

薬用人参サポニン ginsenoside のコレステロール 代謝改善作用について

富山医科薬科大学附属病院和漢診療部^{a)}

富山医科薬科大学和漢薬研究所臨床利用部門^{b)}

日生病院第3内科^{c)} 山之内製薬研究所^{d)}

*三瀧 忠道^{a)}・井澤 敬子^{b)}・横澤 隆子^{b)}

大浦 彦吉^{b)}・山本 昌弘^{c)}・川島 祐次^{d)}

Improving Effects of Ginseng Saponin on Cholesterol Metabolism in Rats

Tadamichi MITSUMA,^{a)} Keiko IZAWA,^{b)} Takako YOKOZAWA,^{b)}

Hikokichi OURA,^{b)} Masahiro YAMAMOTO,^{c)} Yuji KAWASHIMA^{d)}

Department of Wakan-Shinryo-Bu, Toyama Medical and Pharmaceutical University,^{a)}

Department of Biochemistry, Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and

Pharmaceutical University,^{b)} The 3rd Department of Internal Medicine, Nissei

Hospital,^{c)} Central Research Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.^{d)}

(Received March 15, 1984)

Improving effects of ginseng saponin on hyperlipemia due to a 1% cholesterol diet feeding to rats were examined. Among the ginsenosides tested, administration of the ginsenoside-Rb₂ and -Rc resulted a striking decrease in the LDL-cholesterol, total cholesterol, and free cholesterol in the serum. A significant decrease of triglyceride level in the serum was also observed by the intraperitoneal administration of these ginsenosides. On the contrary, the level of HDL-cholesterol was higher significantly in the ginsenoside-Rb₂ treated group as compared with the control group. In addition, decreases in the serum LDL-cholesterol, total cholesterol, and free cholesterol were observed by the 20R-prosapogenin treatment.

Keywords…… LDL-cholesterol; total cholesterol; free cholesterol; HDL-cholesterol; ginsenoside-Rb₂; ginsenoside-Rc; 20R-prosapogenin

緒 言

先に山本¹⁾, 東²⁻⁴⁾により薬用人参サポニンがラット肝でのコレステロール生合成を促進することが報告され, さらにコール酸及びその代謝産物のステロールの腸管からの排泄を促進することを明らかにし, コレステロールの turn over を高めることを見出した。また血中コレステロール, 中性脂肪 (TG) の低下から高脂血症改善作用を報告した。

次いで山本⁵⁾は, 長期コレステロール食飼育ラットに対する高麗人参粉末の影響を検討し, 血中総コレ

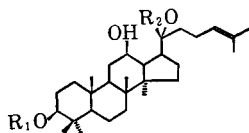
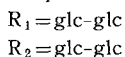
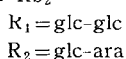
ステロール, TG, NEFA の低下, HDL-コレステロール, リン脂質の上昇, 血小板粘着能の低下等を報告している。

さらに糖尿病を中心とする高脂血症患者に高麗人参粉末を24ヶ月経口投与し, 総コレステロールの減少, HDL-コレステロールの上昇を認め, 動脈硬化指数

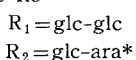
(註) HDL: High Density Lipoprotein, LDL: Low Density Lipoprotein, VLDL: Very Low Density Lipoprotein, LCAT: Lecithine Cholesterol Acyltransferase

* 富山市杉谷 2630
2630, Sugitani, Toyama, 930-01

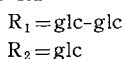
20 (S)-protopanaxadiol

Ginsenoside-Rb₁Ginsenoside-Rb₂

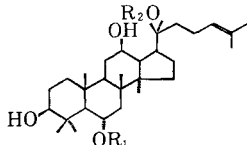
Ginsenoside-Rc



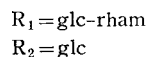
Ginsenoside-Rd



20 (S)-protopanaxatriol



Ginsenoside-Re

Ginsenoside-Rg₁glc: β -D-glucoseara: α -L-arabinopyranose

ara*:

 α -L-arabinofuranoserham: α -L-rhamnose

Chart 1 Structures of ginsenosides

(atherogenic index) の改善作用を報告している⁶⁾。

今回、著者らはこれらの薬用人参粉末による高脂血症、動脈硬化指数改善作用が、いかなるサポニンに起因するか否かを明らかにするため、分離精製した ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Re, -Rg₁ (chart 1) の 6 種サポニンを、血中脂質量に対する影響を検討した。

材料と方法

1) 動物

Wistar 系雄ラット (体重約 100 g) を用い、コレステロール (0.5~1.5%)、コール酸 (0.25~0.75%) 含有市販粉末飼料 (日本クレア製, CE-2) で、それぞれ 6 日間飼育した。

2) サポニン並びにプロサポゲニン

薬用人参 (*Panax ginseng* C. A. MEYER) 粉末から柴田らの方法⁷⁻⁹⁾ に従い、単離精製した ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Re, -Rg₁ を生理食塩水に溶解し実験に用いた。また prosapogenin は加来、川島の方法¹⁰⁾ に従い分離した 20 R-prosapogenin 及び 20 S-prosapogenin をプロピレングリコールに suspend し、実験に用いた。

3) 分析方法

血清中性脂肪, 総コレステロール,

遊離コレステロール, リン脂質はそれぞれ "TG-Five Kainos" (カイノス社製, 東京), "Cholesterol B-Test Wako" (和光純薬社製, 大阪), "PL-Kainos" (カイノス社製, 東京) を用いて比色定量した。HDL-コレステロール, LDL-コレステロールはヘパリン-Mn²⁺ を用いた野間らの方法^{11,12)} により分離精製し, コレステロールを比色定量した。超速心法によるリポ蛋白の分画は Havel らの方法¹³⁾ に従い, 比重の異なる塩濃度溶液に重層した血清を 29,000 rpm, 20 時間遠心分離し, 各フラクション (230 μ l) 中の脂質量を測定した。

結 果

Semi-purified ginsenoside 投与による血清脂質の変動

市販固型食飼育ラットを用いて ginsenoside-Rb₁, -Rb₂ 混合物 (Rb-M), -Rg₁, -Rg₂ 混合物 (Rg-M) および粗サポニン投与による血清脂質量の変化を検討した。まず, Rb-M および Rg-M 10 mg/rat を腹腔内に投与し, 経時の変化を追求した結果, 投与後 20 時間でも LDL-コレステロールの低下を認めたので, 3 日間連続 1 日 1 回 10 mg を投与した結果, Table I のごとく LDL-コレステロールは Rb-M 投与群で 47%, Rg-M 投与群で 75% と著明な低下作用が認められたが, HDL-コレステロール, 総コレステロール, 中性脂肪 (TG) はいずれも変動しなかった。

飼料中のコレステロール含量の血清脂質に及ぼす影響

市販飼料粉末にコレステロール (0.5%, 1.0%, 1.5%) およびコール酸 (0.25%, 0.5%, 0.75%) をそれぞれ添加した 3 種類の飼料を作製し, 6 日間この飼料で飼育し, 体重及び摂食量を測定した結果, Table II のごとくコレステロール 0.5%, 1.0% 群で

Table I Effect of semi-purified ginsenoside on serum lipids of rats fed on a laboratory pellet chow

	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)
Control	55.0 \pm 1.1 (100)	25.5 \pm 1.2 (100)	101.4 \pm 1.8 (100)	88.9 \pm 4.2 (100)
Rb ₁ , b ₂ mixture	55.2 \pm 2.3 (100)	12.0 \pm 3.4 (47)**	102.6 \pm 4.0 (101)	80.3 \pm 21.8 (90)
Rg ₁ , g ₂ mixture	54.2 \pm 1.7 (99)	19.2 \pm 1.0 (75)**	97.5 \pm 2.8 (96)	83.7 \pm 12.1 (94)

10 mg/rat in saline, i.p., 3 times

** p<0.01

は体重増加及び摂食量は対照群（コレステロール無添加群）に比し有意な変化は認められなかったが、1.5%群では体重増加率は有意に低下し、摂食量も減少傾向を示し、下痢を伴うことが観察された。

また、各群の血清脂質成分は Table III のごとく、HDL-コレステロールは有意に減少し、逆に LDL-コ

レステロール、総コレステロール、遊離コレステロールはいずれも著明に増加した。特に LDL-コレステロールは 0.5%群で 5.4 倍、1.0%群で 10.8 倍、1.5%群で 15 倍と激増することを認めた。以上の実験結果から 1%コレステロール、0.5% コール酸含有飼料を用いて以下の実験を行った。

Semi-purified ginsenoside 投与による 1%コレステロール食ラットの血清脂質に及ぼす影響

先の市販固型食ラットと同様に Rb-M 及び Rg-M を 1%コレステロール食ラットに 3 日間連続 1 日 1 回 10 mg を腹腔内投与した結果、Table IV のごとく Rb-M 投与群で著明な高コレステロール血症改善作用が認められた。すなわち、LDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールはそれぞれ 41%、29%、45% の有意な減少が観察され、逆に HDL-コレステロールは 30% 増加した。しかし TG 値には変化は認められなかった。他方、Rg-M 群ではいずれも有意差は認められなかった。

各種 ginsenoside の 1%コレステロール食ラットの血清脂質に及ぼす影響

単離精製した Rb₁、Rb₂、Rc、Rd、Re および Rg₁ を

Table II Body weight and food intake of rats fed on diets containing various cholesterol levels

Cholesterol level (%)	Change in body weight (g/6 days)	Food intake (g/day)
0	54.0±1.4 (100)	15.8±0.9 (100)
0.5	49.6±1.5 (92)	14.0±1.1 (89)
1.0	48.0±1.1 (89)	14.8±1.5 (94)
1.5	38.6±1.7 ^{***} (71)	12.2±1.6 (77)

*** p<0.001

Table III Serum lipids of rats fed on diets containing various cholesterol levels

Cholesterol level (%)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	TC (mg/dl)	FC (mg/dl)
0	65.9±3.2 (100)	26.5± 2.7 (100)	110.4± 3.4 (100)	14.8± 1.0 (100)
0.5	39.5±2.6 ^{***} (60)	143.5± 9.9 ^{***} (542)	216.9±11.5 ^{***} (196)	38.9± 3.2 ^{***} (263)
1.0	33.9±1.6 ^{***} (51)	287.5±14.1 ^{***} (1085)	375.1±17.4 ^{***} (340)	65.6± 7.5 ^{***} (443)
1.5	27.6±1.1 ^{***} (42)	397.0±26.6 ^{***} (1498)	484.3±32.8 ^{***} (439)	93.0±13.2 ^{***} (628)

** p<0.01, *** p<0.001.

Table IV Effect of semi-purified ginsenoside on serum lipids of rats fed on a 1.0% cholesterol diet

	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	TC (mg/dl)	FC (mg/dl)	TG (mg/dl)
Control	41.7±1.3 (100)	235.8±18.2 (100)	309.8±12.5 (100)	75.7±5.4 (100)	52.9±6.0 (100)
Rb _{1,2} mixture	54.1±2.0 ^{***} (130)	138.0±14.9 ^{**} (59)	219.4±11.1 ^{***} (71)	41.8±3.8 ^{***} (55)	53.4±8.9 (101)
Rg _{1,2} mixture	46.7±3.4 (112)	227.0±13.6 (96)	299.4±13.2 (97)	62.4±2.6 (82)	57.4±8.1 (109)

10 mg/rat/day in saline, i.p., 3 times

** p<0.01, *** p<0.001

Table V Effect of each ginsenoside on serum lipids of rats fed on a 1.0% cholesterol diet

	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	TC (mg/dl)	FC (mg/dl)	TG (mg/dl)
Control	37.5±2.7 (100)	215.4±23.1 (100)	289.3±25.3 (100)	67.3±6.6 (100)	72.3±3.6 (100)
Rb ₁	43.2±1.4 (115)	179.4±15.4 (83)	264.8±19.2 (92)	62.8±6.8 (93)	67.1±6.9 (93)
Rb ₂	45.3±1.6* (121)	113.1±16.6** (53)	183.8±18.7** (64)	35.7±4.7** (53)	51.5±5.7* (71)
Rc	34.1±2.1 (91)	107.9±23.5** (50)	184.9±25.6* (64)	37.7±7.4** (56)	49.7±7.3* (69)
Rd	33.4±2.5 (89)	177.0±25.6 (82)	240.4±26.6 (83)	51.9±7.4 (77)	64.5±4.5 (89)
Re	32.9±1.7 (88)	188.9±11.2 (88)	268.4±13.6 (93)	59.6±3.0 (89)	58.8±7.6 (81)
Rg ₁	32.8±4.1 (88)	238.6±16.1 (111)	350.6±18.3* (121)	76.7±5.3 (114)	56.0±5.7 (77)

10 mg/rat/day in saline, i.p., 3 times

* p<0.05. ** p<0.01

3日間1日1回10mgを腹腔内投与した結果、Table VのごとくRb₂、RcはLDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールをいずれも同程度に著明に低下させ、さらにTGの有意な低下作用も観察された。しかしHDL-コレステロールについてはRb₂のみに有意な増加が認められた。これらの実験結果から、先のRb-MによるHDL-コレステロールの増加作用は、主としてRb₂に起因するものと考えられるが、Rb₁にも15%の増加が見られた。

また、RdはLDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールに低下傾向を示したが、有意差は認められなかった。さらにRg₁については先のRg-M同様、コレステロール低下作用は認められなかったが、TGのみ低下傾向を示した。

Ginsenoside-Rb₂の血清リポ蛋白に対する影響

前述のごとく、Rb₂投与によりHDL-コレステロールの増加、LDL-コレステロールの低下作用が沈澱法で明らかとなったので、さらに血清リポ蛋白を超速心分離法により追求した。

その結果、Fig. 1のごとく、5日間1%コレステロール食飼育ラットの血清リポ蛋白パターンは、Normal群に比しHDL-コレステロールのピークは45%の減少を示し、LDL-コレステロール画分はNormal群に見られたピークは消失し、より低比重画分に移行しているパターンが得られた。

次にRb₂ 7.5 mg/rat 1日1回、3日間連続腹腔内投与し、Control群 (saline投与群)と比較した結果、

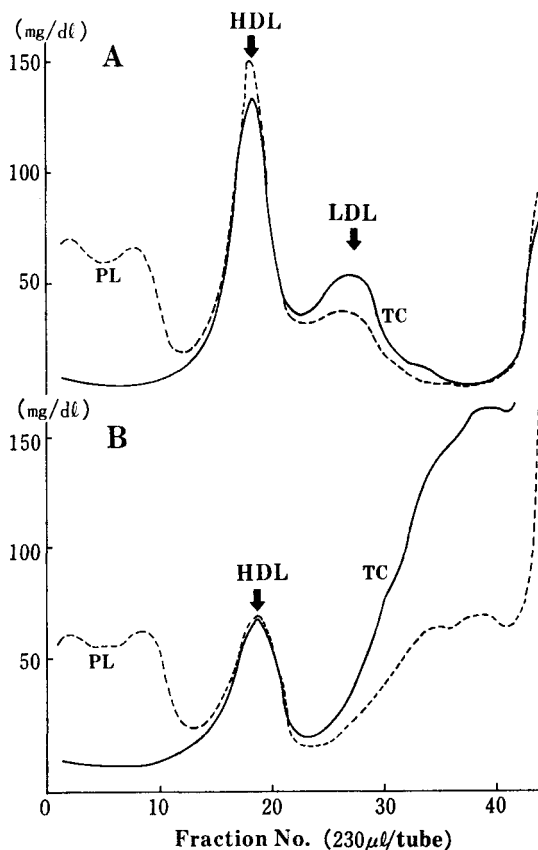


Fig. 1 Ultracentrifugation pattern of lipoprotein in rats fed on a 1.0% cholesterol diet for 5 days (TC: Total cholesterol, PL: Phospholipid)

Fig. 2のごとく、Rb₂投与群はControl群に比し、HDL-コレステロールのピークは45%の増加を示したが、LDL-画分と考えられるコレステロールは減少する結果が得られた。このことは、先にTable Vで示された沈澱法によるHDL-コレステロールの増加作用よりも高い値を示し、Rb₂の高脂血症の改善並びに抗

動脈硬化作用を再確認した。

Prosapogenin の1%コレステロール食ラットの血清脂質に及ぼす影響

ginsenoside-Rb₂, -Rcに高脂血症改善作用が認められたので、その活性が20位に糖鎖のないprosapogeninに起因するか否かを検討するため20R-prosapogenin及び20S-prosapogenin (Chart 2)を用いて追求した。その結果、10 mg/rat 1日1回、3日間連続腹腔内投与によりTable VIのごとく20R-prosapogeninはLDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールを著しく低下させることが判明した。他方、20S-prosapogeninはTGを除いていずれも有意差を示さなかった。しかしHDL-コレステロールに対しては20R-, 20S-prosapogeninのいずれも有意な変動を認めなかったが、20S-prosapogeninは低下傾向を示した。以上の実験結果は、prosapogeninをsuspensionの状態で投与しているの、さらに投与方法について今後検討を加えたい。

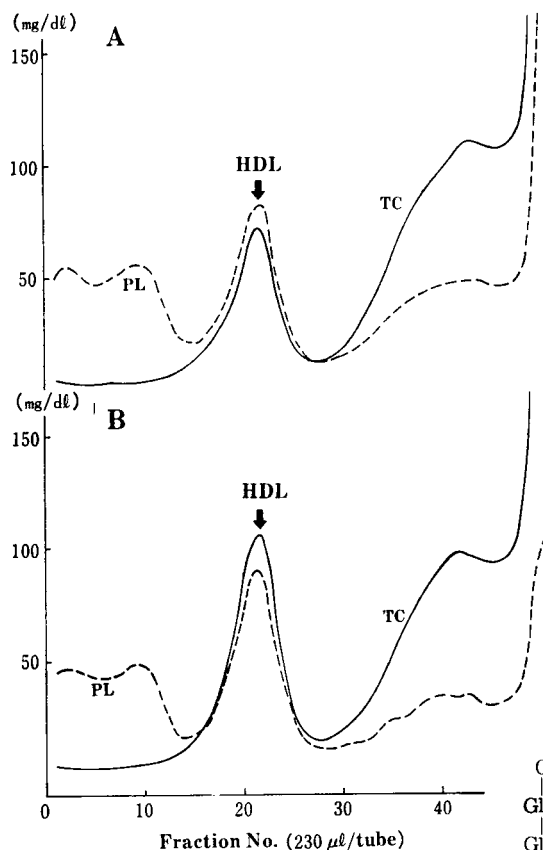


Fig. 2 Ultracentrifugation pattern of lipoprotein in rats of the ginsenoside-Rb₂ treated group (TC: Total cholesterol, PL: Phospholipid)

考 察

カイロマイクロンとVLDLが、TG-richリポ蛋白として、ともにエネルギー代謝に関与したり蛋白で

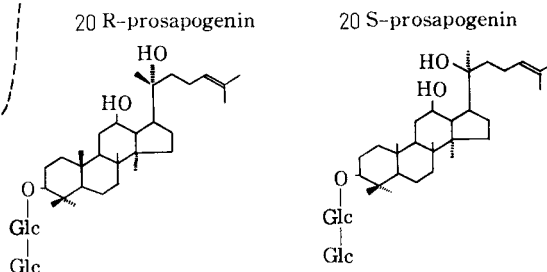


Chart 2 Structures of prosapogenin

Table VI Effect of prosapogenin on serum lipids of rats fed on a 1.0% cholesterol diet

	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	TC (mg/dl)	FC (mg/dl)	TG (mg/dl)
Control	33.7 ± 4.1 (100)	228.4 ± 21.7 (100)	324.4 ± 20.3 (100)	69.0 ± 5.0 (100)	59.2 ± 3.2 (100)
20 R-prosapogenin	30.4 ± 2.1 (90)	114.4 ± 8.7** (50)	186.0 ± 10.9*** (57)	44.2 ± 2.7** (64)	71.5 ± 2.3* (121)
20 S-prosapogenin	26.9 ± 1.1 (80)	210.6 ± 18.9 (92)	294.0 ± 21.4 (91)	62.6 ± 5.0 (91)	47.8 ± 2.7* (81)

10 mg/rat/day in 80% propylene glycol, i.p., 3 times

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

あるのに対して、LDLとHDLは、いずれもコレステロール代謝に関与したリポ蛋白であると考えられている。LDLはVLDLから肝で生成され、体内の諸細胞にコレステロールを供給するのに対し、HDLは逆に諸細胞からコレステロールを除去し、これを肝に運び、異化排泄すると考えられている。それ故に、動脈硬化に対しては、LDLはatherogenicに働き、HDLはanti-atherogenicに働いていると考えられている¹⁴⁾。

先に共同研究者の山本らは、人参サポニンによるコレステロールのturn overの促進、高脂血症の改善を報告し、さらにヒトに高麗人参粉末投与することにより血中総コレステロール、TGの減少、HDL-コレステロールの増加を認めている^{1,5,6)}。

今回、著者らは単離精製した6種人参サポニンのうち、Rb₂及びRcにLDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールの著明な減少とTGの有意な低下作用を見出した。しかしHDL-コレステロールについては、Rb₂のみに沈澱法で上昇作用が認められた。この傾向は超遠心分離法においても再確認することが出来、anti-atherogenic actionを認めた。

さらに最近、横澤らは1%コレステロール食飼育ラットのVLDLに対するRb₂連続投与の作用を検討した結果、VLDL画分中のコレステロール及びTGがいずれも著明に減少することを見出ししている(未発表データ)。

以上の結果から、Rb₂はHDL-コレステロールの増加、LDL-コレステロールの低下、VLDL-コレステロールの低下作用を有することが明らかとなり、各組織細胞へのコレステロールの供給を抑制し、逆に組織細胞からのコレステロールの除去を促進し、肝における異化作用を亢進しているものと考えられる。

このことは先の山本らによって見いだされた糞便中への¹⁴C-胆汁酸やステロールの排泄が人参サポニンによって著明に増加し、コレステロールの分解、排泄を促進している結果を今回の実験により裏付けたものと考えられる。しかしHDL-コレステロールのうち、scavenger活性の強いHDL₃とHDL₂の量的関係やLCAT活性、アポ蛋白A-I等について、今後さらに抗動脈硬化作用機序解明の観点から、検討しなければならない。

他方、サポニンの活性部位を究明するため、糖鎖の一部を欠くprosapogeninについて検討し、20R-prosapogeninにLDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールの著明な低下作用を見出したことは、genin部分にコレステロール代謝を改善

する作用の存在することを示唆するものである。サポニン中のgenin部分に生理活性の存在することについては、すでにグリチルリチン¹⁵⁾、柴胡サポニン¹⁶⁾などで認められており、人参サポニンの場合も同様な結果が得られたことは、興味ある事実である。

結 論

薬用人参サポニンを高コレステロール食飼育高脂血症ラットに投与し、血中脂質量に及ぼす影響を検討した。その結果、ginsenoside-Rb₂、-Rc投与群において、LDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールの著明な減少と中性脂肪の低下作用を認め、またHDL-コレステロールについてはRb₂投与群に有意な増加作用を認めた。さらにLDL-コレステロール、総コレステロール、遊離コレステロールの著明な低下作用は、20R-prosapogeninにおいても観察された。

文 献

- 1) 山本昌弘, 林 良明, 熊谷 朗: 和漢薬シンポジウム, 10, 90-92, 1977
- 2) Sakakibara, K., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S. and Shoji, J.: *Chem. Pharm. Bull.* 23, 1009-1016, 1975
- 3) Gommori .K., Miyamoto, F., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S. and Shoji, J.: *Chem. Pharm. Bull.* 24, 2985-2987, 1976
- 4) Ikehara, M., Shibata, Y., Higashi, T., Sanada, S. and Shoji, J.: *Chem. Pharm. Bull.* 26, 2844-2849, 1978
- 5) 山本昌弘, 植村泰三, 上宮正直, 原 秀樹, 柳生直子, 出口 均, 三木善次, 小山高澄: 和漢薬シンポジウム 14, 117-120, 1981
- 6) 山本昌弘, 植村泰三, 中間 慧, 上宮正直, 熊谷朗, 田村 泰, 牧野英一, 斉藤 康: 和漢薬シンポジウム 16, 188-191, 1983
- 7) Nagai, Y., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Tetrahedron* 27, 881-892, 1971
- 8) Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Chem. Pharm. Bull.* 22, 421-428, 1974
- 9) Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Chem. Pharm. Bull.* 22, 2407-2412, 1974
- 10) Kaku, T. and Kawashima, Y.: *Arzneim.*

- Forsch.* **30**, 936-943, 1980
- 11) Noma, A., Nezu-Nakayama, K., Kita, M. and Okabe, H.: *Clin. Chem.* **24**, 1504-1508, 1978
- 12) Noma, A., Okabe, H., Nezu-Nakayama, K., Ueno, Y. and Shinohara, H.: *Clin. Chem.* **25**, 1480-1481, 1979
- 13) Havel, R. J., Eder, H.A. and Bragdon, J. H.: *J.Clin. Invest.* **34**, 1345-1353, 1955
- 14) 中谷矩章: 治療 **62**, 1897-1902, 1980
- 15) 田村 泰: 日内分泌会誌 **51**, 589-600, 1975
- 16) Yokoyama, H., Hiai, S. and Oura, H.: *Chem. Pharm. Bull.* **29**, 500-504, 1981