

【原著】

混合茶(甘減茶)投与マウスにおける生理活性に関する研究

長谷川武夫¹、具 然和¹、前田佳予子¹、福山篤司¹、天野守計¹、安藤聡志¹、
宮田勝行¹、暮木実智弘¹、小林龍徳¹、安田俊文¹、高橋 徹²、小森幹生³

¹ 鈴鹿医療科学大学・大学院(保健衛生学研究科)

² 関西医科大学(ラジオアイソトープ研究施設)

³ コモリ株式会社(研究施設)

(受付:平成17年2月9日)

(受理:平成17年3月4日)

要 旨

平均寿命の延長化に伴い、様々な生活習慣病の発生が増加し、健康への関心が高まっている。そこで、副作用の無い植物抽出物である甘減茶抽出物による免疫能活性作用、放射線防護作用、抗腫瘍効果、血糖値抑制効果等を実験動物で調べ、健康維持に役立つことを確認した。

(材料及び方法):甘減茶にはギムネマ・シルベスタ(ギムネマ酸:血糖値抑制)、グアバ(クエルセチン、タンニン:利尿、抗血圧、整腸作用)、熊笹(アンソコロン酸:抗胃腸病、抗肝臓疾患、殺菌作用)、クコの葉(ゼアキサントール、ベタイン、リノール酸:血圧安定、肝機能改善、血管強化)、および柿の葉(ビタミン類:血圧抑制、抗動脈硬化)の5種類の成分が含まれている。甘減茶の抽出物400 mg/kgを、C3H マウス(正常マウス)、C57BLm+(血糖値正常マウス)、C57BLm-(2型糖尿病マウス)に経口投与し、体重変化、血球数変化、抗酸化作用、放射線防護作用、抗腫瘍効果、細胞内サイトカイン、グルコース負荷試験、血糖値抑制効果を測定した。

(結果):甘減茶抽出物投与群には体重減少の抑制効果、白血球数・リンパ球数の一過性増加が観測された。6 GyのX線(200 kV、9 mA:1.08 Gy/min)をC3Hマウスに照射すると、甘減茶投与群に生存日数の延長が観測され、甘減茶の抗酸化作用による放射線防護作用が観測された。また、甘減茶投与群にはINF- γ 、IL-4の活性が観測され、免疫能の活性化が示唆された。血糖値正常のC57BLm+マウスに甘減茶を投与してもその正常血糖値に変化は見られなかったが、甘減茶投与群ではグルコース負荷試験で血糖値抑制効果が見られた。更に、C57BLm-(2型糖尿病マウス)では、長期間の甘減茶抽出物投与で、血糖値抑制効果が観測された。以上の結果は、従来の研究で明らかにされている甘減茶に配合されている各成分の効力が、動物実験で確認できた事を示しており、甘減茶は副作用が無く、高齢者、虚弱体質者、悪性腫瘍治療後の患者に有効であり、生活習慣病にも有効であることを示唆している。

キーワード:茶抽出物、抗腫瘍効果、免疫能活性、放射線防護作用、血糖値抑制作用

緒 言

医学、薬学、栄養学、医療診断機器等の発達により、我国は世界的にも平均寿命が長い

国家になっている。このような長寿命化が進むと様々な成人病(習慣病)が発生する。このような習慣病に対して健康維持への関心が高ま

っている。また、人類は便利さを追求した結果、産業革命の進行に伴って多くの公害病も誘発させ、同時に気候や環境にも異変が発生し、人類の生存を脅かす事態になりつつある。この様な問題の解決には人工生成物でなくて天然物を用いると共に、自然環境を保護し、人類と自然が共存できる環境を整備する事が重要な課題に成りつつある。そこで、本研究では、高齢者、虚弱体質者、悪性腫瘍治療後の患者、習慣病の抑制を目標とし、毒性が見られない植物の抽出物である甘減茶抽出物（以下甘減茶と呼ぶ）が持つ、生体における生理活性向上効果、免疫能活性作用、放射線防護作用、抗腫瘍作用、血糖値抑制作用について検討した。

材料および方法

1. 材料

1-1. 実験動物

実験動物は、鈴鹿医療科学大学の倫理委員会規定に定めた鈴鹿医療科学大学動物実験指針に従って飼育・動物実験を行った。

放射線防護効果の測定には C3H マウス（雄、6 週齢）、免疫能活性測定には C57BLdb/db m+ マウス（雄、6 週齢）、および血糖値抑制測定には高血糖値マウス（C57BLdb/dbm-、雄、6 週齢）と血糖値正常マウス（C57BLdb/dbm+、雄、6 週齢）をそれぞれ使用した。これらの動物は、日本クレア社より購入し、飼育は動物舎にて温度 23±1 °C、湿度 55±5 %、12 時間遮光、12 時間照光サイクルの照明下で飼育した。飼料には日本クレア社からの固形飼料 CE-2 を、水にはフィルター濾過した水道水を使用し、両者を自由摂取させた。

放射線防護の実験では、C3H マウスを 1) 放射線単独全身照射群、2) 甘減茶投与 + 放射線全身照射併用群に分けて、X 線照射後のマウス生存日数から放射線防護効果を調べた。体重測定では、C3H マウスを 1) 無処理コントロール群、2) 甘減茶投与群に分けて体重変化を測定した。甘減茶の抗腫瘍効果実験では、

1) の甘減茶投与群に対して、400 mg/kg の甘減茶を 5 日間連日経口投与した後に、C3H マウスの大腿部へ SCC-VII 腫瘍を 1 x 10⁶ 個/0.05 ml 移植し、その後の腫瘍容積を経時的に測定した。得られた結果を 2) の甘減茶無処理コントロール群の腫瘍容積を比較することにより、甘減茶の抗腫瘍効果を評価した。血糖値抑制効果の確認実験には、高血糖マウス（C57BL-db/db m-）と正常血糖値マウス（C57BL-db/db m+）を用いた。実験には高血糖マウスを 1) 無処理コントロール群、2) 甘減茶投与群に分けて、長期間に渡って甘減茶の投与と血糖値測定を行った。また、正常血糖値マウスについても 1) 無処理コントロール群と 2) 甘減茶を長期間投与した甘減茶投与群間で正常マウスに対する甘減茶の血糖値への影響を調べた。また、糖負荷試験（GTT）は血糖値正常マウスに 2 g/kg のグルコース溶液を腹腔内投与し、定期的に尾静脈から 10 μL 採血し、血中グルコース変化を調べた。実験に使用したマウスは各群 10 匹とした。

1-2. 実験装置

実験装置は、次のものを用いた。

測定内容	使用装置	規格
体重測定	電子天秤 島津 (A&D Co)	20 mg—100 g HL-100
血球数測定	血球計 Celltac-α (MEK-6318)	15 項目測定 (10 μL) 日本光電製 16 項目測定
抗腫瘍効果測定	ノギス	1/100 mm — 15 cm 200 KV, 9 mA
放射線照射装置	MG226 型 フィリップス社	1.08 Gy/min at 38 cm FACSCalibur
フロサイトメーター	Becton Dickinson	Max. 15,000 RPM
低温遠心機	KUBITA 1700	20-600 mg/dL
グルコース負荷試験	グルテストエース R GT-1641	20-600 mg/dL
長期血糖値測定	グルテストエース R GT-1641	

1-3. 甘減茶及び抽出物

1-3-1 甘減茶の構成

今回の研究に使用した甘減茶（小森甘減茶、KKGCC）にはギムネマ・シルベスタ、グアバ、熊笹の葉、クコの葉、柿の葉の 5 種類が配合されており、これら混合物の成分とその代表的な作用を Table 1 に示す。

Table 1. Composition of Kan Gen Cha

茶葉名	成分	働き
ギムネマン ルベスタ	ギムネマ酸、Fe、MG、 Ca、Na、繊維質、ビタミンB	糖吸収抑制、血糖値 抑制、インスリン分泌 上昇
グアバ	クエルセチン、ジステ ロール、タンニン、K、 Mg、Ca、繊維質	利尿作用、酸性体質 改善、抗血圧、整腸 作用
熊笹の葉	アンソッコー酸、Ca、 Mg、葉緑素、ビタミンC	糖尿病、胃腸病、肝 臓疾患、殺菌作用
クコの葉	ゼアキサンチン、ベタイ ン、リノール酸、グルコ サイト、ビタミンB1、	血糖、血圧安定、肝 機能改善、疲労回 復、美容、血管強化
柿の葉	ビタミンC、D	血圧抑制、動脈硬化 予防、胃腸病予防

本研究ではこれらの混合物を 50 °Cの蒸留水で水抽出し、凍結乾燥した抽出物をマウスに腹腔内投与して各成分の作用を調べた。

1-3-2 甘減茶の抽出物作成法

Fig. 1 に甘減茶抽出物の作成方法及び実験内容を示す。100 g の甘減茶に対して 100 mL の蒸留水を加え、50 °C で 1 時間攪拌した後、3,000 rpm で遠心した。遠心後、濾紙フィルターを用いて濾過し、濾液を確保した。沈殿物は更に 100 g 当り 100 mL の蒸留水を加え、50 °Cで 1 時間攪拌した。濾紙で得た攪拌後の濾液は一回目の濾液に加え、その後 24 時間掛けて凍結乾燥させた。その結果、甘減茶 100 g 当り 14 g の抽出物が得られた。この抽出物を 400 mg/kg の割合で金属ゾンデを用いて各実験群のマウスに経口投与した。

2. 実験方法

2-1. 体重の測定

400 mg/kg の甘減茶を C3H マウス (雄、6 週齢) に毎日投与し、体重変化は甘減茶投与前に体重計により 20 mg の精度で体重測定した。また、無処理コントロールマウスに付いても同様に毎日体重測定を行った。

2-2. 白血球数測定

無処理コントロール群の C3H マウス 3 匹と甘減茶一回投与 (400 mg/kg) 群の C3H マウス 3 匹において、各マウスの尾静脈に注射針を用いて、微小な穴を付けて出血させ、10 µL 用ガラス微小ピペットによって 10 µL の血液を採血し、10 mL の希釈液 (日本光電、Celltac-α、MEK-6318 型血球測定器専用の溶液) にて希釈した後、Celltac 血球計に吸引して白血球、リンパ球、単球を測定した。測定は甘減茶投与前、甘減茶投与後 3 時間、9 時間、12 時間、24 時間、30 時間に血球測定を行い、甘減茶投与と非投与マウスの血球数の変化を測定した。なお、測定期間内に単球数が異常に増加したマウスは、甘減茶の影響で無く、感染の疑いがあったため、解析データから除外した。

2-3. 抗腫瘍効果の測定

C3H マウス (雄、6 週齢) を甘減茶投与群

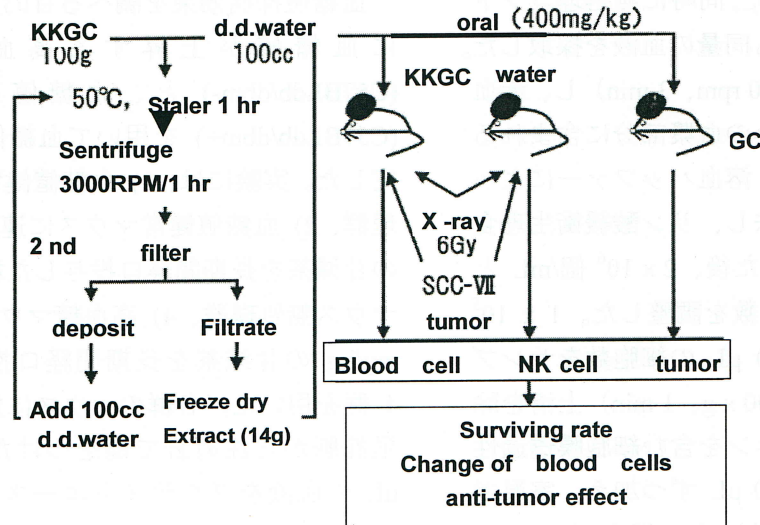


Figure 1
Figure.1 shows the experiment and making extract of KKGC

と非投与群に分けた。甘減茶投与(400 mg/kg)群は投与開始から5日後に、C3H マウス大腿部に SCC-VII 腫瘍を皮下移植し、連日20日間甘減茶(400 mg/kg)を投与した。C3H マウス(雄、6週齢)への腫瘍移植は大腿部に SCC-VII 腫瘍を 1×10^6 個/0.05 mL の量でツベルクリン針(26G)を用いて皮下へ移植した。腫瘍容積測定は腫瘍長径(a)と短径(b)をノギスで計測し、腫瘍体積を求めた。腫瘍体積計算は $(\pi/6)ab^2$ の式によって求め、甘減茶投与群と非投与群間で腫瘍容積の違いから甘減茶の抗腫瘍効果を評価した。

2-4. 放射線防護効果の測定

C3H マウス(雄、6週齢)を甘減茶投与(400 mg/kg)群(照射前5日間の連続投与)と非投与群に分けて、各群のマウスをX線のビルドアップを考慮した薄いアクリル容器に各群を10匹づつ入れて、200 kV、9 mA (0.2 mm Cu + 2 mm Al 吸収板: 1.08 Gy/min at 38 cm)のX線を6 Gy 全身照射した。6 Gy 全身照射した甘減茶投与群マウスと非投与群マウスの生存日数から甘減茶による放射線防護効果を調べた。

2-5. 細胞内サイトカインの測定⁴⁾

C57BL マウス(db/dbm+)に甘減茶400 mg/kgを経口投与し、8時間後にマウスの心臓から3 mL採血した。同時に無処理コントロール群マウスからも同量の血液を採取した。血液は遠心分離(1,000 rpm、3 min)し、赤血球を沈殿させ、上澄みの血漿部分に含まれるリンパ球を分離した。溶血バッファーによって完全に赤血球を除去し、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で洗浄した後、 2×10^6 個/mLとなる様にPBSで細胞数を調整した。 1×10^5 個から 1×10^6 個/100 μ Lの細胞数をサンプル管に取り、遠心(500 x g、1 min)上清を除去した。0.5%サポニンを含む細胞膜透過性促進バッファーを150 μ L ずつ加え、室温で15分間インキュベートした。遠心(500 x g、1 min)して、蛍光標識抗サイトカイン抗体

(R-PE 標識 IL-4 抗体、FITC 標識 INF- γ 抗体)をそれぞれ添加し30分間インキュベートし、0.5%BSA(牛血清アルブミン)/PBSで洗浄後、0.5%BSA/PBSで400 mLに希釈し、200メッシュのナイロン網で濾過した細胞をフローサイトメーター(FACSCalibur)に通して各抗体で染色された細胞数を計測した。無処理コントロール群のIL-4、INF- γ 値を1に規格化し、甘減茶投与後のIL-4、INF- γ 値の増加割合から免疫能の活性を調べた。

2-6. グルコース負荷試験¹⁾

C3H マウス(雄、6週齢)の無処理コントロール群および甘減茶連日16日間の経口投与を行った群に対してグルコース負荷試験を行った。30%グルコース溶液を2 g/kgの割合で両群のマウス腹腔内に投与し、投与前、投与後15分、30分、60分、90分、120分にマウス尾静脈から採血・血糖値測定を行った。血中グルコースの消失速度から甘減茶の血糖値上昇抑制効果を測定した。血中グルコースの測定は、各マウスの尾静脈に注射針を用いて微小な穴を付けて出血させ、グルテストエース Rに取り付けたセンサー部分に出血した数 μ Lの血液を吸着させて、血糖値を讀取ることによって行った。

2-7. 血糖値上昇抑制効果の測定

血糖値抑制効果を調べる目的で、加齢と共に血糖値が上昇する高血糖マウス(C57BLdb/dbm-)と、血糖値正常マウス(C57BLdb/dbm+)を用いて血糖値の変化を測定した。実験には、1)血糖値健常マウス無処理群、2)血糖値健常マウスに連日400 mg/kgの甘減茶を長期間経口投与した群、3)高血糖マウス無処理群、4)高血糖マウスに連日400 mg/kgの甘減茶を長期間経口投与した群の4群を用いた。各群のマウスに対して、毎日尾静脈から注射針で傷をつけた部位より数 μ Lの血液をグルテストエース Rのセンサー部分に吸着させ、血糖値の讀取を行った。

結果

1. 体重の測定結果

Fig. 2 に甘減茶投与後の体重変化を示す。C3H マウス(雄、6 週齢)に甘減茶 400 mg/kg を毎日経口投与群の体重増加は、甘減茶非投与群と比較して大きかった。特に甘減茶投与の 8 日後より、甘減茶投与群は優位な体重増加が見られた。

2. 白血球数の測定結果

Fig. 3 に甘減茶投与後の白血球変化を、また、Fig. 4 には甘減茶投与後のリンパ球変化を示す。C3H マウス(雄、6 週齢)に甘減茶 400 mg/kg を経口投与すると、甘減茶投与群で、投与後一過性に白血球とリンパ球の増加が観測された。特に甘減茶投与後の 3 から 9 時間で、白血球リンパ球共に非投与群と比較して 1.3 倍の増加が見られた。一方、赤血球、

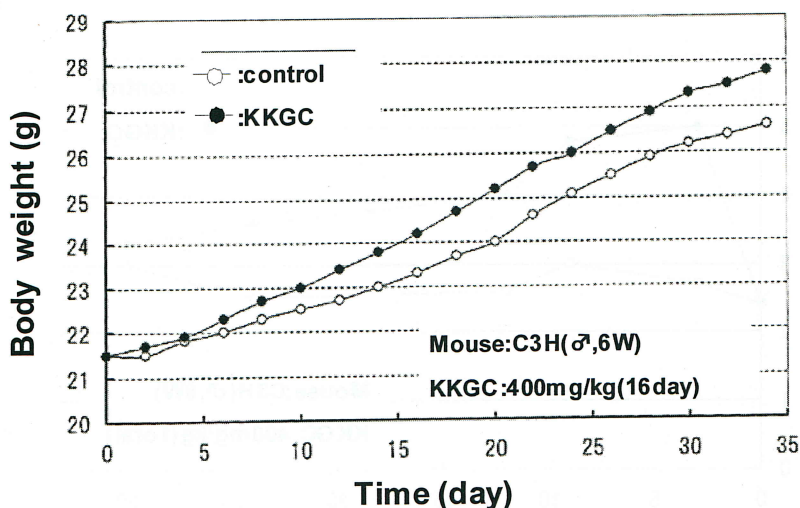


Figure 2 shows the change of the body weight during KKGC administration

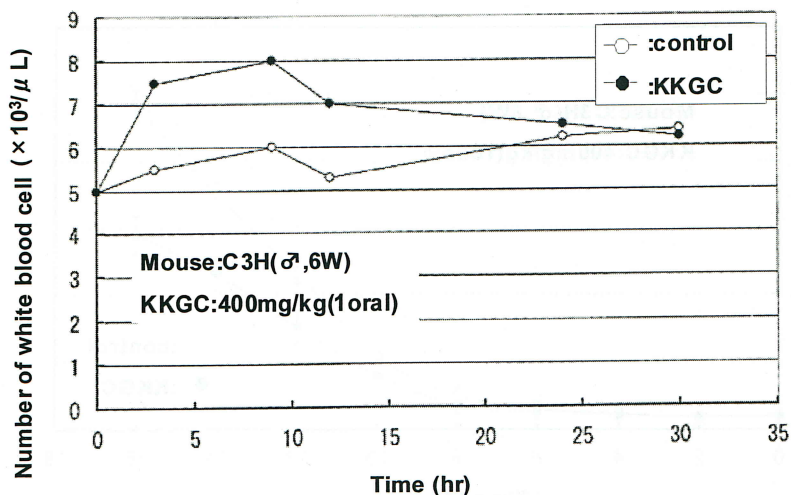


Figure 3 shows the change number of the WBC after KKGC administration

単球、ヘマトクリット値等には甘減茶投与群と非投与群間には有意差は見られなかった。

3. 抗腫瘍効果の測定結果

Fig. 5 に C3H マウス大腿部皮下へ SCC-VII 腫瘍を移植した時の腫瘍成長速度を示す。1 x 10⁶ 個/0.05 mL の SCC-VII 細胞をマウス大腿部皮下に移植した。一群は無処理コントロール群とし、もう一群は腫瘍移植当日から連続して連日 20 日間 400 mg/kg の甘減茶

を投与した甘減茶投与群とし、腫瘍容積の増加速度を測定した。甘減茶投与 10 日から甘減茶投与群の腫瘍容積の増加遅延が観測され、16 日目には無処理群の腫瘍容積は甘減茶投与群よりも 1.6 倍もの有意な増加を示し、甘減茶には腫瘍増殖抑制効果がある事が示された。

4. 放射線防護効果の測定結果

Fig. 6 は甘減茶投与 (C3H、雄、6 週齢)

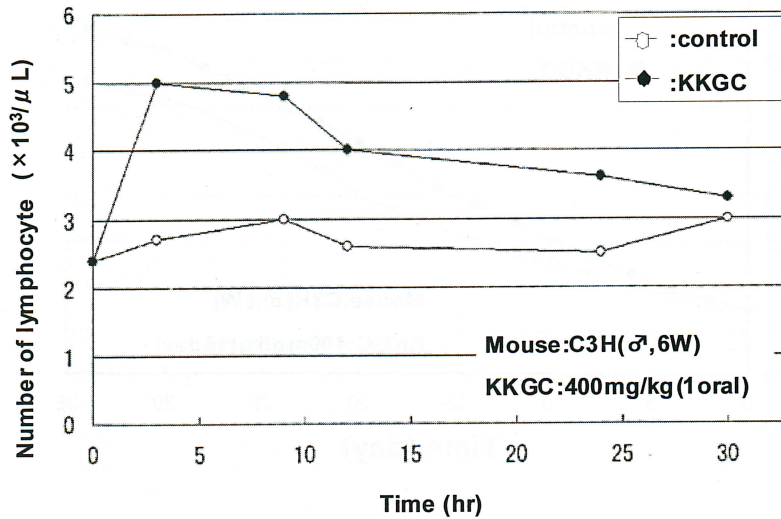


Figure 4 shows the change number of the Ly after KKGC administration

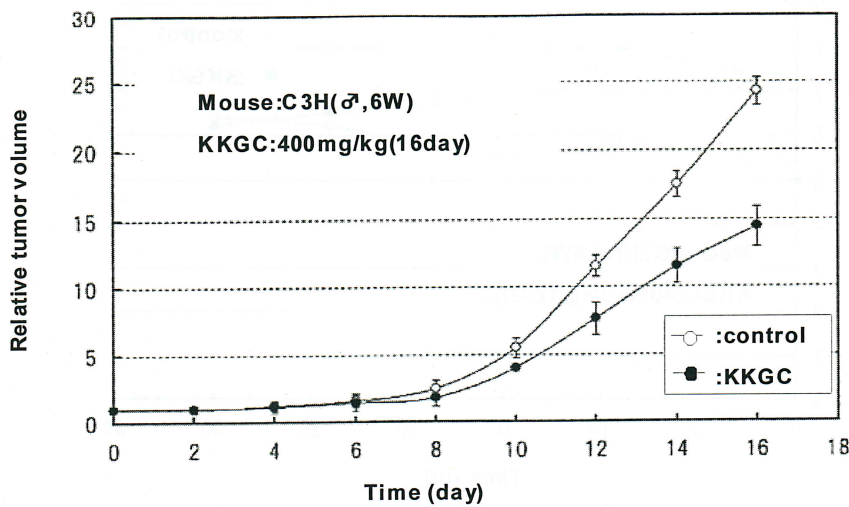


Figure 5 shows the relative tumor volume during KKGC administration. There were statistical significant at 12 days after start of this experiment.

マウスの放射線防護効果を示す。C3H マウスを2群に分けて放射線防護効果を調べた。一群はX線を6 Gy 全身照射した放射線単独群、もう一群は甘減茶連日 400 mg/kg 投与し5日目に6 Gy の放射線 (200 KV、9 mA、0.2 mm Cu + 2 mm Al、1.08 Gy/min) を一回全身照射した甘減茶 + 放射線群について、マウス生存数から放射線防護を確認した。実験に先立ち、甘減茶抽出物の抗酸化作用を1,1-ジフェニル-2 ピクリルヒドラジン (DPPH) ラ

ジカル消去法²⁾ およびルミノール法³⁾ によって検討した。いずれの方法によっても甘減茶に強い抗酸化作用が確認された。抗酸化作用の結果を元に、C3H マウスに対して甘減茶投与群及び非投与群に X 線を全身に一回 6 Gy 照射した。放射線照射後の生存日数を調べると、甘減茶非投与群の 50% 生存日数は8日であったのに対し、甘減茶投与群のそれは10日を示し、甘減茶は放射線照射による死亡を2日間延長させ、放射線防護効果を示

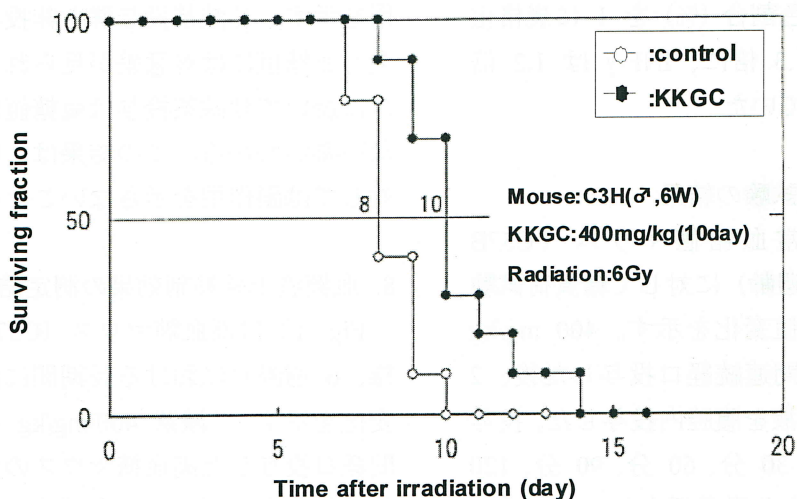


Figure 6 shows the Surviving fraction after irradiation(6Gy)

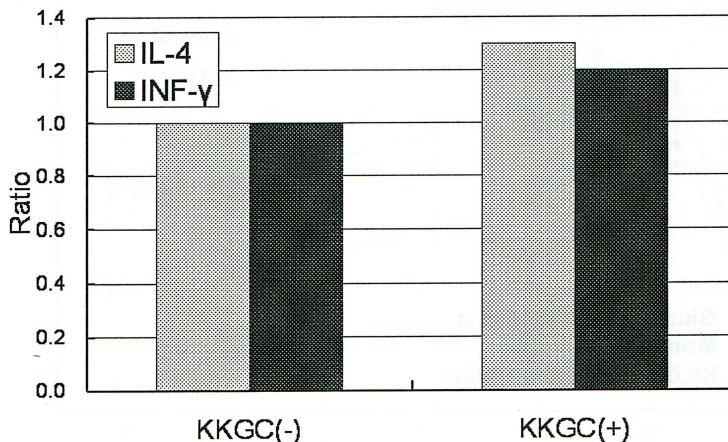


Figure.7 shows the IL-4,INF-γ activation after administration of KKGC (Komori Kan Gen Cha). Measurement time is 8 hr after KKGC injection with anti-body staining.

した。

5. INF- γ 、IL-4 の測定結果⁴⁾

Fig. 7 は甘減茶投与後の INF- γ 、IL-4 活性を指標にした免疫能活性を示す。無処理コントロール群の C3H マウスおよび甘減茶 400 mg/kg 投与後 8 時間目の C3H マウスの心臓からそれぞれ血液を採取した。分離した白血球、リンパ球を色素標識 INF- γ および IL-4 抗体で反応した後に、フローサイトメーターで INF- γ と IL-4 の発現率を測定した。コントロールの染色割合 (%) を 1 に規格化すると、IL-4 は 1.3 倍に、INF- γ は 1.2 倍にそれぞれ上昇していた。

6. グルコース負荷試験の結果

Fig. 8 は、正常血糖値マウス (C57B Ldb/dbm+, 雄、6 週齢) に対して糖負荷試験を行った時の血糖値変化を示す。400 mg/kg の甘減茶を 16 日間連続経口投与した後、2 g/kg のグルコース液を腹腔内投与した。投与前、投与後 15 分、30 分、60 分、90 分、120 分にマウス尾静脈より微量採血し、グルテストエース R 読み取り器・グルコースセンサーによって血糖値測定を行った。甘減茶投与群は、グルコース投与後 15 分で血糖値 220

mg/dL を示し、その後減衰してグルコース投与後 120 分には元の正常値に戻った。一方、甘減茶の投与を行わなかった群では、グルコース投与後 30 分で 300 mg/dL を示し、その後 120 分経過しても 175 mg/dL と高値を維持し、甘減茶投与群に血糖値上昇抑制作用が認められた。

7. 正常マウスの血糖値への影響

Fig. 9 は血糖値正常マウス (C57B-Ldb/dbm-, 雄、6 週齢) に対する甘減茶の作用を示す。甘減茶投与群と非投与群の間には全く血糖値には有意差が見られず、健常マウスに於いて甘減茶投与は血糖値に影響を与えない事がわかる。この結果は、健常マウスに対しては副作用を示さないことを示す。

8. 血糖値上昇抑制効果の測定結果

Fig. 10 は高血糖マウス (C57BLdb/dbm-, 雄、6 週齢) における長期間に渡る血糖値の変化を示す。甘減茶 400 mg/kg を連日 30 日間経口投与した高血糖マウスの血糖値変化は、甘減茶非投与群よりも血糖値上昇が少なく、とくに投与後 4 日から 10 までは有意に血糖値上昇が抑制された。

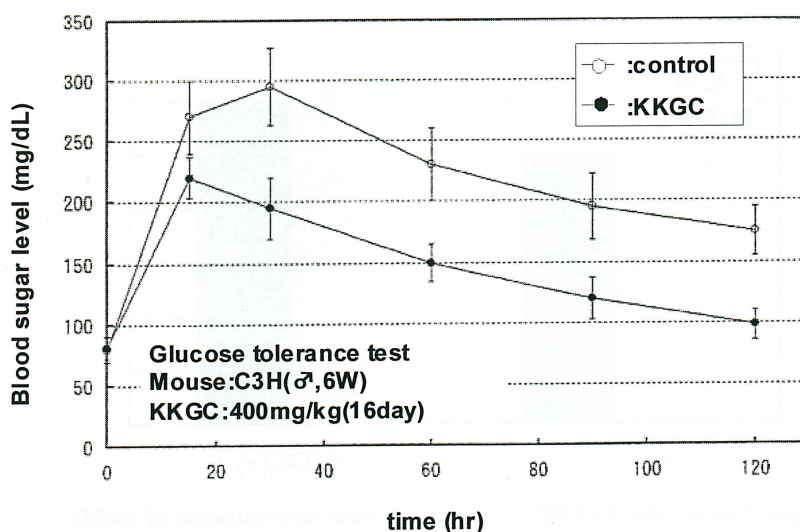


Figure 8 shows the Glucose tolerance test after KKGC administration .

KKGC group were quickly return to the previous level than control.

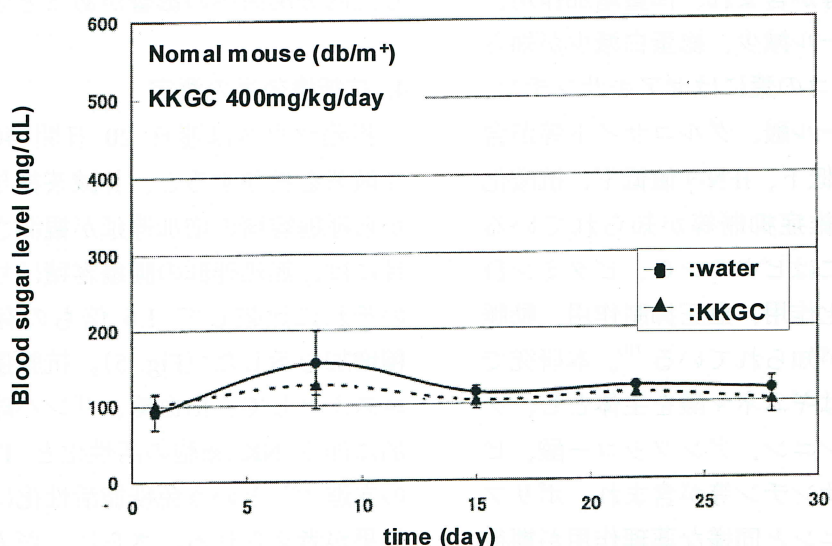


Figure 9 shows the blood sugar level during KKGc administration .
There were no change between control and KKGc group on normal mouse.

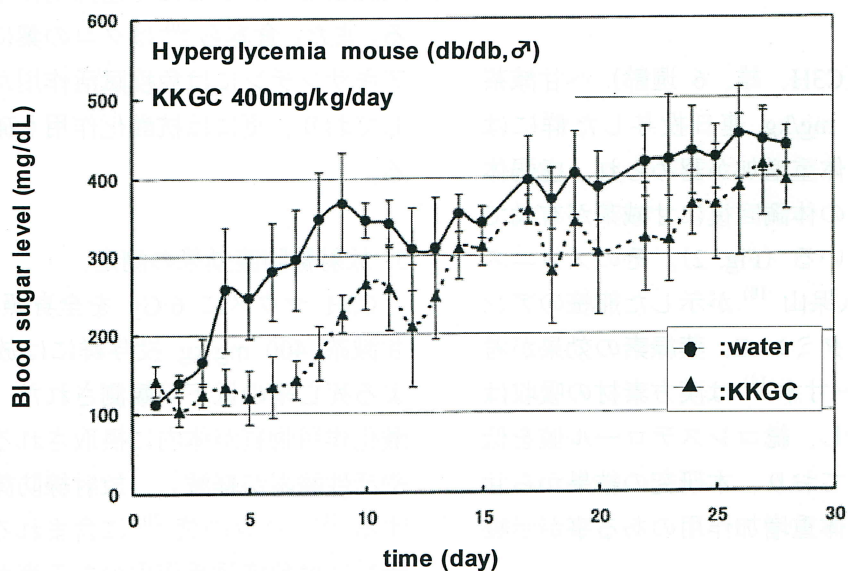


Figure 10 shows the blood sugar level during KKGc administration .
KKGc group has the effect of blood sugar level suppression.

考 察

1. 甘減茶の生理活性

一般にお茶にはカテキン、ポリフェノール、サポニン、β-グルカン等が含まれ、これらの天然物質は生理活性があるといわれている^{5,6,7,8,9,10,11}。今回の実験に使用した甘減茶にはギムネマシルベスタ^{12,13}を主成分としてグアバ⁷、熊笹⁸、クコの葉⁹、柿の葉¹⁰が

追加配合されている (Table 1)。ギムネマシルベスタに含まれるギムネマ酸には、ポリフェノール同様に総コレステロール低下、肥満抑制、腸管糖吸収抑制、血糖値抑制が知られている^{5,12,13,14}。また、グアバにはクエルセチン、ジトステロール、タンニン等がふくまれ、これらは血糖値抑制作用、糖質水解酵素阻害作用、高血糖ラットでの血糖値抑制作用、トリグリセライド低下作用等が知られている

7,15,16,17)。熊笹の葉にはアンソッコー酸、ビタミンC、葉緑素等が含まれ、体重増加作用、血中コレステロール減少、総蛋白減少が知られている^{8,18)}。クコの葉にはゼアキサンチン、ベタイン、リノール酸、グルコサイト等が含まれ、酸化LDL低下、IFN- γ 値低下、抗酸化作用による肝線維症抑制等が知られている^{9,19,20,21)}。柿の葉にはビタミンC、ビタミンDが含まれ、抗酸化作用、血圧抑制作用、動脈硬化抑制作用等が知られている¹⁰⁾。本研究で使用した甘減茶はギムネマ酸を主体とし、ケルセチン、タンニン、アンソッコー酸、ビタミン類、アキサンチン等が含まれ、ポリフェノールやサポニンと同様な薬理作用が期待できる健康食品と考えられる。これらの作用を以下の項目で説明する。

2. 体重の測定

健常マウス (C3H、雄、6週齢) へ甘減茶抽出物を 400 mg/kg 連日投与した群には非投与群よりも体重増加が認められ、虚弱体質や病み上がりの体調回復に甘減茶が有効である事を示している (Fig. 2)。そのメカニズムは田村⁸⁾や久保山¹⁸⁾が示した熊笹のアンソッコー酸、ビタミンC、葉緑素の効果が考えられた。また一寸木¹⁴⁾は漢方素材の吸収は体重増加に影響し、総コレステロール値を低下すると報告しており、本研究の結果から甘減茶にも同様な体重増加作用のある事が示唆された。

3. 白血球数の測定

C3H マウスに甘減茶 400 mg/kg を経口投与すると 3 から 9 時間目に白血球、リンパ球数の一過性増加が見られ、これら免疫担当細胞の増加は免疫能の活性化を示唆している (Fig. 3、Fig. 4)。中村⁹⁾はクコの葉の成分であるベタイン、リノール酸、グルコサイト等には INF- α の亢進作用があり、サイトカインへの影響が示唆され、Ardestani²³⁾や斉藤²⁴⁾らはマクロファージが誘導されることを示し、Stramentinoli²⁵⁾は TNF- α 、INF- γ 等の亢進を

認めており、甘減茶にはこの様な免疫系を介した内分泌系への影響があると思われる。

4. 抗腫瘍効果の測定

担癌マウスは連日 20 日間 400 mg/kg の甘減茶を投与すると、甘減茶投与の 10 日目から腫瘍容積の増加遅延が観測された。16 日目には、無処理群の腫瘍容積は甘減茶投与群のそれに比較して 1.6 倍もの有意な腫瘍体積増加を示した (Fig. 5)。抗腫瘍効果のメカニズムとして、白血球、リンパ球の一過性増加に伴う NK 細胞の活性化と TNF- α 、INF- γ の亢進²⁵⁾ という免疫能活性化による抗腫瘍効果が考えられる。さらに、ギムネマ酸がフラボノイド類やカロテノイド類と同様な作用を持つようであるので、Katiyar²⁶⁾、Yamane²⁷⁾、Narisawa²⁸⁾ が示した発癌抑制作用も期待できる。また、倉本ら²⁰⁾はクコの葉に含まれるゼアキサンチンには免疫賦活作用がある事を示しており、更には抗酸化作用も確認されている。

5. 放射線防護効果の測定

C3H マウスに 6 Gy を全身照射した場合、甘減茶 400 mg/kg 投与群には放射線損傷による死亡率の低下が観測された (Fig. 6)。抗酸化作用物質が体内に摂取されるとラジカルや活性酸素が軽減し、放射線防護作用が発生する²¹⁾。クコの葉²⁰⁾に含まれるゼアキサンチンには免疫賦活作用のある事が示されており、更には抗酸化作用も確認されている^{9,19,20,21,22)}。宮嶋ら²²⁾によってタンニンはポリフェノールに分類され、抗酸化作用が有ると報告されており、この抗酸化作用は放射線防護に大いに影響する²³⁾。

6. INF- γ 、IL-4 の測定

C3H マウスに甘減茶 400 mg/kg を投与すると Fig. 7 に示した如く、甘減茶投与後に INF- γ 、IL-4 の活性が観測された。甘減茶に含まれるクコの葉の成分であるベタイン、リノール酸、グルコサイト等には INF- α の低下

作用があり、サイトカインへの影響が示唆されている^{9,19,20,21,22)}ことから、この INF- γ 、IL-4 活性は抗腫瘍効果のメカニズムの一つに加える事ができる。

7. グルコース負荷試験

正常血糖値マウス (C57BLdb/dbm+, 雄、6週齢) に対して糖負荷試験を行った場合、甘減茶投与群はグルコース (2 g/kg) 投与後 15分で血糖値 220 mg/dL を示し、その後は減衰して、グルコース投与後 120 分には元の正常値に戻った。しかし、甘減茶の投与を行わなかった群では、グルコース投与後 30 分で 300 mg/dL を示し、その後 120 分経過しても 175 mg/dL と高値を示し、甘減茶投与群に血糖値上昇に対する抑制作用が認められた (Fig. 8)。杉原ら¹²⁾ はギムネマ酸によって腸管の糖吸収が抑制される事を報告しており、また、吉岡ら¹³⁾ もギムネマ酸の経口投与によるグルコース負荷試験で、血糖値上昇抑制効果がある事を報告しており、本研究の腹腔内グルコース負荷試験も同様な結果が得られている。具ら¹¹⁾ は、甘減茶の血糖値抑制効果は甘減茶に含まれる多糖類の糖吸収抑制に起因する事と新陳代謝に起因するインシュリン分泌亢進を報告している。また、グアバに含まれるクエルセチン、ジトステロール、タンニンなどには、血糖値抑制作用、糖質水解酵素阻害作用、高血糖ラットでの血糖値抑制作用、トリグリセライド低下作用などが報告されている^{7,15,16,17)}。これらの作用は本研究でも同様な結果が確認された。

8. 血糖値上昇抑制効果測定

高血糖マウス (C57BL db/db m-, 雄、6週齢) における長期間に渡る血糖値の変化を観察した。甘減茶 400 mg/kg を連日 30 日間経口投与した高血糖マウスでは、甘減茶非投与群よりも血糖値上昇が少なく、投与後 4 日から 10 日までは有意に血糖値の上昇が抑制された (Fig. 10)。糖負荷試験の結果 (Fig. 8) と同様、甘減茶投与群は血糖値上昇に対する

抑制効果が示された。具ら¹¹⁾ は甘減茶の血糖値抑制効果について、甘減茶に含まれる多糖類の糖吸収抑制に起因する事と新陳代謝に起因するインシュリン分泌亢進を報告しており、吉岡ら¹³⁾ はギムネマ酸には小腸からのグルコース吸収抑制のある事を報告しており、また、石橋らはグアバにも食後過血糖の抑制効果のある事を報告しており、本実験で示された血糖値上昇抑制効果は、ギムネマ酸、クエルセチン、タンニン等による相互作用によるものと考えられる。なお、正常マウスに甘減茶 400 mg/kg を投与しても血糖値には変化を示さなかった (Fig. 9)。具達も同様に正常マウスには血糖値変化の無い事を報告しており、甘減茶は健常マウスには作用しないので副作用の無い健康食品と成り得ると思われる。

結 語

甘減茶には次の特徴がある。

- 1) 体重減少抑制作用がある。
- 2) 白血球、リンパ球に一過性の増加が現れる。
- 3) 抗腫瘍効果がある。
- 4) 放射線防護効果がある。
- 5) INF- γ 、IL-4 活性化作用があり、免疫能活性化作用がある。
- 6) 血糖値上昇に対する抑制効果がある。
- 7) 健常マウスの血糖値に影響を及ぼさない。
- 8) 健常マウスには副作用を示さない。

謝 辞

フォローサイトメトリーによる INF- γ 、IL-4 の測定に際し、御協力を賜りました鈴鹿医療科学大学・東洋医学研究所の石田寅夫教授に感謝致します。また、動物実験では各項目の測定に御協力を賜りました鈴鹿医療科学大学・医療栄養学科、鈴木研究室の院生の皆様に感謝致します。

文 献

- 1) 柴田 進: 膵臓の内分泌機能検査法、臨床生

- 化学診断法. 金芳堂、p.p. 303-309 1972
- 2) 須田郁夫: 抗酸化機能・分光学的酸化機能評価、食品機能研究法. 篠原、鈴木、上野川編著. 光琳出版、p.p. 218-223 2000
 - 3) 仲川清隆、宮澤陽夫: 化学発光法による抗酸化機能の評価・ヒト血中過酸化脂質の定量法、食品機能研究法. 篠原、鈴木、上野川編著、光琳出版、p.p. 224-227 2000
 - 4) 渋谷和子: 細胞内サイトカインの検出、フローサイトメトリー自由自在、監修 中村啓光、細胞工学. 秀潤社、p.p. 75-85 1998
 - 5) Ananthan R, Baskar C, et al: Antidiabetic effect of *Gymnema montanum* leaves : Effect on lipid peroxidation induced oxidative stress in experimental diabetes. *Pharmacol Res*, **48**: 551-556 2003
 - 6) 矢ヶ崎一三、三浦 豊: 食品機能と抗がん作用. *臨床栄養*、**97(7)**: 831-839 2000
 - 7) 石橋健一、岡 瑞穂、他: グァバ茶 (蕃夾夾麗茶) とボグリボース (ベイスン) の食後過血糖抑制効果の比較検討. *プラクティス*、**21(4)**: 455-458 2004
 - 8) 田村豊幸、藤井 彰、他: 臨床薬理に関する研究 (第9報) 熊笹葉エキス (BLE) の抗疲労効果に関する研究. *薬理と治療*、**12(12)**: 5379-5383 1984
 - 9) 中村治雄: (虚血性心疾患の疫学と予防) 虚血性心疾患の一次予防 生活習慣と薬物. *動脈硬化予防*、**1(3)**: 56-61 2003
 - 10) 小谷麻由美、藤田晃人、他: ヒト好塩基球細胞及びマウスにおける柿の葉抽出物のアレルギー抑制効果. *日本栄養・食糧学会誌*、**52(3)**: 147-151 1999
 - 11) 具 然和、中村 敬、他: *Gymnema sylvestre* Br (甘減茶) に対する抗糖尿効果に関する研究. *医学と生物*、**148(6)**: 38-42 2004
 - 12) 杉原義享、野島浩史、他: ギムネマ葉含有成分、Gymnemic acid IV の血糖値下降作用. *和漢医薬学雑誌*、**14(4)**: 418-419 1998
 - 13) 吉岡伸一、井元敏明、他: ギムネマ・シルベスタ葉抽出物の抗糖尿病作用. ギムネマ酸の小腸糖吸収抑制作用. *和漢医薬学雑誌*、**13(4)**: 300-303 1997
 - 14) 一寸木宗一: 幾つかの漢方薬素材に関する基礎研究 (その2): 冬瓜 (トウガン) 粉末、金銀花 (スイカズラ) 粉末、セロリシード粉末の肥満抑制作用に関する生化学的研究. *神奈川県立栄養短期大学紀要*、**43**: 5-8 2002
 - 15) Francisca M, ReusIsabel S, et al: Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol induced oxidative stress in mouse liver. *Biol Pharmaceu Bull*, **26(10)**: 1398-1402 2003
 - 16) 松浦寿喜、吉川友佳子、他: 各種健康茶のラットにおける糖質吸収抑制作用. *薬学雑誌*、**124(4)**: 217-223 2004
 - 17) Hasebe Y, Egawa K, et al: Specific inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF)-1a activation and of vascular endothelial growth factor (VEGF) production by flavonoids. *Biol Pharmaceu Bull*, **26(10)**: 1379-1383 2003
 - 18) 久保山昇、藤井 彰、他: 薬物の毒性に関する研究 (第29報): 熊笹葉エキス (BLE) の急性毒性および亜悪性毒性. *薬理と治療*、**10(5)**: 2549-2563 1982
 - 19) 小林憲忠、倉本雄一郎、他: ルテイン・ゼアキサンチン含有食品の抗酸化作用に関する臨床試験. *新薬と臨床*、**53(7)**: 850-856 2004
 - 20) 倉本雄一郎、小林憲忠、他: 担癌マウスの生体防護機構におけるルテイン・ゼアキサンチン含有食品の影響に関する基礎的研究. *新薬と臨床*、**53(7)**: 836-849 2004
 - 21) Hall EJ: The oxygen effect and reoxygenation, *Radiobiology for the radiologist*, Fifth edition, Lippincott Williams Wilkins, 91-111 2000
 - 22) 宮嶋敬、吉田憲正、他: ポリフェノール: ポリフェノールによる疾患予防の可能性、ビタミン、**76(9)**: 417-419 2002
 - 23) Ardestani SK: The role of cytokines and chemokines on tumor progression: A review, *Cancer Detect. Prevent*, **23**: 215-225 1999
 - 24) Saito H: Enhancement of host resistance to

- bacterial and viral infections by *Lactobacillus casei*, Bifidobact Micro-flora. **7**: 1-18 1988
- 25) Stramentinoli G: Process for preparing adenosine derivatives of anti-inflammatory and analgesic activity, United State Patent., **4**: 373 97 1983
- 26) Katiyar SK, Agarwal R: Protection against N-nitrosodiethylamine and benzo(a) pyrene-induced forestomach and lung tumorigenesis in A/J mice by green tea. Carcinogenesis, **14**: 849-855 1993
- 27) Yamane T, Hagiwara N: Inhibition of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rat by green tea polyphenol fraction. Jpn J. Cancer Res. **82**: 1336-1339 1991
- 28) Narisawa T, Fukaura Y: Tea polyphenols in drinking water prevents N-methyl-N-nitrosourea induced colon carcinogenesis in F344 Rats. Jpn J Cancer Res **84**: 1007-1009 1993

連絡先：長谷川武夫、鈴鹿医療科学大学・大学院保健衛生学研究科、三重県鈴鹿市岸岡町 1001-1 (〒510-0293)

Enhancement of Physiological Activities after Taking a Mixed Tea (Kan Gen Cha)

Takeo HASEGAWA¹, Yeunhwa GU¹, Kayoko MAEDA¹,
Atsushi FUKUYAMA¹, Morikazu AMANO¹, Satoshi ANDO¹,
Katsuyuki MIYATA¹, Michihiro KUREKI¹, Tatsunori KOBAYASHI¹,
Toshifumi Yasuda¹, Tohru TAKAHASHI² and Mikio KOMORI³.

¹Department of Health Science, Graduate School of Suzuka University of Medical Science.

²Department of Radioisotope Center, Kansai Medical University.

³Department of Research Center, KOMORI Co.

Summary

Extracts of Tea have anti-tumor, anti-biotic, and anti-virus effects, and a mixed tea Komori Kan Gen Cha (KKGC) has become more widely known. In this study, we examined the effects of a KKGC extract on glucose tolerance test (GTT), radiation protection, immunological activity, and antitumor activity using C3H mice. The KKGC was composed of *Gymnema-Silvestre* (which inhibits the increase of blood sugar levels), *Lycii folium* (which has a stabilizing effect on blood pressure, and an improving activity of liver functions), Bamboo grass (which inhibits of acidosis, and also has antibacterial power), Guaba leaf (which inhibits of obesity, and stabilizes the action of the intestinal functions), and Persimmon leaf (which suppresses the blood pressure, and prevents action of arteriosclerosis). The extract was made by agitating it in hot water at 50 °C for 120 min and dried *in vacuo*. After administration of KKGC the numbers of WBC and Lymphocytes in the mice increased transiently. An anti-tumor effect and some NK cells activities were increased in the KKGC group mice. The blood sugar levels in glucose tolerance test were reduced in the KKGC group, and the KKGC prevented the increase in both sugar level and HbA1c values in long-term observation of diabetes db/db mice. The long-term administration of KKGC to normal mice showed no significant changes in blood sugar levels. These results show that KKGC has the effect of reducing blood sugar in diabetic mice but no effect in normal mice, and suggest that it has no side effect in normal mice. The KKGC also showed some effects of radiation protection, an increase in the immunological activities as demonstrated by some increases in cytokines using Flow cytometry, and an anti-cancer activity in the C3H mice bearing SCC-VII tumor. The data obtained may indicate that the KKGC has a useful effect to maintain health for sickly persons and recently discharged persons.

Key words: Tea extracts, Anti-cancer effect, Immunological activity, Radiation protection, Blood sugar level.

Address: Takeo HASEGAWA, ¹Department of Health Science, Graduate School of Suzuka University of Medical Science, 1001-1 Kishioka Suzuka City MIE 510-0293 JAPAN