.045	1.833±0.068	1.892±0.038	1.833±0.068	1.855±0.051
	(g/100g BW)	0.883±0.021	0.955±0.023*	0.963±0.012**	0.969±0.035	0.993±0.017	0.969±0.035	1.050±0.027
LIVER	(g)	9.352±0.311	10.210±0.774	13.128±0.444***	7.767±0.428	7.612±0.108	7.767±0.428	9.652±0.589*
	(g/100g BW)	3.757±0.098	4.157±0.253	5.320±0.204***	4.164±0.315	4.028±0.012	4.164±0.315	5.396±0.397*
SPLEEN	(g)	1.154±0.218	1.099±0.168	1.311±0.238	0.697±0.151*	0.948±0.139	0.697±0.151*	0.670±0.134
	(g/100g BW)	0.461±0.080	0.446±0.064	0.535±0.102	0.365±0.077	0.497±0.072	0.365±0.077	0.378±0.072
STOMACH	(g)	1.350±0.079	1.328±0.047	1.332±0.067	1.025±0.015	1.014±0.014	1.025±0.015	1.017±0.031
	(g/100g BW)	0.540±0.018	0.543±0.016	0.539±0.027	0.542±0.009	0.533±0.010	0.542±0.009	0.575±0.016
SMALL INTESTINE	(g)	11.040±0.797	10.375±0.522	11.107±0.501	8.473±0.204	8.166±0.486	8.473±0.204	7.766±0.395
	(g/100g BW)	4.415±0.222	4.249±0.229	4.479±0.215	4.474±0.075	4.285±0.243	4.474±0.075	4.387±0.189
ADRENAL GLAND	(g)	0.054±0.006	0.054±0.006	0.055±0.011	0.070±0.001	0.069±0.005	0.070±0.001	0.073±0.006
	(g/100g BW)	0.022±0.003	0.022±0.003	0.022±0.004	0.037±0.000	0.036±0.003	0.037±0.000	0.041±0.004
THYMUS	(g)	0.793±0.073	0.528±0.047*	0.677±0.026	0.415±0.038	0.442±0.026	0.415±0.038	0.455±0.054
	(g/100g BW)	0.317±0.024	0.216±0.019**	0.276±0.010	0.219±0.019	0.233±0.015	0.219±0.019	0.257±0.029
BRAIN	(g)	2.117±0.028	2.124±0.033	2.108±0.030	1.977±0.026	1.942±0.058	1.977±0.026	1.868±0.050
	(g/100g BW)	0.853±0.023	0.869±0.010	0.854±0.017	1.045±0.016	1.021±0.036	1.045±0.016	1.058±0.035
TESTES	(g)	2.374±0.036	2.458±0.089	2.412±0.088				
	(g/100g BW)	0.958±0.038	1.005±0.036	0.976±0.029				
EPIDIDYMIS	(g)	0.521±0.046	0.524±0.057	0.524±0.056				
	(g/100g BW)	0.210±0.019	0.215±0.024	0.212±0.022				
SEMINAL VESICLE	(g)	0.307±0.057	0.326±0.042	0.333±0.041				
	(g/100g BW)	0.122±0.022	0.133±0.017	0.134±0.016				
OVARY	(g)				0.121±0.009	0.118±0.004	0.121±0.009	0.119±0.005
	(g/100g BW)				0.064±0.005	0.062±0.002	0.064±0.005	0.067±0.003
UTERUS	(g)				0.351±0.042	0.345±0.039	0.351±0.042	0.433±0.081
	(g/100g BW)				0.186±0.024	0.181±0.020	0.186±0.024	0.246±0.047
GOT	(U/l)	123±13	176±52	112±13	191±18	142±16	123±13	179±16
GPT	(U/l)	28±1	32±7	26±0	31±1	26±3	28±1	40±8

平均値±標準誤差 (n=6). 対照群との有意差: *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001.

2) 肝臓の薬物代謝系酵素の遺伝子発現に対するカバの作用への影響

CYP1A1 の遺伝子発現は対照群のラットでは痕跡ないし検出限界以下であったが、KV-SN[100]群では、雌雄いずれにおいても CYP1A1 の発現が明瞭に認められた(図1)。この場合のカバへの感受性に関しては、大きな差異は見られなかったものの、雌よりも雄の方がやや強い感受性であるように見受けられた(図1)。なお、雄 KV-SN[100]群より得た肝臓ミクロソームを資料として、タンパク質レベルにおいてもカバ投与による CYP1A1 の発現の亢進が見られることを、イムノブロッティングにより確認している(図2)。

図1. ラット肝臓における CYP1A1 の遺伝子発現に対するカバの作用—ラットの性差の影響

- 1: 雌, 対照群.
- 2: 雌, KV-SN[10]群.
- 3: 雌, KV-SN[100]群.
- 4: 雄, 対照群.
- 5: 雄, KV-SN[10]群.
- 6: 雄, KV-SN[100]群.

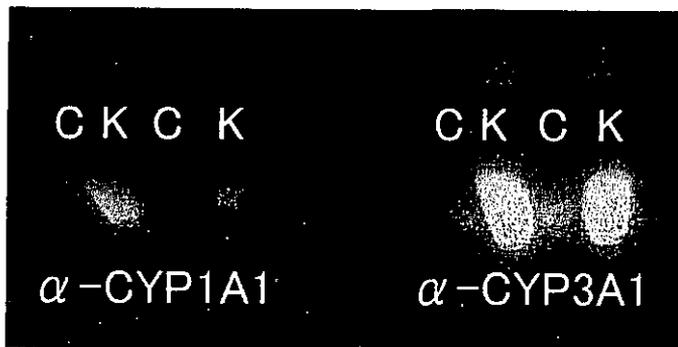
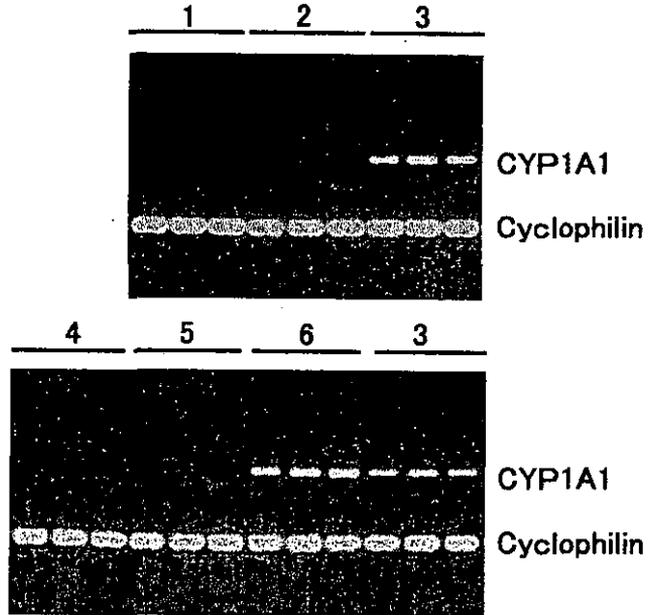


図2. ラット肝臓ミクロソームのイムノブロッティング
 C: 対照群. K: KV-SN[100]群.
 α-CYP1A1: 抗ラット CYP1A1 による免疫染色.
 α-CYP3A1: 抗ラット CYP3A1 による免疫染色.

CYP3A1 の mRNA レベルにおける発現は、雌雄ともに KV-SN[100]群において強く亢進していた。一方、雄の KV-SN[10]群ではカバの影響は明らかではなかったが、雌ではこの投与量のカバによって、CYP3A1 の発現が僅かに亢進しているように見受けられた(図3)。すなわち、CYP3A1 の発現については、雌のほうがカバへの感受性がやや強いようであった。

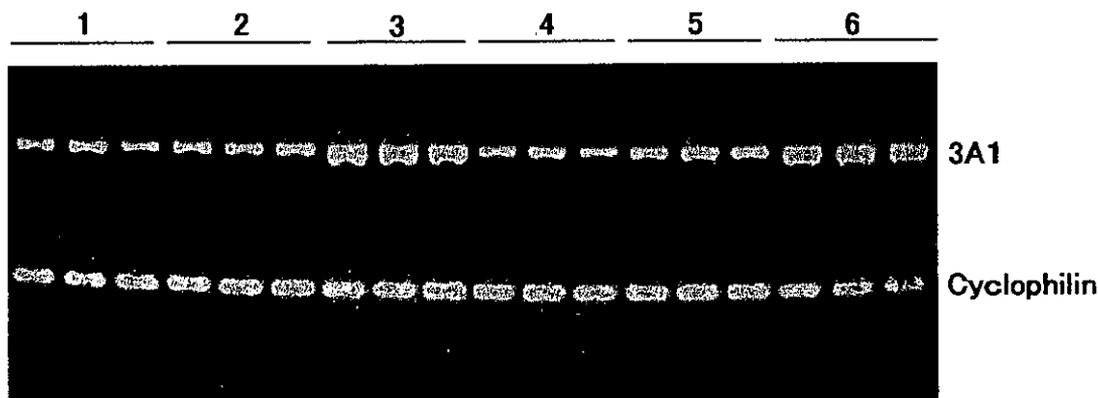


図3. ラット肝臓における CYP3A1 の遺伝子発現に対するカバの作用
—ラットの性差の影響

1: 雄, 対照群. 2: 雄, KV-SN[10]群. 3: 雄, KV-SN[100]群.
4: 雌, 対照群. 5: 雌, KV-SN[10]群. 6: 雌, KV-SN[100]群.

なお、イムノブロッティングにより、タンパク質レベルにおいてもカバ投与による CYP3A1 の発現の亢進が確認されている(図2)

その他の CYP 分子種についても、今後解析を進める予定である。

2. カバの作用に対するラットの系統差の影響

カバに対するラットの感受性には、性差のほかにも、系統差のある可能性が考えられる。そこで、KV-ELを2.125%に添加した食餌を用い、Crj:CD(SD), Crj:Donryu, Crj:LECの3系統のラットについて検討した。このうち、Crj:LECは日本チャールス・リバー(株)で系統維持されているLEC(Long Evans Cinnamon)系統のラットである。LECラットは、肝炎やウイルソン病の病態モデルとして知られている。

1) 体重および臓器重量等への影響

Crj:CD(SD)では、カバ摂取にともない体重増加が軽度に抑制されていたが、Crj:DonryuおよびCrj:LECではこのような抑制は認められなかった(表11)。なお、Crj:LECはカバ摂取の有無に関わらず、体重増加を殆ど示さなかったが、体重当たりの摂食量には他の系統との差が見られなかった(data not shown)。

表11 KAVA含有食餌投与ラットにおける臓器重量 - 系統差の影響

	Crj:CD (SD)			Crj:Donryu			Crj:LEC		
	CONTROL	KAVA (KV-EL)	CONTROL	CONTROL	KAVA (KV-EL)	CONTROL	CONTROL	KAVA (KV-EL)	KAVA (KV-EL)
BODY WEIGHT	INITIAL (g)	167±2	167±2	204±4	213±3	135±3	135±3	135±4	135±4
	FINAL (g)	205±2	192±4*	235±5	227±3	138±2	138±2	135±3	135±3
HEART	(g)	0.720±0.026	0.754±0.033	0.856±0.015	0.804±0.027	0.574±0.012	0.574±0.012	0.556±0.019	0.556±0.019
	(g/100 g BW)	0.352±0.013	0.392±0.011	0.365±0.004	0.354±0.009	0.415±0.013	0.415±0.013	0.411±0.006	0.411±0.006
KIDNEY	(g)	1.878±0.045	1.822±0.052	2.228±0.100	1.967±0.054*	1.245±0.016	1.245±0.016	1.289±0.027	1.289±0.027
	(g/100 g BW)	0.918±0.026	0.947±0.014	0.947±0.027	0.867±0.019*	0.899±0.007	0.899±0.007	0.952±0.011**	0.952±0.011**
LIVER	(g)	7.151±0.192	7.385±0.223	8.832±0.363	8.612±0.147	3.930±0.054	3.930±0.054	4.441±0.110**	4.441±0.110**
	(g/100 g BW)	3.494±0.103	3.842±0.087*	3.757±0.097	3.798±0.062	2.840±0.030	2.840±0.030	3.281±0.035***	3.281±0.035***
SPLEEN	(g)	0.487±0.036	0.492±0.050	0.608±0.031	0.473±0.019**	0.207±0.011	0.207±0.011	0.191±0.007	0.191±0.007
	(g/100 g BW)	0.237±0.016	0.255±0.025	0.259±0.012	0.208±0.007**	0.149±0.006	0.149±0.006	0.141±0.004	0.141±0.004
STOMACH	(g)	1.080±0.046	1.074±0.036	1.345±0.072	1.216±0.032	0.688±0.017	0.688±0.017	0.710±0.024	0.710±0.024
	(g/100 g BW)	0.528±0.023	0.559±0.015	0.572±0.026	0.537±0.020	0.498±0.017	0.498±0.017	0.525±0.015	0.525±0.015
SMALL	(g)	7.744±0.320	7.807±0.385	8.522±0.263	7.431±0.322*	5.086±0.280	5.086±0.280	5.010±0.159	5.010±0.159
	(g/100 g BW)	3.779±0.129	4.062±0.195	3.632±0.104	3.279±0.144	3.667±0.154	3.667±0.154	3.700±0.063	3.700±0.063
ADRENAL	(g)	0.050±0.004	0.046±0.006	0.059±0.006	0.055±0.001	0.020±0.002	0.020±0.002	0.026±0.003	0.026±0.003
	(g/100 g BW)	0.024±0.002	0.024±0.003	0.025±0.002	0.024±0.000	0.014±0.001	0.014±0.001	0.019±0.002	0.019±0.002
THYMUS	(g)	0.463±0.080	0.446±0.063	0.463±0.056	0.428±0.044	0.090±0.013	0.090±0.013	0.081±0.016	0.081±0.016
	(g/100 g BW)	0.227±0.039	0.231±0.033	0.197±0.023	0.188±0.019	0.065±0.009	0.065±0.009	0.059±0.011	0.059±0.011
BRAIN	(g)	1.897±0.017	1.922±0.030	1.996±0.038	2.000±0.017	1.646±0.019	1.646±0.019	1.664±0.011	1.664±0.011
	(g/100 g BW)	0.927±0.014	1.000±0.007*	0.850±0.011	0.882±0.012	1.190±0.009	1.190±0.009	1.231±0.021	1.231±0.021
TESTES	(g)	2.210±0.132	2.195±0.114	2.390±0.034	2.325±0.044	1.870±0.044	1.870±0.044	1.808±0.038	1.808±0.038
	(g/100 g BW)	1.079±0.062	1.141±0.052	1.019±0.022	1.025±0.020	1.352±0.035	1.352±0.035	1.339±0.040	1.339±0.040
EPIDIDYMIS	(g)	0.547±0.045	0.472±0.015	0.818±0.046	0.749±0.024	0.367±0.009	0.367±0.009	0.360±0.039	0.360±0.039
	(g/100 g BW)	0.267±0.020	0.246±0.009	0.348±0.017	0.331±0.012	0.265±0.009	0.265±0.009	0.265±0.026	0.265±0.026
SEMINAL	(g)	0.382±0.051	0.364±0.104	0.620±0.019	0.562±0.019	0.121±0.014	0.121±0.014	0.086±0.005	0.086±0.005
	(g/100 g BW)	0.187±0.026	0.186±0.050	0.264±0.009	0.248±0.007	0.088±0.011	0.088±0.011	0.063±0.003	0.063±0.003
GOT	(U/l)	128±23	100±4	85±2	115±9*	144±20	144±20	131±9	131±9
GPT	(U/l)	27±2	24±2	20±2	19±1	40±2	40±2	38±1	38±1

平均値±標準誤差 (n=5). 対照群との有意差: *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001.

肝臓の実重量については、Crj:CD(SD)および Crj:Donryu ではカバ摂取の影響は認められなかったが、Crj:LEC ではカバ摂取にともない有意な増大が認められた。肝臓の相対重量は、Crj:CD(SD)および Crj:LEC においてカバ摂取にともない有意に低下していたが、Crj:Donryu ではこのような低下は見られなかった。Crj:CD(SD)は SD ラットを起源とする系統で、日本チャールスス・リバー(株)で維持・生産されており、著者らが通常の実験で使用している SD ラットと遺伝的に近縁と推定されるが、その確証はない。ここでの実験では、KV-EL を 2.125% に添加した食餌を用いてカバを摂取させた場合に、Crj:CD(SD)では肝臓の実重量の増大は認められなかったが、SD ラットを用いた予備的実験では、2.125% KV-EL 含有食の摂取により肝臓の実重量が有意に増大していた (data not shown)。したがって、肝臓重量の増大に関しては、Crj:CD(SD)は SD ラットに比べて低感受性である可能性も考えられる。Crj:Donryu については、体重および肝臓重量に対するカバの影響は認められず、これらを指標とした場合には3系統の中で最も感受性が低いと考えられる。Crj:LEC は肝臓重量を指標とすると、カバに対する感受性が最も高いと推定される。肝臓以外の臓器にもカバの影響が散見されたが、その程度は軽度であった。

血清 GOT 値は Crj:Donryu において、カバ摂取による有意な軽度上昇を示した (表 11)。しかし、GPT 値には有意差は認められなかったので、この GOT 値の上昇は肝機能障害によるものとは考えにくい。Crj:CD(SD)および Crj:LEC では、GOT、GPT のいずれについてもカバ摂取の影響は認められなかった。なお、Crj:LEC では他の系統に比べ GPT が有意に高く、この系統の特性の1つと考えられた。

2) 肝臓の薬物代謝系酵素の遺伝子発現に対するカバの作用への影響

カバ摂取群における CYP1A1 の遺伝子発現は、Crj:CD(SD)に比べ、Crj:LEC では明らかに亢進しており、前者よりも後者的の方がカバへの感受性の高いことが示された (図 4)。Crj:Donryu では、カバ摂取群においても CYP1A1 の発現は痕跡ないし検出限界以下であり、カバに対する感受性の低いことが示された。

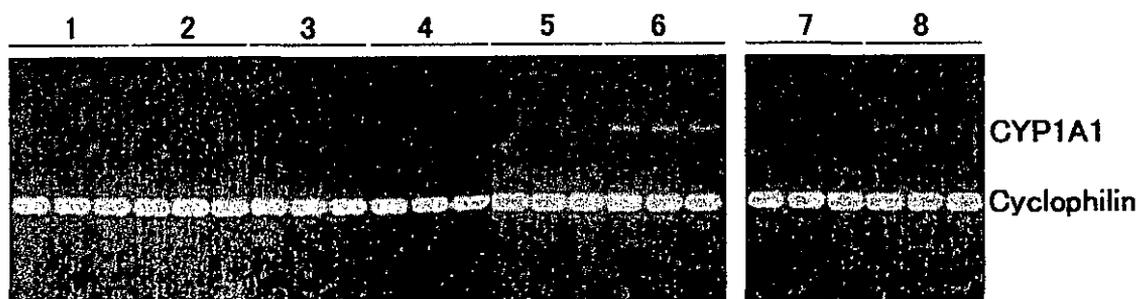


図 4. ラット肝臓における CYP1A1 の遺伝子発現に対するカバの作用
—ラットの系統差の影響

- | | |
|---------------------|-------------------------|
| 1: Crj:CD(SD), 対照群. | 2: Crj:CD(SD), KV-EL 群. |
| 3: Crj:Donryu, 対照群. | 4: Crj:Donryu, KV-EL 群. |
| 5: Crj:LEC, 対照群. | 6: Crj:LEC, KV-EL 群. |
| 7: SD, 対照群. | 8: SD, KV-EL 群. |

CYP3A1 については, Crj:CD(SD)ではカバ投与による増大が認められたが, Crj:Donryu および Crj:LEC ではカバの影響をとくに見出すには至らなかった(図5).

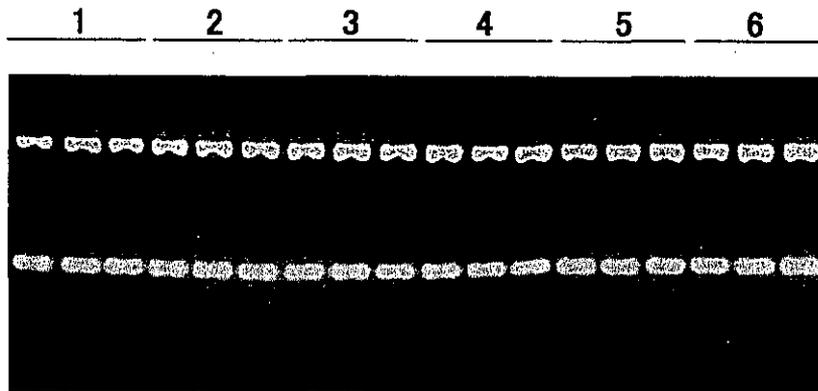


図5. ラット肝臓における CYP3A1 の遺伝子発現に対するカバの作用
—ラットの系統差の影響

- | | |
|---------------------|-------------------------|
| 1: Crj:CD(SD), 対照群. | 2: Crj:CD(SD), KV-EL 群. |
| 3: Crj:Donryu, 対照群. | 4: Crj:Donryu, KV-EL 群. |
| 5: Crj:LEC, 対照群. | 6: Crj:LEC, KV-EL 群. |
| 7: SD, 対照群. | 8: SD, KV-EL 群. |

3. ラット小腸における薬物代謝系酵素の遺伝子発現に対するカバ投与の影響

近年, ハーブのもつ問題点として, 医薬品との相互作用, とくに医薬品のバイオアベイラビリティへの影響が重要視されている²⁵⁾. その場合, ハーブ摂取にともなう初回通過代謝の変動が最も大きな要因の1つに挙げられており, 肝臓のほかに, 小腸の薬物代謝系への影響も考慮する必要があるとされている^{26, 27)}. そこで, カバを胃内反復投与した雄 SD ラット (KV-SN[100]群) の空腸より抽出したトータル RNA を試料として検討した.

CYP1A1 および CYP3A1 (data not shown), また CYP3A2 の発現は, 対照群のラットにおいて痕跡ないし検出限界以下であり, カバ投与の影響は認められなかった(図6). CYP2B1/2 の発現についてもカバの影響を認めるには至らなかったが, 他の分子種 (CYP1A2, CYP2C11, CYP2E1, CYP4A1) については, カバ投与によりその発現が低下する傾向が認められた(図6). カバ投与によるこれら分子種の発現の低下は興味深い現象であるので, 今後その確認を含めさらに詳しく検討する必要があると考える.

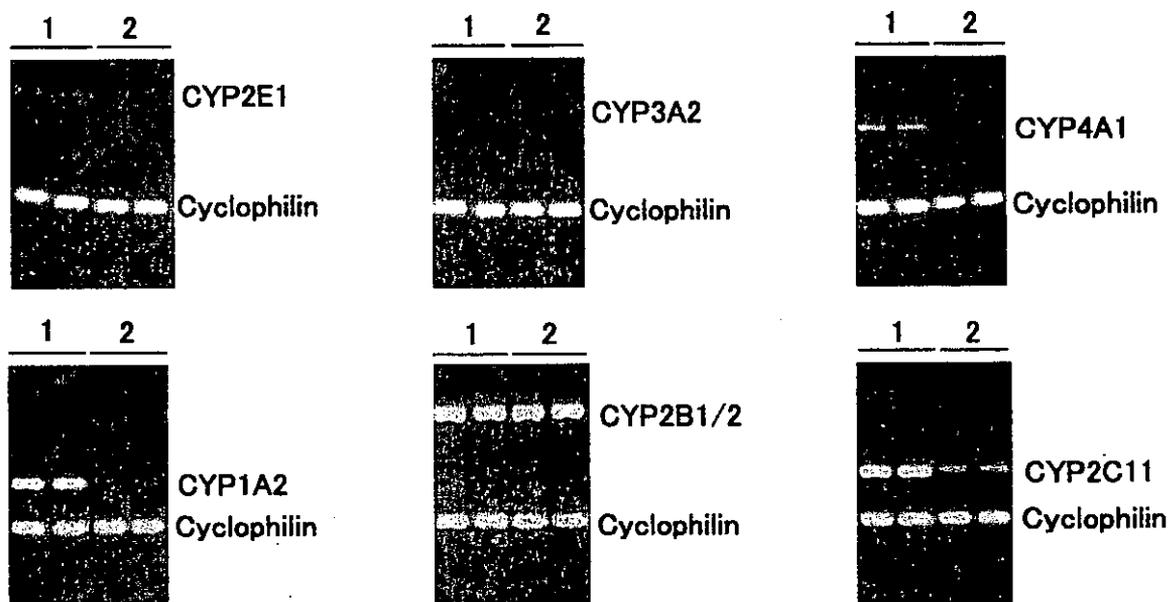


図6. ラット小腸における CYP 分子種の遺伝子発現に対するカバの作用
1: 対照群. 2: KV-SN[100]群.

また、小腸刷子縁膜にはP糖タンパク質という ATP 依存性の輸送タンパク質や、Multidrug resistance protein (MRP) が存在し、薬剤を吸収とは逆方向の消化管分泌することで薬剤への耐性に関与している^{26, 27)}。そこで、P糖タンパク質をコードする遺伝子 MDR1、また MRP の分子種の遺伝子発現に対するカバの作用を調べてみたが、特段の影響は認められなかった (data not shown)。

4. ラット肝臓におけるダイオキシン受容体関連タンパク質の遺伝子発現に対するカバ投与の影響

肝臓等において CYP1A1 の発現を強力に促進する物質として、ダイオキシン類が知られている²⁸⁾。一方、Kolluri ら²⁹⁾はダイオキシンの代表格である TCDD (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) が遺伝子発現の亢進をもたらすタンパク質として、Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) のほかに、Cytochrome P450 1B1, Aldehyde Dehydrogenase, Glutathione-S-Transferase Ya, NAD[P]H:Quinone Reductase (NAD[P]H QR), UDP-Glucuronosyl Transferase をあげている。そこで、表 8 に示されたプライマーを用いる RT-PCR により、これらのタンパク質の遺伝子発現に対するカバ投与の影響を検討してみた。その結果、ヒトの常用量の 100 倍量を投与された SD ラットの肝臓において、NAD(P)H:Quinone Reductase の発現が亢進している可能性を示す結果が得られた (図 7)。他の 4 つのタンパク質の発現に対するカバの影響は認められなかった (data not shown)。

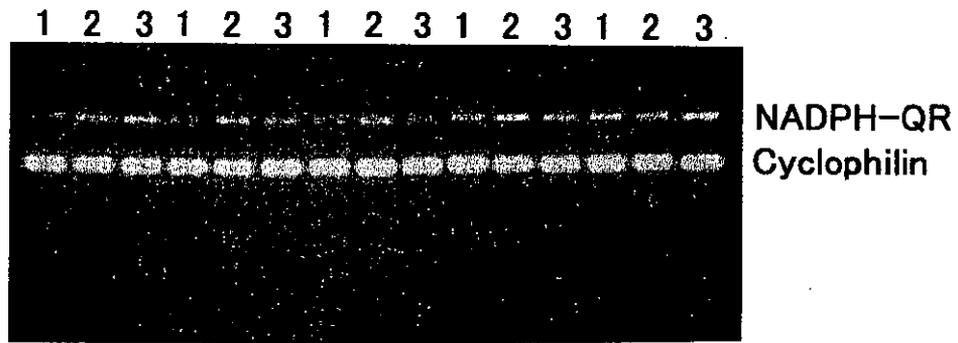
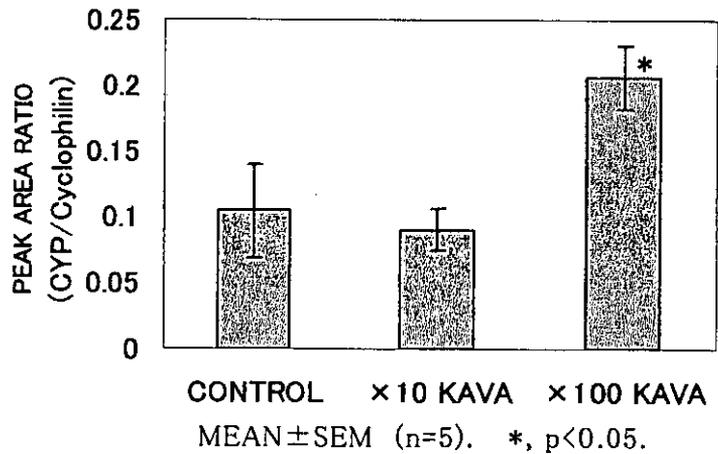


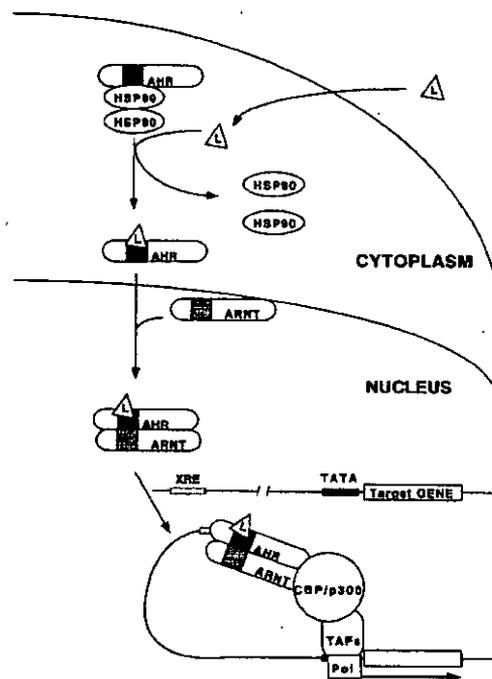
図7. ラット肝臓における(NAD[P]H QR の遺伝子発現に対するカバの作用

- A: 電気泳動パターン.
- B: デンシトメリーデータ
- 1: 対照 (CONTROL) 群.
- 2: KV-SN[10] (X10 KAVA) 群.
- 3: KV-SN[100] (X100 KAVA) 群.



なお、ダイオキシン類は、図8に示すように AhR (aryl hydrocarbon receptor: ダイオキシン受容体) や Arnt (Ahr nuclear translocator) の作用を介し、標的遺伝子の転写調節を行うことにより、ジェノミックな作用を発現すると考えられている³⁰⁾。そこで、AhR や Arnt の遺伝子発現に対するカバ投与の影響も検討してみたが、とくにポジティブな結果を得るには至らなかった (data not shown)。

図8. ダイオキシン類の作用機序モデル。



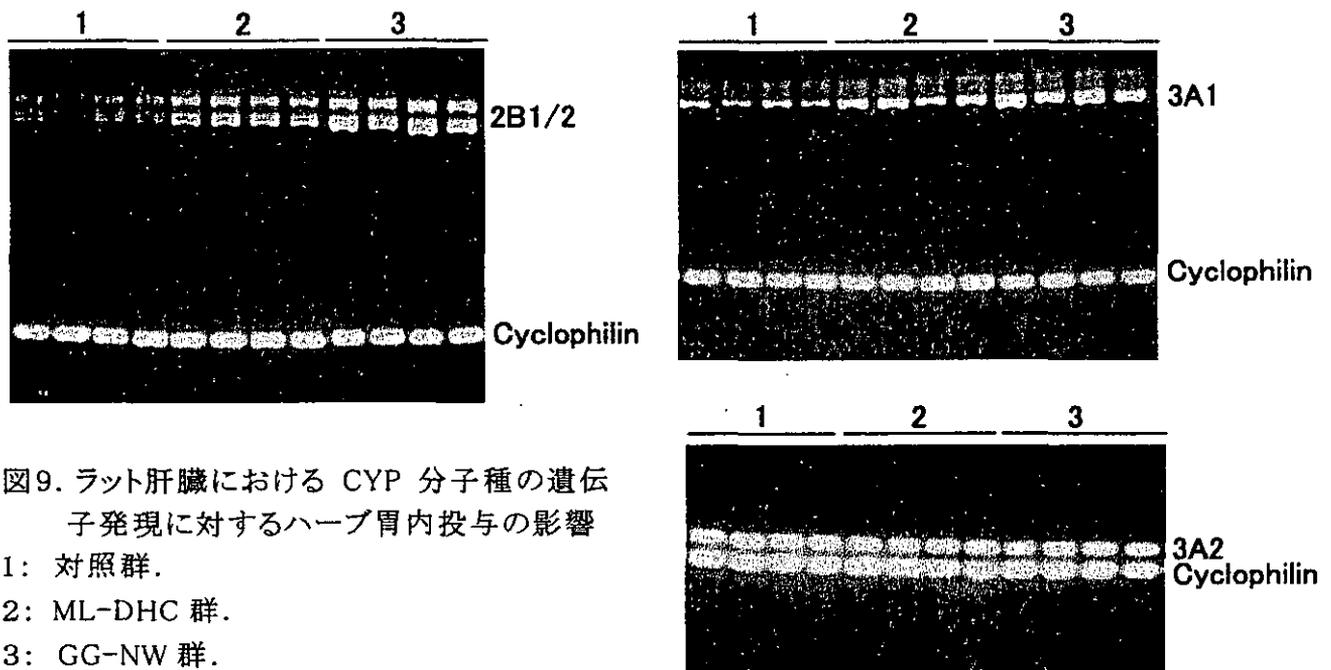
4. 雄 SD ラットへの各種ハーブ投与の影響: ヒトの常用量の 100 倍量の投与について

胃内投与が可能な投与液を調製できたハーブについてはこの方法により, また困難であったハーブについては食餌への添加により, ヒトの常用量の 100 倍量を投与して検討した.

1) ハーブの胃内投与による影響

メリロート(ML-DHC), イチョウ葉(GG-NW)について実施した. これらを投与したラットでは, 肝臓の実重量が対照に比べて僅かではあるが, 有意に増大していた(表12). しかし, 相対重量には対象との差が認められなかったので, この肝臓の実重量の増大は, ハーブ投与ラットでは対照に比べて体重が若干高めであったことの反映したと推定される.

CYP 分子種の発現に関しては, メリロートあるいはイチョウ葉投与ラットのいずれにおいても, CYP3A1 および CYP2B1/2 の発現が亢進しており, メリロートに比べてイチョウ葉はより強い作用を示した(図9). その他の分子種, すなわち CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1, CYP2C11, CYP3A2, CYP4A1, および GST 分子種の発現へのハーブ投与の影響は認められなかった(data not shown). なお, Shinozukaら³¹⁾は CYP3A2 の発現がイチョウ葉により亢進することを報告しているが, 今回の結果はこれとは異なるものであった. 実験に使用しているイチョウ葉抽出物の違いを反映している可能性も考えられる.



2) ハーブ含有食餌投与による影響

カバ(KV-EL), レッドクローバー(RC-TL, RC-EL), セイヨウカノコソウ(VL-TL), パッションフラワー(PF-NW)について実施した.

KV-EL 摂取群では肝臓の実重量・相対重量ともに増大を示したが, 他のハーブを摂取した群ではこのような肝臓重量の増大は認められなかった(表13).

表12 ハーブ胃内反復投与ラットにおける臓器重量

	CONTROL		MELILOT		GINKGOLD	
			ML-DHC	GG-NW		
BODY WEIGHT	INITIAL (g)	200±3	203±4		200±3	
	FINAL (g)	229±6	238±5		240±4	
HEART	(g)	0.884±0.044	0.851±0.011		0.890±0.044	
	(g/100g BW)	0.387±0.020	0.358±0.009		0.371±0.016	
KIDNEY	(g)	2.022±0.080	2.161±0.037		2.146±0.067	
	(g/100g BW)	0.883±0.030	0.907±0.016		0.896±0.023	
LIVER	(g)	7.667±0.463	8.976±0.285*		8.927±0.164*	
	(g/100g BW)	3.345±0.173	3.760±0.079		3.730±0.086	
SPLEEN	(g)	0.942±0.196	1.311±0.185		1.073±0.199	
	(g/100g BW)	0.413±0.088	0.545±0.073		0.451±0.086	
ADRENAL GLAND	(g)	0.036±0.003	0.041±0.004		0.041±0.004	
	(g/100g BW)	0.016±0.001	0.017±0.002		0.017±0.002	
THYMUS	(g)	0.496±0.050	0.422±0.057		0.614±0.057	
	(g/100g BW)	0.217±0.022	0.175±0.023		0.256±0.024	
BRAIN	(g)	2.043±0.022	1.969±0.025		1.962±0.054	
	(g/100g BW)	0.895±0.023	0.828±0.025		0.819±0.025	
TESTES	(g)	2.608±0.115	2.665±0.111		2.366±0.136	
	(g/100g BW)	1.144±0.062	1.119±0.047		0.989±0.058	
EPIDIDYMIS	(g)	0.480±0.033	0.486±0.035		0.460±0.021	
	(g/100g BW)	0.212±0.018	0.204±0.015		0.192±0.009	
SEMINAL VESICLE	(g)	0.429±0.015	0.399±0.020		0.380±0.037	
	(g/100g BW)	0.189±0.010	0.167±0.008		0.159±0.016	

平均値±標準誤差 (n=6). 対照群との有意差: *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001.

表13 ハーブ含有食餌投与ラットにおける臓器重量

	CONTROL	KAVA		RED CLOVER		RED CLOVER		PASSION FLOWER		VALERIAN	
		KV-EL(2.125%)		RC-EL(1.000%)		RC-TL(0.667%)		PF-NW(1.000%)		VL-TL(1.250%)	
BODY WEIGHT	INITIAL (g)	218±3	218±3	218±3	218±3	218±3	218±3	218±3	218±3	218±3	218±2
	FINAL (g)	264±7	260±4	259±6	253±6	253±6	253±6	260±5	260±5	257±6	257±6
HEART	(g)	1.055±0.028	1.072±0.030	1.087±0.046	0.992±0.025	0.992±0.025	0.992±0.025	1.069±0.021	1.069±0.021	1.009±0.027	1.009±0.027
	(g/100 g BW)	0.400±0.009	0.413±0.015	0.420±0.014	0.394±0.015	0.394±0.015	0.394±0.015	0.412±0.013	0.412±0.013	0.393±0.004	0.393±0.004
KIDNEY	(g)	2.363±0.087	2.471±0.091	2.441±0.078	2.383±0.082	2.383±0.082	2.383±0.082	2.309±0.096	2.309±0.096	2.293±0.119	2.293±0.119
	(g/100 g BW)	0.894±0.017	0.950±0.029	0.944±0.022	0.943±0.020	0.943±0.020	0.943±0.020	0.886±0.022	0.886±0.022	0.892±0.033	0.892±0.033
LIVER	(g)	9.152±0.295	11.068±0.222***	9.398±0.107	8.918±0.323	8.918±0.323	8.918±0.323	9.000±0.231	9.000±0.231	9.161±0.510	9.161±0.510
	(g/100 g BW)	3.499±0.043	4.260±0.090***	3.640±0.051	3.527±0.078	3.527±0.078	3.527±0.078	3.457±0.042	3.457±0.042	3.558±0.124	3.558±0.124
SPLEEN	(g)	1.182±0.164	1.054±0.180	1.453±0.214	1.117±0.164	1.117±0.164	1.117±0.164	1.061±0.151	1.061±0.151	1.171±0.247	1.171±0.247
	(g/100 g BW)	0.446±0.060	0.407±0.073	0.573±0.098	0.441±0.061	0.441±0.061	0.441±0.061	0.412±0.063	0.412±0.063	0.453±0.088	0.453±0.088
STOMACH	(g)	1.343±0.020	1.239±0.043	1.292±0.024	1.299±0.038	1.299±0.038	1.299±0.038	1.223±0.048*	1.223±0.048*	1.225±0.064	1.225±0.064
	(g/100 g BW)	0.510±0.012	0.476±0.013	0.501±0.016	0.514±0.011	0.514±0.011	0.514±0.011	0.470±0.013*	0.470±0.013*	0.479±0.027	0.479±0.027
SMALL	(g)	10.851±0.380	11.004±0.423	10.763±0.597	9.974±0.546	9.974±0.546	9.974±0.546	10.704±0.428	10.704±0.428	9.944±0.446	9.944±0.446
INTESTINE	(g/100 g BW)	4.127±0.209	4.237±0.169	4.150±0.171	3.938±0.152	3.938±0.152	3.938±0.152	4.107±0.099	4.107±0.099	3.873±0.141	3.873±0.141
ADRENAL	(g)	0.056±0.004	0.060±0.004	0.059±0.004	0.056±0.006	0.056±0.006	0.056±0.006	0.072±0.007	0.072±0.007	0.058±0.005	0.058±0.005
GLAND	(g/100 g BW)	0.021±0.002	0.023±0.001	0.023±0.001	0.022±0.002	0.022±0.002	0.022±0.002	0.027±0.002*	0.027±0.002*	0.023±0.002	0.023±0.002
THYMUS	(g)	0.681±0.072	0.700±0.058	0.693±0.068	0.693±0.055	0.693±0.055	0.693±0.055	0.762±0.062	0.762±0.062	0.580±0.060	0.580±0.060
	(g/100 g BW)	0.260±0.029	0.268±0.020	0.268±0.024	0.275±0.022	0.275±0.022	0.275±0.022	0.294±0.026	0.294±0.026	0.224±0.021	0.224±0.021
BRAIN	(g)	2.009±0.016	2.029±0.033	2.031±0.026	2.039±0.021	2.039±0.021	2.039±0.021	2.080±0.025*	2.080±0.025*	2.022±0.019	2.022±0.019
	(g/100 g BW)	0.763±0.018	0.781±0.017	0.788±0.022	0.810±0.023	0.810±0.023	0.810±0.023	0.801±0.017	0.801±0.017	0.790±0.017	0.790±0.017
TESTES	(g)	2.661±0.043	2.684±0.159	2.719±0.028	2.556±0.063	2.556±0.063	2.556±0.063	2.421±0.060	2.421±0.060	2.476±0.048	2.476±0.048
	(g/100 g BW)	1.001±0.035	1.031±0.051	1.055±0.030	1.013±0.022	1.013±0.022	1.013±0.022	0.931±0.023**	0.931±0.023**	0.968±0.035*	0.968±0.035*
EPIDIDYMIS	(g)	0.611±0.038	0.512±0.044	0.581±0.038	0.490±0.036**	0.490±0.036**	0.490±0.036**	0.555±0.039	0.555±0.039	0.495±0.023**	0.495±0.023**
	(g/100 g BW)	0.231±0.012	0.197±0.016	0.225±0.014	0.195±0.015	0.195±0.015	0.195±0.015	0.214±0.017	0.214±0.017	0.193±0.010*	0.193±0.010*
SEMINAL	(g)	0.369±0.044	0.284±0.038	0.336±0.029	0.314±0.025	0.314±0.025	0.314±0.025	0.312±0.045	0.312±0.045	0.299±0.030	0.299±0.030
VESICLE	(g/100 g BW)	0.138±0.014	0.109±0.014	0.130±0.011	0.124±0.010	0.124±0.010	0.124±0.010	0.118±0.016	0.118±0.016	0.116±0.010	0.116±0.010
GOT	(U/l)	113±15	92±11	106±10	102±5	102±5	102±5	101±4	101±4	138±33	138±33
GPT	(U/l)	33±3	27±5	27±2	29±2	29±2	29±2	28±2	28±2	31±7	31±7

平均値±標準誤差(n=6). 対照群との有意差: *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001.

CYP1A1 は対照群では発現が認められなかったが、カバ摂取群でその発現が認められた。しかし、他のハーブ摂取の影響は観察されなかった(図 10)。レッドクローバーは CYP1A1 の発現に影響を与えなかったが、昨年度の報告ではこのハーブを 5% に含む食餌の摂取にともなう CYP1A1 の発現の軽度亢進が認められた。二つの結果の違いは、食餌中のレッドクローバーの含有量の違いによるのかもしれない。したがって、レッドクローバーサプリメントに CYP1A1 の発現を促進する成分が潜在的に含まれている可能性を否定することはできないが、一応ヒトの常用量のレッドクローバーの摂取では CYP1A1 の発現亢進というリスクは回避できる可能性が高いと推定される。

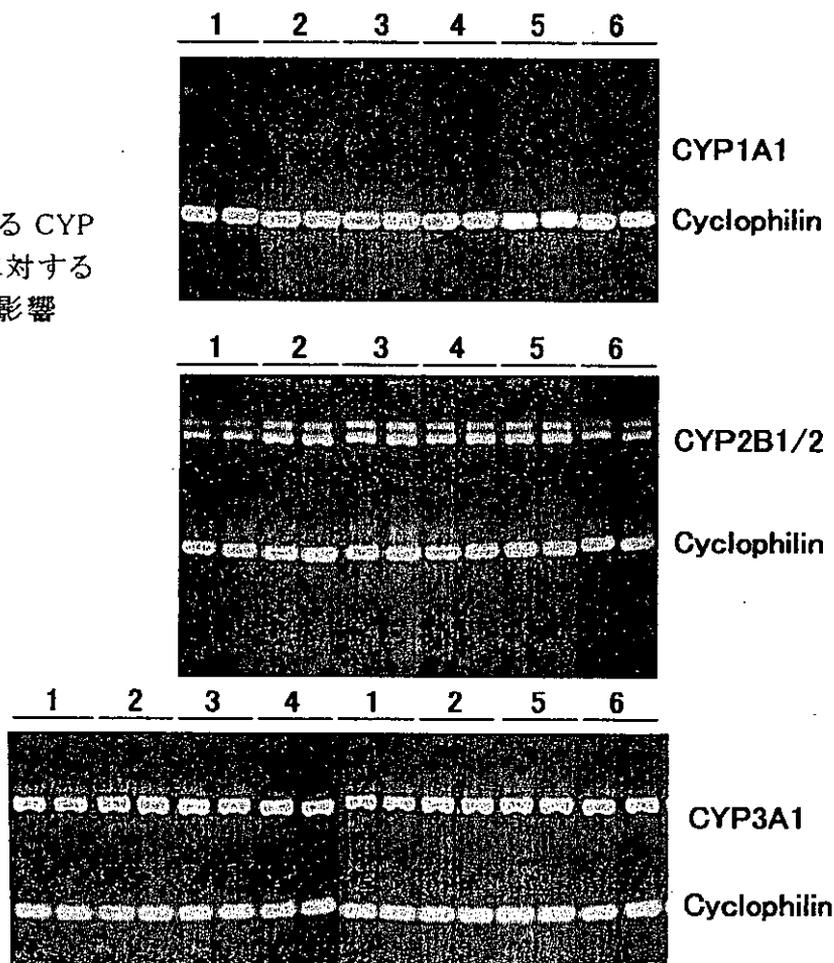
CYP3A1 については、カバ摂取群でその発現の亢進が認められたが(デンシトメトリーにおいて $p < 0.01$)、他のハーブの有意な影響は見られなかった(図 10)。

CYP2B1/2 の発現は、セイヨウカノコソウ以外のハーブの摂取により、軽度に亢進する傾向が認められた(図 10)。

他の CYP 分子種および GST の発現へのハーブ含有食の影響は認められなかった。

図 10. ラット肝臓における CYP 分子種の遺伝子発現に対するハーブ含有食餌摂取の影響

- 1: 対照群.
- 2: KV-SN 群.
- 3: RC-EL 群.
- 4: RC-TL 群.
- 5: PF-NW 群.
- 6: VL-TL 群.



以上、今回ハーブの胃内投与実験およびハーブ含有食投与実験において得られた結果をまとめ、表 14 に示す。

表14 肝臓重量ならびに薬物代謝酵素の遺伝子発現に対するハーブ投与の影響

	KAVA	RED CLOVER	PASSION FLOWER	VALERIAN EXTRACT	MELILOT	GINKGOLD
CYP1A1	+, ++ *					
CYP1A2						
CYP1B1						
CYP2B1/2	↑	↑	↑		↑ *	↑↑ *
CYP2C11						
CYP2E1						
CYP3A1	↑				↑ *	↑↑ *
CYP3A2						
CYP4A1						
GST-M2						
GST-P						
肝臓重量	↑↑					

+, 発現あり; ++, 強い発現あり.

↑, 発現の亢進あり; ↑↑, 発現の強い亢進または肝臓相対重量の強い増大あり.

* 胃内反復投与実験の結果による.

IV. 本年度の研究のまとめ

中枢神経機能を指向する新開発食品の安全性確保には、その素材のなかでもとくにメジャーな素材であるハーブの安全性確保の方法を確立することが重要であるとの観点から継続的に進めてきた研究をさらに掘り下げ、拡張させた。

本年度の研究は大きく二つの柱からなり、それぞれから以下のような結果が得られた。

【1】主要ハーブサプリメント素材の有用性の科学的根拠等に関する検討・評価： とくに日米間の比較を中心に

主に次の結果が得られた。

- ① 米国および日本における市場規模トップ 20 のハーブ素材について、一般的特徴等を調べた上で、Natural Medicines Comprehensive Database (NMCD) による安全性および有効性のランキングに基づいて、科学的根拠を評点化したリストを作成した。
- ② このリストのデータを解析したところ、日本におけるトップ 20 の素材は安全性、有効性、総合点のいずれにおいても米国のものに比べて低いことが判明した。とくにトップ 10 のものについてはこの傾向が強く、日米間の評点に大きな隔たりが認められた。
- ③ 日本健康・栄養食品協会により規格基準が定めている素材は、定められていない素材に比べて明らかに売上順位および売上高が高かった。しかしこれらの素材が、NMCD によって高い評価を受けているわけではなかった。

これらの結果から、次の点を考察した。

- ① 米国では、消費者が安全性や有効性の科学的根拠をもとに、あるいは適正な情報提供を受けた上で購買行動を行う可能性がある。
- ② JHFA 認定マークは、品質および一応の安全性を担保する上で重要な役割を果たすと考えられるが、有効性に関しては保健機能食品以外に保健の用途に関する適正な情報提供が進んでいない状況にある可能性がある。
- ③ 日本のトップ 20 の素材の評点が低いのは、NMCD による評価が英文論文等の成果を中心において行われているためであることも大きな要因であると考えられる。
- ④ 日本において、いわゆる健康食品を含む新開発食品素材の安全性や有効性について適正な情報提供を行うためには、NMCD に依存するものでなく、日本特有の食品や風土に合致するような安全性・有効性の評価システムやデータベースの立ち上げ、構築も必要となると考えられる。その基盤となる研究開発も重要である。

【2】ハーブの安全性確保に関する動物試験法の検討

抗不安作用がコクランライブラリーにおいても確認されているが、重篤な肝障害を生じることから問題となっているカバを奇貨として、これをポジティブコントロールとするハーブの安全

性確保に関する動物実験を進め、以下のような結果を得た。

- ① 肝臓における CYP 分子種の遺伝子発現を指標とした場合に、カバに対する感受性には僅かながら性差があるように見受けられた。
- ② 系統差について検討した実験において、肝機能障害やウィルソン病のモデルとみなされている LEC ラットは肝臓重量の増大、肝臓における CYP1A1 の遺伝子発現を指標とした場合に、カバに対して高感受性であることが判明した。カバによる肝障害の機構を研究する上で LEC は有用であるかもしれない。
- ③ カバは小腸の薬物代謝酵素のいくつかの遺伝子発現を抑制する可能性が示された。興味深い知見なので今後の確認がまたれる。小腸からの薬剤の分泌を行い、薬剤耐性に関わるとされる P 糖タンパク質や Multidrug resistance protein の遺伝子発現はカバによる影響を受けなかった。
- ④ TCDD により誘導されるといわれているタンパク質のうち、NAD[P]H QR の発現がカバ投与によって亢進した。上記②で述べた LEC ラットは、ダイオキシン類の中でも CYP1A1 の誘導能が最強である TCDD に高感受性であることが知られている³²⁾。カバは一部は TCDD と同様の機構、すなわち AhR を介して CYP1A1 を誘導する可能性を考えることもできる。なお、AhR や ARNT の遺伝子発現に対するカバの影響は認められなかった。
- ⑤ CYP 分子種の遺伝子発現を指標に、ハーブの安全性確保のための試験法の一環としてメリロート、イチヨウ葉、レッドクローバー、パッションフラワー、セイヨウカノコソウについて実験を行い、表 13 の結果を得た。今後さらに充実を図りたい。なお、CYP1A1 の誘導を促進し、肝臓重量の増大をもたらすカバの影響は突出していることが確認された。

文 献/URL

- 1) 志村二三夫：栄養と健康のライフサイエンス 3, 61-67 (1998)
- 2) 志村二三夫：脳機能と栄養，横越英彦編，幸書房，pp. 125-149 (2004)
- 3) 志村二三夫：栄養学雑誌 58, 151-160 (2000)
- 4) 志村二三夫：健康・栄養食品アドバイザースタッフ・テキストブック，山田和彦・松村康弘編著，pp. 89-106 (2003)
- 5) 志村二三夫，道川優子：医学のあゆみ 208, 991-995 (2004)
- 6) 志村二三夫：厚生科学研究：生活安全総合研究「特定保健用食材の安全性及び有用性に関する研究」平成 13 年度研究報告書，主任研究者 池上 幸江，94-124
- 7) 澤田康文：薬局 52, 1093-1112 (2001)
- 8) 志村二三夫：厚生労働科学研究：食品・化学物質安全総合研究「特定保健用食材の安全性及び有用性に関する研究」平成 14 年度分担研究報告書，主任研究者 池上 幸江，75-110
- 9) 清水俊雄編著：機能性食品素材便覧 特定保健用食品からサプリメント・健康食品