

ローヤルゼリーの摂取がラット消化管組織に与える影響

稲垣明子, 山中なつみ, 小川宣子

岐阜女子大学家政学部家政学科管理栄養士専攻

(2003年9月11日受理)

Effect of Intake of Royal Jelly on the Digestive Tract of Rats

Department of Nutrition and Food Science, Faculty of Home Economics,
Gifu Women's University, 80 Taromaru, Gifu, Japan (〒501 - 2592)

INAGAKI Akiko, YAMANAKA Natsumi and OGAWA Noriko

(Received September 11, 2003)

I. 緒言

ローヤルゼリーはミツバチの唾液腺から分泌される物質¹⁾で、高血圧症²⁾や糖尿病³⁾などの病気の予防や治療、健康維持に対する効果が期待され、健康食品や医薬品として広く利用されている。ローヤルゼリーには8種類の必須アミノ酸を含む14種のアミノ酸やビタミン類、カルシウムやマグネシウムなどのミネラル、さらに他の食品には存在しないカルボン酸の一種であるデセン酸(10-ヒドロキシ- δ -2-デセン酸)や唾液腺ホルモンの類パロチン、そしてタンパク質であるロイヤルシンやアピシンなどを含む⁴⁾。ローヤルゼリーに含まれるデセン酸は抗菌作用を示し⁵⁾、類パロチンはインスリンと似た構造と機能を持つ物質で血糖値低下作用や細胞増殖促進作用を持つ⁶⁾。タンパク質のロイヤルシンにはグラム陽性菌に対する抗菌作用があり⁷⁾、アピシンにはヒトの培養細胞などに対して増殖促進作用を示すことが分かっている⁷⁾。

ローヤルゼリーの作用については、培養脂肪細胞芽細胞の分化を促進する作用⁸⁾や抗菌作用⁹⁾、各種癌細胞に対する増殖抑制作用¹⁰⁾

などが生体外の実験で明らかになっている他、生体位の実験では血流量の増加および血圧降下作用、成長促進作用¹¹⁾、血清コレステロールおよび血中脂質低下作用¹²⁾など、数々の作用が明らかになっている。

しかし、ローヤルゼリーの消化管に対する作用は生体外でも生体位の実験でも調べられていない。消化管は栄養素の消化・吸収を担う器官であり、その機能の低下は我々の体の維持・成長に大きな影響を及ぼすと考えられる。特に消化管粘膜は消化・吸収機能に重要な影響をあたえる部分で、上皮細胞の増殖が低下し粘膜量が減少すると潰瘍が起きるなど、消化・吸収機能が低下することが予想される。反対に、上皮細胞の増殖が正常ならば、消化管の機能は正常に保たれる。ローヤルゼリーの数々の効用を期待して摂取する場合には、ほとんどが経口による摂取であると考えられる。

そこで、本研究ではローヤルゼリーを経口摂取させた時に、消化管組織の形態と粘膜上皮細胞の増殖が変化するのかを調べることを目的とした。

II. 実験方法

1. 飼料

飼料組成を表1に示した。対照飼料にはAIN 93飼料を用い、ローヤルゼリー添加飼料(RJ添加飼料)には対照飼料に乾燥ローヤルゼリー(株)秋田屋製)を1%添加した。ローヤルゼリーの主成分が、タンパク質37.5%, 炭水化物31.3%であることから(表2), 対照飼料のカゼイン0.55%とシュークロース0.45%とを乾燥ローヤルゼリー1%で置換した。

表1 飼料組成¹⁾ (%)

原料	対照飼料	RJ 添加飼料
α - コーンスターチ	13.2	13.2
β - コーンスターチ	39.7	39.7
乾燥ローヤルゼリー ²⁾	0.0	1.0
シュークロース	10.0	9.55
カゼイン	20.0	19.45
セルロースパウダー	5.0	5.0
L - シスチン	0.3	0.3
大豆油	7.0	7.0
ミネラル混合	3.5	3.5
ビタミン混合	1.0	1.0
重酒石酸ナトリウム	0.3	0.3
第三ブチルヒドロキノン	0.0014	0.0014
合計	100.0	100.0

¹⁾飼料はAIN 93文献配合飼料にもとづいて調製した。

²⁾RJ添加飼料は乾燥ローヤルゼリー中に含まれるタンパク質と糖質を対照飼料中のカゼインとシュークロースに置き換えて調製した。

表2 乾燥ローヤルゼリーの一般分析結果¹⁾

成分	組成 (%)
蛋白質	37.5
炭水化物	31.3
粗脂肪	8
灰分	3
水分	3.2
デセン酸	5.7
その他	11.3

¹⁾(株)秋田屋の分析結果による。

2. 実験動物および飼育条件

5週齢のWistar系雄ラット(日本チャールス・リバー(株))に一般飼育用粉末飼料(マウス・ラット・ハムスター用MF, オリエンタル酵母(株))を与えて3日間予備飼育した後, 平均体重がほぼ一致するように, 対照区とローヤルゼリー区の5匹ずつ2群に分けた。飼育は個別式ステンレスケージにラットを1匹ずつ入れて, 室温24℃, 湿度60%の飼育室内で, 12時間の明暗交代(明期8:00~20:00)の環境下で行った。飼料と水は自由摂取とした。

予備飼育後, 各飼料区にそれぞれ試験飼料を28日間摂取させた。

3. 測定項目および測定方法

(1) 体重および飼料摂取量

体重は週1回, 飼料摂取量は2または3日分をまとめて週3回, いずれも9:00に測定を行った。

(2) 空体重と消化管組織の重量

試験開始28日目の10:00に, ネンブータル(50mg/mL)を1mL/匹投与してラットを屠殺し, 正中線で開腹し, 胃から直腸までの消化管組織を取り出して, 10%緩衝ホルマリンで固定した。

消化管組織を取り出した後に屠体の重量を測定し, これを空体重とした。

固定した組織を胃, 小腸, 盲腸, 結腸に分離して, 組織の周りについている腸間膜や脂肪を取り除いた。組織から内容物を取り除き, ろ紙で水分を拭き取った後, 組織重量を測定した。

(3) 小腸および結腸組織における粘膜, 粘膜下層, 筋層の重量

組織重量を測定した後, 小腸組織からは回腸 盲腸接合部より口側5cmの部分, 結腸組織からは遠位結腸の中央部分を幅約5mmに

管状に切り出した。切り出した組織をパラフィンで包埋した後、マイクロトームで5 μ mの横断切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色をした。染色標本の画像を光学顕微鏡(PC-81X, 稲畑産業(株))で撮影し、コンピュータ(Personal Computer 300GL, IBM)に取り込み、画像処理ソフト(Photoshop Version 5, Adobe)を用いて、粘膜と粘膜下層、筋層それぞれのピクセル数を求めた。ピクセル数の比から各層の断面積比を求めた¹³⁾。この面積比に小腸または結腸の組織重量を乗じて粘膜、粘膜下層および筋層の各重量を求めた。

(4) 小腸と結腸粘膜上皮における増殖細胞数

(3)と同様の方法で小腸と結腸の切片を用意し、PCNA染色法(Proliferation Cell Nuclear Antigen)により、増殖周期にある粘膜上皮細胞を染色した¹⁴⁾。

染色標本を光学顕微鏡で観察し、陰窩一側断面中の上皮細胞の陽性細胞と陰性細胞の数を計測し、陰窩一側断面中の上皮細胞数に占める増殖細胞の割合を以下の式に当てはめて算出した。

$$\begin{aligned} & \text{増殖細胞の割合}(\%) \\ &= \text{陰窩一側断面中の陽性細胞}(\text{個}) \\ & \div (\text{陰窩一側断面中の陽性細胞} \\ & + \text{陰窩一側断面中の陰性細胞}(\text{個})) \\ & \times 100 \end{aligned}$$

4. 統計処理

飼料摂取量については飼料へのローヤルゼリー添加の有無と飼育期間(週)を要因とする2元の分散分析を行い、体重、空体重、組織重量、粘膜、粘膜下層、筋層の重量、増殖細胞の割合については飼料へのローヤルゼリー添加の有無を要因とするt検定を行った。なお、危険率が5%以下の時、有意であると判断した。

III. 実験結果

1. 飼料摂取量, 体重, 空体重

飼料摂取量は飼育期間による影響がみられ、飼育日数が経過するに従って摂取量が増加したが($p < 0.05$)、飼料へのローヤルゼリー添加の有無による違いはなかった(表3)。

試験終了時の体重はローヤルゼリー区(339.5 \pm 8.3g)と対照区(339.8 \pm 11.6g)で、飼料区間に有意な差はなかった(表4)。

空体重についてもローヤルゼリー区(281.1 \pm 8.3g)と対照区(284.8 \pm 6.3g)との間にも違いはなかった(表4)。

以上の結果よりローヤルゼリーの飼料への添加がラットの飼料摂取量に影響を与えず、また、ローヤルゼリーの摂取によるラットの体重や空体重への影響も無いことが分かった。

表3 実験期間中の飼料摂取量
(g / 7日間)

実験区	飼育期間(週間)			
	1	2	3	4
対照	119.0 ¹⁾	131.3	145.6	141.9
ローヤルゼリー	120.9	134.2	147.7	147.7

2元の分散分析の要因
ローヤルゼリー摂取の有無 n.s²⁾
飼育期間 $p < 0.05$ 1 < 2 < 4 = 3
実験区 \times 飼育期間 n.s

¹⁾値は平均値で表した(n=5)。

²⁾n.s: 有意差なし

表4 ローヤルゼリーの摂取がラットの
体重および空体重に与える影響
(g)

実験区	体重	空体重
対照	339.8 \pm 11.6 ¹⁾	284.8 \pm 6.3
ローヤルゼリー	339.5 \pm 8.3	281.1 \pm 8.3
t検定	n.s ²⁾	n.s

¹⁾値は平均値 \pm 標準偏差で表した(n=5)。

²⁾n.s: 有意差なし

表5 ラットの消化管組織重量

(g)

実験区	部位			
	胃	小腸	盲腸	結腸
対照	1.24±0.11 ¹⁾	3.17±0.35	0.55±0.15	0.65±0.16
ローヤルゼリー	1.29±0.09	3.59±0.19	0.60±0.21	0.58±0.12
t検定	n.s. ²⁾	n.s.	n.s.	n.s.

¹⁾値は平均値±標準偏差で表した(n=5)

²⁾n.s.:有意差なし

表6 ラット小腸における粘膜, 粘膜下層, 筋層の重量

(g)

実験区	組織		
	粘膜	粘膜下層	筋層
対照	2.30±0.48 ¹⁾	0.36±0.32	0.52±0.10
ローヤルゼリー	2.35±0.16	0.35±0.06	0.70±0.11
t検定	n.s. ²⁾	n.s.	n.s.

¹⁾値は平均値±標準偏差で表した(n=5)

²⁾n.s.:有意差なし

表7 ラット結腸における粘膜, 粘膜下層, 筋層の重量

(g)

実験区	組織		
	粘膜	粘膜下層	筋層
対照	0.36±0.08 ¹⁾	0.13±0.02	0.16±0.07
ローヤルゼリー	0.27±0.12	0.16±0.03	0.15±0.08
t検定	n.s. ²⁾	n.s.	n.s.

¹⁾値は平均値±標準偏差で表した(n=5)

²⁾n.s.:有意差なし

2. 組織重量

胃, 小腸, 盲腸, 結腸の各組織重量を表5に示した。いずれの部位においてもローヤルゼリー区と対照区間の組織重量に有意な差はなかった。

小腸と結腸組織の粘膜, 粘膜下層, 筋層の重量にもローヤルゼリー区と対照区の間には違いはみられなかった(表6, 表7)。

以上の結果より, ローヤルゼリーの摂取は消化管組織の重量や各層(粘膜, 粘膜下層, 筋層)の重量に影響を与えないということが分かった。

3. 粘膜上皮における増殖細胞の割合

小腸での粘膜上皮における増殖細胞の割合

はローヤルゼリー区で34.2%, 対照区で32.6%となり, 有意な違いはなかった。

結腸においても, ローヤルゼリー区11.7%, 対照区12.7%となり, 小腸粘膜上皮と同様にローヤルゼリーの摂取による影響はなかった(表8)。

表8 ラット小腸および結腸粘膜における増殖細胞割合 (%)

実験区	部位	
	小腸	結腸
対照	32.6±8.1 ¹⁾	12.7±3.7
ローヤルゼリー	34.2±6.3	11.7±2.8
t検定	n.s. ²⁾	n.s.

¹⁾値は平均値±標準偏差で表した(n=5)

²⁾n.s.:有意差なし

IV. 考察

ローヤルゼリーの経口摂取により飼料摂取量, 体重, 空体重および消化管の組織重量と粘膜上皮における増殖細胞の割合に影響はみられなかった。これらの結果は, ローヤルゼリーが生体に害を及ぼすことのない安全な物質であるということを示す結果であったと考える。

今回実験に用いたラットは健康な状態であり, 消化管粘膜の上皮細胞の増殖が正常に行われ, 消化管組織の構造が個体の消化・吸収機能を維持するのに十分な状態だったため, ローヤルゼリーの摂取による消化管組織への影響が現れなかったと考える。

ローヤルゼリーは表皮の創傷治癒促進作用があることから⁹⁾, 同じ上皮細胞から成る消化管粘膜の傷害に対しても効果がある可能性がある。今後は消化管に炎症や潰瘍を起こした状態でローヤルゼリーを摂取した場合に, 消化管に対する影響をしらべ, ローヤルゼリーが損傷した消化管粘膜の構造を回復する作用があるかどうかを検討することが望まれる。

乾燥ローヤルゼリーを提供下さいました
(株)秋田屋本店に深く感謝いたします。

IV. 参考文献

- 1) 石黒伊三雄, 内藤純子: 岐阜薬科大紀要. 13, 27 - 31 (1968)
- 2) 米倉政実: ミツバチ科学. 19, 15 - 22 (1998)
- 3) 伊藤機一: *Med. Technol.* 8, 1252 - 1256 (1980)
- 4) 藤井彰: ミツバチ科学. 16, 97 - 104 (1995)
- 5) Sauerwald N, Polater J, Nissen L, Vogelr F: *Adv Food Sci.* 20, 46 - 52 (1998)
- 6) 石坂茂昭, 辻井正, 小林正雄, 奈良良雄: 日本唾液学会誌. 35, 45 - 46 (1994)
- 7) 米倉政実: *New Food Ind.* 41, 1 - 8 (1994)
- 8) 藤井彰: 第74回薬理学会関東支部会. 15 (1986)
- 9) 篠田雅人: 薬理雑誌. 98, 139 - 145 (1995)
- 10) 田村豊之, 越後健: 日本薬理学雑誌. 89, 73 - 80 (1986)
- 11) 石黒伊三雄: 薬理学研究. 37, 132 - 140 (1988)
- 12) Fujii Akira: *Honeybee Science.* 16, 97 - 104 (1995)
- 13) 大場君枝, 稲垣明子, 山中なつみ, 小川宣子「消化管組織における構造変化の評価」: 岐阜女子大学紀要. 33 (印刷中)
- 14) 村上知之, 木村由香, 小賀厚徳, 辻龍雄, 佐々木功典: 臨床検査. 39, 122 - 126 (1995)