本態性高血圧自然発症ラットにおける カキドオシ抽出物の血圧上昇抑制作用

渡辺敏郎[§], 川田あゆみ, 井上美保,
石原伸治, 辻 啓介*

ヤエガキ醱酵技術株式会社
*兵庫県立大学環境人間学部

Antihypertensive Effect of *Glechoma hederacea* Extract in Spontaneously Hypertensive Rats

Toshiro Watanabe[§], Ayumi Kawata, Miho Inoue,
Shinji Ishihara and Keisuke Tsuji*

Yaegaki Technology Development Laboratories,
Yaegaki Bio-industry, Inc., Hayashida,
Himeji, Hyogo 679-4298

* School of Human Science and Environment,
University of Hyogo, Shinzaikae-honcho,
Himeji, Hyogo 670-0092

We investigated the antihypertensive effect of *Glechoma hederacea* subsp. *grandis* extract on spontaneously hypertensive rats (SHR). Rat systolic blood pressure was measured by tail cuff method. SHR fed a *Glechoma* extract diet showed significantly ($p < 0.05$) lower blood pressure compared with a control group for 14-28 days. The *Glechoma* extract contained a large amount of potassium, and SHR in the *Glechoma* extract diet group showed a higher sodium excretion rate. It was assumed that lowered blood pressure was due to the high potassium concentration in the *Glechoma* extract, which stimulated the excretion of sodium. (Received Feb. 21, 2007 ; Accepted Jun. 18, 2007)

Keywords : *Glechoma hederacea* subsp. *grandis*, dietary fiber, potassium, antihypertensive effect, spontaneously hypertensive rats (SHR)

キーワード : カキドオシ, 食物繊維, カリウム, 血圧上昇抑制作用, 本態性高血圧自然発症ラット

カキドオシ (*Glechoma hederacea* subsp. *grandis*) は、東アジアを原産とするシソ科の多年草で、その全草を陰干ししたものが様々な機能性を有する生薬として古くから利用されてきた。主に煎じて飲用することが多く、胆汁分泌の促進や利尿作用等が伝えられている¹⁾²⁾。しかし、これまでにそれらの機能性について科学的に検証した例は数少なく、特に血圧に及ぼす影響については全く報告されていない。

これまでに血圧上昇抑制効果を示す食品素材にはアンジオテンシン変換酵素阻害作用により効果を示す酸乳³⁾やイ

ワシ⁴⁾等の食品タンパク質由来ペプチドや γ -アミノ酪酸を有効成分とする紅麹⁵⁾、キノコ⁶⁾、乳酸菌発酵物⁷⁾等が報告されている。本研究では、カキドオシの熱水抽出物が本態性高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響について検討した。

1. 実験方法

(1) カキドオシ抽出物の調製

カキドオシ全草の乾燥品は福田龍(株)(大阪)より入手した。このカキドオシ 5 kg に 50 l のイオン交換水を加え、90℃ に加熱し、1 時間熱水抽出した。抽出後、圧搾にて固液分離をおこない抽出液を得た。さらに抽出液を減圧濃縮および凍結乾燥して 1 kg のカキドオシ抽出物を得た。

(2) 成分分析

カキドオシ抽出物の総ポリフェノール含量は鈴木らの方法⁸⁾に準じて測定した。すなわち試料 1 g をジメチルスルホキシド (DMSO) で 100 ml に定容し、その液 50 μ l を試験管に採り、蒸留水 4 ml、フェノール試薬 (Folin-Ciocalteu) を水で 5 倍に希釈したもの、メルク製) 1 ml、10% (W/V) 炭酸ナトリウム溶液 1 ml を加え、1 時間後に比色定量 (波長 760 nm) した。総ポリフェノール含量はカテキン量に換算して表した。また個別のポリフェノールについては高速液体クロマトグラフ (HPLC, 島津 LC-20, 京都; カラム Inertsil ODS-3, 4.6 mm I.D. $\times$ 250 mm, ジーエルサイエンス, 東京) を用いて波長 280 nm にて成分を検出した⁹⁾。アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性および γ -アミノ酪酸 (GABA) 含量は既報⁶⁾⁷⁾に準じて測定した。

(3) 実験動物の飼育方法および試料組成

実験動物は星野試験動物飼育所 (埼玉県八潮市) から入手した 10 週齢の雄性本態性高血圧自然発症ラット (SHR) を用いた。飼育および保管に関しては総理府告示第 6 号 (昭和 55 年 3 月) の基準に沿っておこなった。試験は SHR の平均体重がなるべく同じになるように、対照群とカキドオシ抽出物群の 2 群 (各群 8 頭) に分けた。飼料の基本組成は Table 1 に示したように AIN 組成に基づき、血圧を上昇させるために食塩 1% を加えた。カキドオシ抽出物を 5% 添加し、ショ糖で 100% になるよう調整した。また、実験飼料の給餌期間以外は、市販の固形飼料 CE-2 (日本クレア, 大阪) を与えた。固形飼料で 7 日間飼育後、試験飼料に切り替え 28 日間飼育した。飲料水は蒸留水を用いて飼料とともに自由摂取とした。飼育室は、温度 23 $\pm$ 1℃, 照明は 12 時間おきに自動的に明暗 (7:00~19:00) に切り替わるように調整し、個別ケージで飼育した。

(4) 血圧測定方法

血圧は飼育初日および 7 日間ごと午前 9:00 より各群より 1 匹ずつアトランダムに選び、無加温型非観血式血圧計 Model MK-2000 (室町機械, 東京) を用いて、23℃ 以上の室温で尾動脈圧の収縮期および拡張期血圧を無麻酔下の間接 (カフ) 法により測定した。

〒679-4298 兵庫県姫路市林田町六九谷 681

* 〒670-0094 兵庫県姫路市新在家本町 1-1-12

[§] 連絡先 (Corresponding author), watnb-ts@yaegaki.co.jp

Table 1 Composition of tested diets

Constituents (%)	Control	<i>Glechoma</i> extract
Casein	22.0	22.0
Lard	10.0	10.0
Mineral mixture*	3.5	3.5
Vitamin mixture*	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Sodium chloride	1.0	1.0
Cellulose	3.0	3.0
<i>Glechoma</i> extract	—	5.0
Saccharose	59.3	54.3

Ten-week-old SHR (16 male) divided into 2 groups.

* AIN-93TM mixture.

(5) ナトリウムおよびカリウムの排泄率¹⁰⁾

試験 25 日目に個別の採尿ケージ (Tecniplast 製, ラット用メタボリックケージ) を用いて 24 時間尿を採尿し, 尿中および血中のナトリウム (Na) とカリウム (K) を電極式電解質分析装置 Easy (福山医科, 千葉) にて測定した. クレアチニン (CRE) は協和メデックス製のキット酵素法 (デタミナー L CRE) により定量し, Na 排泄率および K 排泄率を次式により算出した.

$$\text{Na排泄率(\%)} = (U_{\text{Na}} \times P_{\text{CRE}} / P_{\text{Na}} \times U_{\text{CRE}}) \times 100$$

U_{Na} : 尿中 Na (mmol/l)

P_{CRE} : 血中 CRE (mmol/l)

P_{Na} : 血中 Na (mmol/l)

U_{CRE} : 尿中 CRE (mmol/l)

$$\text{K排泄率(\%)} = (U_{\text{K}} \times P_{\text{CRE}} / P_{\text{K}} \times U_{\text{CRE}}) \times 100$$

U_{K} : 尿中 K (mmol/l)

P_{CRE} : 血中 CRE (mmol/l)

P_{K} : 血中 K (mmol/l)

U_{CRE} : 尿中 CRE (mmol/l)

(6) 統計処理

各群とも平均値±標準誤差 (SE) で示した. 群間の有意差検定には, 市販の統計解析ソフトウェア「SPSS ver. 12.0 J for Windows (エス・ピー・エス・エス, 東京)」を用いて *t*-検定をおこない, $p < 0.05$ を統計学的に有意と判定した.

2. 実験結果および考察

(1) カキドオシ抽出物の特徴

カキドオシ全草から熱水抽出により, 収率 20% のカキドオシ抽出物粉末品を得た. この粉末品の一般成分分析結果を Table 2 に示したが, 灰分が 15.3% と高く, 中でも K 含量が 6.6% と高値であった. このように K 含量が高いことから, カキドオシ抽出物を摂取すると Na 排泄作用を促し, 血圧上昇抑制作用を示す可能性が示唆された. また粉末品の総ポリフェノールは 5.61% で, その個別の成分を HPLC で調べると, シソ科の植物に特徴的に含まれるロスマリン酸, クロロゲン酸, カフェ酸, ルテオリンをそれ

Table 2 Component concentration in *Glechoma* extract

Contents (%)	<i>Glechoma</i> extract
Carbohydrate	59.1
Protein	5.3
Fat	0.8
Dietary fiber	16.1
Ash	15.3
Sodium	0.1
Potassium	6.6
Moisture	3.4
Total polyphenols	5.6

Values are means ($n=3$).

Fig. 1 Changes of systolic blood pressure in SHR fed on 1% NaCl diets supplemented with *Glechoma* extract

Results are expressed as mean±SE ($n=8$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control.

ぞれ 1.31, 0.78, 0.24, 0.03% 含有し, その他にルテオリン配糖体, フェルラ酸, クマル酸もわずかに検出された.

(2) SHR の血圧に及ぼす影響

カキドオシ抽出物を食餌成分として SHR に自由摂取させ 28 日間試験をおこなったところ, 対照群およびカキドオシ抽出物群ともに摂食量や体重変化に大きな差は認められなかった. 試験期間中の収縮期血圧の経時変化を Fig. 1 に示した. 対照群では経日的に血圧が上昇したのに対して, カキドオシ抽出物群もゆるやかに血圧が上昇したものの, 対照群に比べて試験 14 日後から 28 日後まで有意に上昇が抑制された. カキドオシ抽出物について, 一般的に血圧降下作用を示すことで知られる ACE 阻害活性や GABA の含有量を調べたが, ACE 阻害活性はほとんど認められず, GABA 含有量は 0.23 mg/100 g と少量であった. そのためカキドオシ抽出物の血圧上昇抑制作用は, これらの成分の関与は弱いと考えられた.

(3) ナトリウムおよびカリウム排泄効果

試験 25 日目に 24 時間尿を採尿し, Na および K 排泄率

Fig. 2 Analytical results of fractional excretion of Na (A) and K (B) in SHR fed on 1% NaCl diets supplemented with *Glechoma* extract

Results are expressed as mean ± SE (n=8). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control.

を算出した結果を Fig. 2 に示した。カキドオシ抽出物を摂取することで Na および K 排泄率ともに有意に増加した。Whelton ら¹¹⁾ はヒトの K 摂取 (75 nmol/day) で収縮期血圧が 3.11 mmHg 低下することを報告している。また Appel ら¹²⁾ はヒトの場合、野菜や果物の摂取を増やすことで K 摂取量が増え、収縮期および拡張期血圧がともに 2 mmHg 低下したことを報告している。SHR のカキドオシ抽出物を含む飼料の摂取量は 23.4 ± 0.3 g/day であり、1 日あたりの K 摂取量は約 775 mg (約 2 mmol/day) になる。カキドオシ抽出物の摂取における K 排泄率の向上は、カキドオシ抽出物の K 含量が高いためと推測された。一方、カキドオシ抽出物を摂取することで Na 排泄率も向上した。これはカキドオシ抽出物に含まれる K の摂取により SHR の Na 排泄作用を促し、その結果、血圧上昇が抑制されたと考えられる。辻ら¹³⁾ はラットでアルギン酸の K 塩に血圧降下作用があることを見出し、それは消化管内における Na と K のイオン交換反応による糞への Na 排泄促進効果であることを報告しており、それは糞と尿の違いがあるものの本研究の結果と一致する。

3. 要 約

カキドオシ抽出物が本態性高血圧自然発症ラット (SHR) への血圧上昇抑制に対してどのような影響を及ぼすかを検討した。カキドオシ全草から熱水抽出することで収率 20% のカキドオシ抽出物を得た。この抽出物には灰分が多く含まれ、特にカリウム (K) 含量が高かった。カキドオシ抽出物を飼料中へ 5% 添加し、28 日間 SHR に自由摂取させると、試験 14 日後から対照群に比べて有意に血圧の上昇を抑制した。24 時間尿を採尿し、ナトリウム (Na) および K 排泄率を算出したところ、カキドオシ抽出物を摂取することで Na および K 排泄率ともに有意に増加した。これはカキドオシ抽出物に含まれる K の摂取により SHR の Na 排泄効果を促したことで、血圧上昇抑制作用を示したものと

考えられた。

本研究は、平成 17 年度技術高度化研究開発支援助成事業「糖尿病および高血圧対策の機能を有するカキドオシエキスの開発」を受けて実施したものであり、ここに記して財団法人ひょうご科学技術協会に感謝いたします。

文 献

- 1) 田中孝治, 薬になる植物百科 (主婦と生活社, 東京), pp. 48 (1994).
- 2) 大須賀正美, 薬木薬草事典, (歴史春秋社, 東京), pp. 96 (1997).
- 3) Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S. and Takano, T., Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J. Dairy Sci.*, **78**, 777-783 (1995).
- 4) 関 英治, 川崎晃一, 吉田真弓, 篠島克裕, 玉屋 圭, 松井利郎, 篠島 豊, イワシタンパク質由来ペプチドならびに Valyl-Tyrosine の降圧作用—高血圧自然発症ラットに対する効果, 栄食誌, **52**, 271-277 (1999).
- 5) 辻 啓介, 市川富夫, 田辺伸和, 阿部土朗, 樽井庄一, 中川靖枝, 紅麹抽出物と γ -アミノ酪酸の高血圧自然発症ラットにおける血圧降下作用, 栄食誌, **50**, 285-291 (1992).
- 6) 渡辺敏郎, 山田貴子, 田中仁子, 姜 聖花, Mazumder Tapan Kumar, 永井史郎, 辻 啓介, 高血圧自然発症ラットにおける γ -アミノ酪酸蓄積アガリクス茸の血圧降下作用, 食科工, **49**, 166-173 (2002).
- 7) 渡辺敏郎, 今城小百合, 井上美保, Mazumder Tapan Kumar, 永井史郎, 辻 啓介, 段 武夫, 乳酸菌で醗酵させた γ -アミノ酪酸高含有大麦エキ스가血圧と血液流動性に及ぼす影響, 日本ヘモレオロジー学会誌, **7**, 39-43 (2004).
- 8) 鈴木 誠, 渡辺敏郎, 三浦麻子, 原島恵美子, 中川靖枝, 辻 啓介, Folin-Denis 法による総ポリフェノール量測定のための抽出溶媒の検討, 食科工, **49**, 507-511 (2002).
- 9) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一, 食品機能研究法 (光琳, 東京), pp. 320 (2000).
- 10) Sasaki, S., Yanagibori, R. and Amano, K., Validity of a self-administered diet history questionnaire for assessment of sodium and potassium. Comparison with single

- 24-hour urinary excretion. *Jpn. Circ. J.*, **62**, 431-435 (1998).
- 11) Whelton, P.K., He, J. Cutler, J.A., Brancati, F.L., Appel, L. J., Follmann, D. and Klag, M.J., Effects of oral potassium on blood pressure. *J. Am. Med. Assoc.*, **277**, 1624-1632 (1997).
- 12) Appel, L.J., Moore, T.J. Obarzanek, E., Vollmer, W.M., Svetkey, L.P., Sacks, F.M., Bray, G.A., Vogt, T.M., Cutler, J.A., Windhauser, M.M., Lin, P.H. and Karanja, N., A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *N. Engl. J. Med.*, **336**, 1117-1124 (1997).
- 13) 辻 啓介, 中川靖枝, 市川富夫, アルギン酸カリウムが高血圧自然発症ラットの血圧, ミネラル出納, 血清コレステロールレベルに及ぼす影響, 家政誌, **44**, 3-9 (1993).
- (平成 19 年 2 月 21 日受付, 平成 19 年 6 月 18 日受理)
-