

〈原著〉

スイカエキス飲料がイヌの血清および尿成分に及ぼす効果

宮井 紗弥香¹⁾、橋詰 利治²⁾、岡崎 登志夫¹⁾

Effects of watermelon extract-beverage on canine serum and urine

Sayaka Miyai¹⁾, Toshiharu Hashizume²⁾ and Toshio Okazaki¹⁾

Summary We previously reported that watermelon extract (WM) had anti-obesity effects to rats, such as decreasing plasma leptin concentration. This study was conducted by preparing the WM-beverage instead of water (150 mL/kg/day) for 9 dogs during 3-months drinking period. The remarkable decreases in the rate of changes for body weight, body fat percentage and serum biochemical tests were not observed at any time. On the other hand, significant decreases were observed in the rate of changes for serum leptin concentration and in the number of urine components (struvite, calcium oxalate crystal or urinary cells) after 1.5- and 3-months. Thus, the present results suggested that WM-beverage may have anti-obesity and anti-urolithiatic effects to canine, such as decreasing the white adipose tissue secreting leptin or the urine lithogenesis increasing output volume of urine.

Key words: watermelon, anti-obesity, leptin, anti-urolithiatic

I. 諸言

近年、家庭で飼育されている成犬の35%～45%が過体重もしくは肥満であるという報告がなされている¹⁾。肥満は過剰な脂肪の蓄積をもたらし、様々な代謝疾患のリスクファクターとなりうるため¹⁾、伴侶動物の肥満予防に対する関心は高まっている。我々はすでに、スイカの果実抽出物（スイカエキス）がラットの肥満を抑制する効果があることを報告した²⁾。スイカにはフラボノイドやリコペンやシトルリンなどの様々な有用成分が含まれており、これらの成

分は肥満抑制や代謝疾患リスクの軽減に加え、抗酸化作用や利尿作用などの様々な生理作用を持つことが知られている²⁾⁻⁴⁾。本研究では、スイカエキス飲料をイヌに与えた時に、血清や尿成分にどのような影響を及ぼすのかについて検討を行った。その結果、スイカエキス飲料は、イヌの血清レプチン濃度を有意に低下させるとともに、尿中のストルバイト結晶（リン酸アンモニウムマグネシウム結晶）やシュウ酸カルシウム結晶の形成を抑制するなどの有用性が確認されたので報告する。

¹⁾ ヤマザキ学園大学動物看護学部動物看護学科
〒192-0364 東京都八王子市南大沢4-7-2
TEL: 042-689-6538

E-mail: s_miyai@yamazaki.ac.jp

受領日：平成28年5月31日

受理日：平成28年8月9日

²⁾ 株式会社萩原農場生産研究所
〒636-0222 奈良県磯城郡田原本町法貴寺984

¹⁾ Yamazaki Gakuen University
4-7-2 Minami-osawa, Hachioji, Tokyo 192-0364, Japan

²⁾ Hagihara Farm Production Institute
984 Hokiji, Tawaramoto, Nara 636-0222, Japan

II. 材料と方法

1. 対象動物

本研究は、「実験動物の飼育および保管に関する基準（平成25年環境省告示第84号）」に基づき、「ヤマザキ学園大学動物実験指針」を遵守して、一般家庭で飼育されている犬9頭を用いた。

対象動物の食餌に関しては、それぞれの個体が普段摂取している内容と同様にし、普段飲用している水のかわりにスイカエキス飲料を与えた。

2. 実験計画

犬種や年齢が様々な9頭（プードル2頭：去勢雄7歳、雌9歳、ゴールデン・レトリバー1頭：去勢雄9歳、チワワ3頭：雌2歳、雌4歳、避妊雌6歳、ミニチュア・ダックスフンド2頭：去勢雄9歳、避妊雌5歳、イタリアン・グレーハウンド1頭：雌2歳）に2016年8月末～11月末の3.0ヶ月間、1日あたり150 mL/kgのスイカエキス飲料を準備し、自由に飲用させた。スイカエキス飲料は次のような手順で調整したものである。種子採取用スイカ果実に、終濃度75%になるようにエタノールを加え、ミキサーで5時間攪拌後、25,000Gで5分間遠心し、上清分画を採取した。この上清分画を30℃のロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、もとのスイカ果実重量の0.6%になるように蒸留水を加えて調整した。その抽出物に、アスコルビン酸を約50 mg/100 mLになるように混合した。

1) 体重および体脂肪：

飲用開始前、1.5ヶ月後および3.0ヶ月後の体重は体重計付き診察台（Menix）にて、体脂肪率はヘルスラボ犬用体脂肪計（花王）を用いて測定し、判定表を用いて比較した。ボディコンディショニングスコア（BCS）は視診、触診により9段階（1～3：痩せている、4および5：適正、6：太り気味、7～9：太っている）に分類し評価した。

2) 血清生化学検査およびレプチン濃度：

飲用開始前、1.5ヶ月後および3.0ヶ月後において、頸静脈もしくは橈側皮静脈より食前空腹時の血液を0.5～1.0 ml/kgで採取し、血清分離後、糖化アルブミン（Glyco-alb）以外の生化学

検査は富士ドライケム4000V（FUJIFILM）で測定した。Glyco-albは（株）LSIメディエンス（測定法は酵素法）に依頼した。富士ドライケム4000Vで測定した生化学検査項目は、尿素窒素（BUN）：富士ドライケムスライドBUN-PIII、クレアチニン（CRE）：富士ドライケムスライドCRE-PIII、グルコース（GLU）：富士ドライケムスライドGLU-PIII、中性脂肪（TG）：富士ドライケムスライドTG-PIII、総コレステロール（T-cho）：富士ドライケムスライドTCHO-PIII、HDLコレステロール（HDL-cho）：富士ドライケムスライドHDL-C-PIIIDである。

レプチン濃度は、ELISA法測定試薬キットであるCANINE LEPTIN ELISA KIT（Millipore）を用いて測定した。

3) 尿比重および尿沈渣評価：

飲用開始前、1.5ヶ月後および3.0ヶ月後の随時尿を自然排尿法により採取し、尿比重は蛋白屈折計（エルマ）にて、尿沈渣評価はJCCLS法に基づいて行った。

3. 統計処理

データは、平均値±標準偏差で表し、比較は重複測定一元配置分散分析（ANOVA）後、多重比較のためにDunnett法により検定した。ソフトはエクセル2013（マイクロソフト社）にStatcel4（オーエムエス出版）をアドインして用いた。

III. 結果

1. 体重および体脂肪

飲用開始前、1.5ヶ月後および3.0ヶ月後におけるBCSの平均値±標準偏差は、開始前が4.1±0.3、1.5ヶ月後および3.0ヶ月後が4.0±0であり、9頭すべてが適正值であったが、体脂肪率の平均値±標準偏差は、開始前が30.6±9.3%、1.5ヶ月後が25.0±6.4%、3.0ヶ月後が26.0±5.4%であり、花王ヘルスラボ判定表と比較したところ痩せ気味から太り気味まで様々であった。また、飲用開始前の体重および体脂肪率を100とし、飲用後の相対比率を算出し比較したところ、体重の変化およびばらつきはほとんどなかった。体脂肪率においてはわずかな低下が認められたが、ばらつきが大きかった（Fig. 1）。

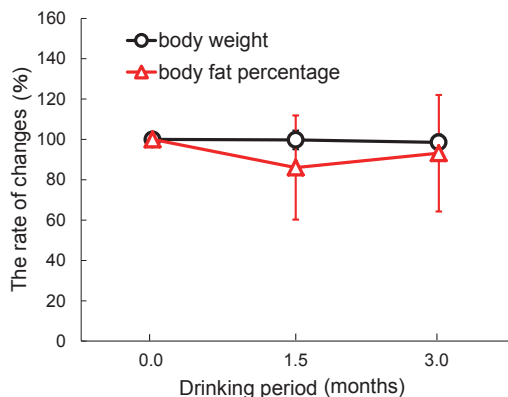


Fig. 1 Changes in the body weight and the body fat percentage during 3-months drinking period of WM. Each value indicates the rate of data measured in 1.5- and 3.0-months to that before WM drinking period. means \pm S.D., N = 9, * $p < 0.05$.

2. 血清生化学検査

飲用開始前の血清生化学検査値は、すべて基準範囲内(富士ドライケムにおけるイヌの基準範囲はBUN: 9.2 ~ 29.2 mg/dL, CRE: 0.4 ~ 1.4 mg/dL, GLU: 75 ~ 128 mg/dL, TG: 30 ~ 133 mg/dL, T-cho: 111 ~ 312 mg/dL, (株) LSI メディエンスによるイヌの基準範囲はHDL-cho: 71 ~ 170 mg/dL, GA: 8 ~ 14%)であった。相対比率を比較したところ、すべての項目において有意差は認められなかった (Fig. 2)。しかしながら、1.5ヶ月後および3.0ヶ月後にはTGの相対比率は減少傾向を示した。T-choの1.5ヶ月後における相対比率も減少傾向を示したが、3.0ヶ月後における相対比率の平均値 \pm 標準偏差は106.76 \pm 35.24 %であり、減少傾向を示さず、ばらつきが大きかった。

3. 血清レプチン濃度

飲用開始前における血清レプチン濃度の平均値 \pm 標準偏差は5.56 \pm 1.92 ng/mLであり、1.5ヶ月後では3.19 \pm 1.92 ng/mL、3.0ヶ月後では3.49 \pm 2.66 ng/mLであった。飲用開始前と1.5ヶ月後および3.0ヶ月後の血清レプチン濃度の相対比率を比較すると、1%有意水準で有意な低下が認められた (Fig. 3)。また、血清レプチン濃度と体脂肪率との間に相関は認められなかった

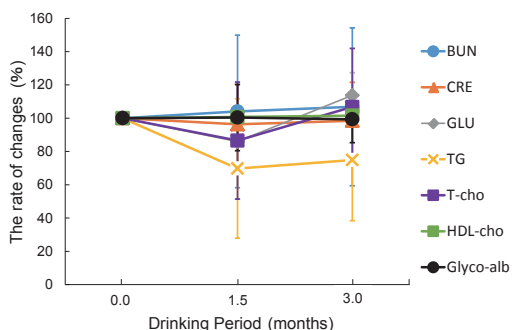


Fig. 2 Changes in serum biochemical data during 3-months drinking period of WM. Each value indicates the rate of data measured in 1.5- and 3.0-months to that before WM drinking period. Biochemical tests: BUN (blood urea nitrogen), CRE (creatinine), GLU (glucose), TG (triglyceride), T-cho (total cholesterol), HDL-cho (high-density lipoprotein cholesterol), GA (glycoalbumin) means \pm S.D., N = 9, * $p < 0.05$.

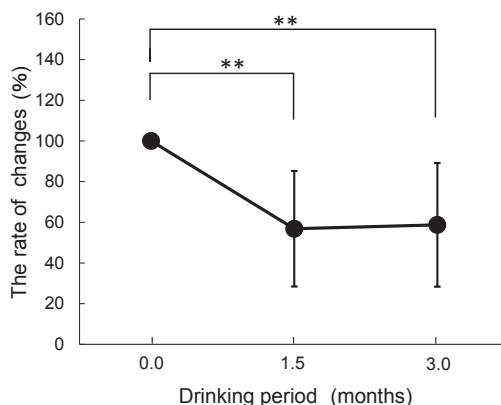


Fig. 3 Change in serum leptin concentrations during 3-months drinking period of WM. Each value indicates the rate of data measured in 1.5- and 3.0-months to that before WM drinking period. means \pm S.D., N = 9, ** $p < 0.01$.

($R=0.01$)。

4. 尿比重

飲用開始前と1.5ヶ月後の尿比重においては、すべてのイヌで屈折計の測定範囲を超える1.040以上を示したが、9頭中5頭の犬において

は、3.0ヶ月後に尿比重の低下 (case1: 1.026、case2: 1.020、case3: 1.026、case4: 1.008、case9: 1.021) が認められた (Fig. 4)。

5. 尿沈渣検査

Case1-4、9のイヌにおいては、飲用開始前および1.5ヶ月後の沈渣像が少数の扁平上皮細胞および細菌のみであり、正常範囲内であった。

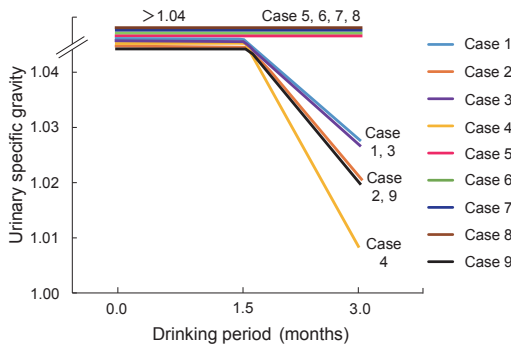


Fig. 4 Changes in urine specific gravities during 3-months drinking period of WM.

また、3.0ヶ月後において、有形成分は認められなかった。しかしCase5-8のイヌにおいては、飲用開始前および1.5ヶ月後にストルバイト結晶やシュウ酸カルシウム結晶が認められたが、3.0ヶ月後にこれらの結晶は検出されなかった (Fig. 5AおよびB)。またシュウ酸カルシウム結晶が多く認められたCase5のイヌにおいて、開始前および1.5ヶ月後における扁平上皮細胞数や移行上皮細胞数が他の被験犬で認められる数より多かったが、3.0ヶ月後には減少した (Fig. 5CおよびD)。

IV. 考察

スイカエキス飲料の体重や体脂肪や各種血清成分に及ぼす効果をもてみると、飲用開始1.5ヶ月後、3.0ヶ月後で体脂肪とTGがわずかに低下したが、その他の項目は、飲用前後でほとんど変化しなかった (Fig. 1, 2)。一方、血清レプチン濃度は、明らかな変化を示し、飲用開始前に比べて、飲用開始1.5ヶ月後、3.0ヶ月後とも

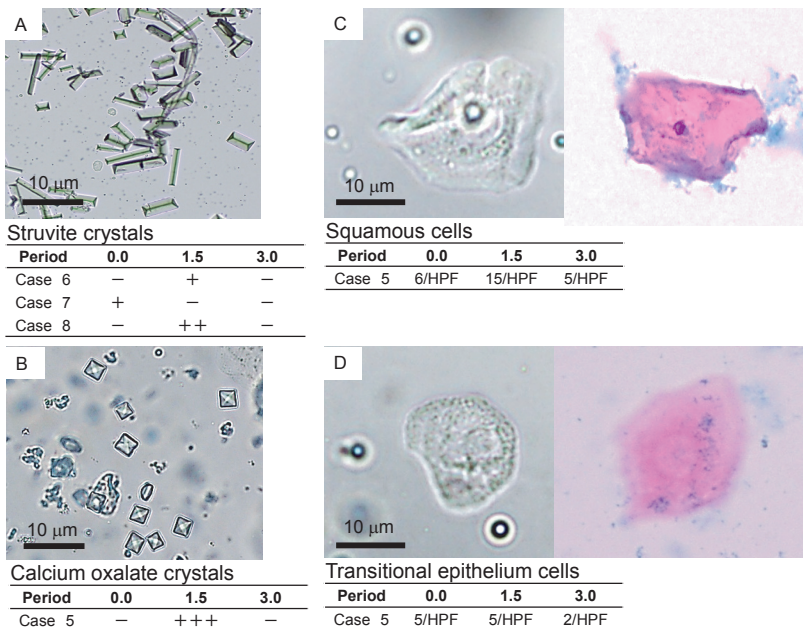


Fig. 5 The microscopic observation of crystals and cells in urine obtained from the characteristic cases. Changes in the number of crystals and cells were indicated under the photos. Left side photos in C and D were none staining. Right side photos in C and D were taken after staining with Sternheimer stain. A: Struvite, B: calcium oxalate crystal, C: squamous cell, D: transitional cell. Bar=10 μm.

有意に低下した (Fig. 3)。レプチンは白色脂肪細胞から分泌されるペプチドホルモンであり、血中レプチン濃度は肥満のヒトやマウスで高くなることや、視床下部に存在するレプチン受容体と結合し、摂食抑制作用や代謝促進作用を示し、体脂肪量を制御することが知られている^{1), 5), 6)}。これらの報告のなかで、血中レプチン濃度は、体脂肪やBMIと正の相関関係を示すとされているが^{5), 6)}、本研究では、体脂肪率との相関関係は認められなかった。これは、今回対象としたイヌが、肥満傾向を示しておらず、体重や体脂肪や血清生化学検査に有意な差が表れなかったためではないかと考えられた。血中レプチン濃度は肥満者において体脂肪率と相関があるとされている^{5), 6)}。近年、植物由来のフラボノイドは、血清レプチン濃度や体脂肪量を低下させることが報告されている⁷⁾⁻⁹⁾。スイカにもさまざまなフラボノイドやリコペンが含まれており³⁾、他の植物由来成分同様、これらにも血清レプチン濃度を低下させ、TGを下げる効果があるのではないかと考えられた。

スイカエキス飲料の尿成分に及ぼす効果についてみてみると、Case 1-4、9のイヌでは、飲用開始前及び1.5ヶ月後の尿沈渣で、少数の扁平上皮細胞と細菌のみが検出されたが、3.0ヶ月後には尿比重が低下し、有形成分が認められなくなった。Case 5-8のイヌの尿比重は、飲用開始前から3.0ヶ月後まで1.040以上のままであったが、飲用開始前と1.5ヶ月後に認められたストルバイト結晶やシュウ酸カルシウム結晶が、3.0ヶ月後には認められなくなり、扁平上皮細胞数や移行上皮細胞数も健康なイヌで認められる値まで減少した (Fig. 4, 5)。結晶や細胞等の尿成分が変化するのに約3.0ヶ月間を要したが、これは自由飲用であったために飲用開始時の飲用量が一定せず、スイカエキス飲料に慣れるのに1~2ヶ月要したためかもしれない。ストルバイトやシュウ酸カルシウムが主成分の尿路結石症は、肥満のイヌで多く発症することが知られている¹⁰⁾。イヌの尿路結石においてもヒトと同様、結石の材料となる無機物質の摂取制限や、排泄の促進、尿のpHコントロール等の食餌療法が行われている。水分を多く摂取させて結晶の形成や結石の成長を抑制することが推奨されているが、飼い主が多量の水をイヌに与えよ

うとしても、飲もうとしないことが多い。しかし、本研究では、スイカエキス飲料の飲用3.0ヶ月後に9例中5例で尿比重が低下し、残りの4例は尿比重の低下が確認されなかったが、尿沈渣データは健康なイヌで認められる値まで改善されていた。近年、没食子酸エピガロカテキンやクミクスチン等の植物由来成分が、尿量を増加させ、尿路結石症を予防する効果があることが報告された¹¹⁾⁻¹³⁾。スイカには、利尿作用を持つシトルリンが多く含まれていることが知られている⁴⁾。スイカエキス飲料の飲用は、利尿作用やイヌの自発的水分摂取を促し、尿比重の低下やストルバイト結晶およびシュウ酸カルシウム結晶の形成を抑制することにより、尿路結石症を予防する効果があることが考えられた。

近年、イヌやネコの肥満に伴い尿路結石症の発症数が増加しており、予防獣医学の観点から、サプリメントとしての植物由来成分への期待は高まっている。そのため、今後は、血清レプチン濃度の低下や利尿作用、尿沈渣のストルバイト結晶やシュウ酸カルシウム結晶の形成抑制に関与するスイカエキス飲料に含まれる物質の同定や、その作用機序について明らかにする必要がある。

V. 結語

スイカエキス飲料は、イヌの血清レプチン濃度を低下させた。また、飲用3.0ヶ月後には、飲用開始前と1.5ヶ月後に認められた尿沈渣のストルバイト結晶やシュウ酸カルシウム結晶が認められなくなった。

参考文献

- 1) Park HJ, Lee SE, Oh JH, Seo KW and Song KH: Leptin, adiponectin and serotonin levels in lean and obese dogs. *BMC Veterinary Research*, 10: DOI 10.1186/1746-6148-10-113, 2014.
- 2) 岡崎登志夫, 橋詰利治, 鈴木光行, 小川善資: 高脂肪飼料給餌ラットに対するスイカエキスの肥満抑制効果. *ペット栄養学会誌*, 17: 13-18, 2014.
- 3) Naz A, Butt MS, Sultan MT, Qayyum MM, Niaz RS: Watermelon lycopene and allied health claims. *EX-CLI J*. 13: 650-60, 2014.
- 4) Poduri A, Rateri DL, Saha SK, Saha S and Daugherty A: *Citrullus lanatus* 'sentinel' (watermelon) extract

- reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Nutr Biochem*, 24: 882-886, 2013.
- 5) 元永智恵, 近藤正敏, 林篤志, 岡森万理子, 北村良久, 嶋田貴志: 高脂肪食肥満モデルマウスに対する乳酸菌*Enterococcus faecalis* FK-23の影響. *日本食品化学工学会誌*, 56: 541-544, 2009.
 - 6) 山中 麻希, 安友 裕子, 立花 詠子, 塚原 丘美, 北川元二: 女子大学生の体脂肪分布および食事摂取状況と血中レプチン値の検討. *名古屋学芸大学健康・栄養研究所年報*, 7: 55-63, 2015.
 - 7) Cai W, Yu L, Zhang Y, Feng L, Kong S, Tan H, Xu H and Huang C: Extracts of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Flower Exhibit Antidiabetic Effects via the Inhibition of α -Glucosidase Activity. *J Diabetes Res*, 2016: DOI 10.1155/2016/2340276, 2016.
 - 8) Wang Y, Li JY, Han M, Wang WL and Li YZ: Prevention and treatment effect of total flavonoids in *Stellera chamaejasme* L. on nonalcoholic fatty liver in rats. *Lipids Health Dis*, 14: DOI 10.1186/s12944-015-0082-6, 2015.
 - 9) Hoek-van den Hil EF, van Schothorst EM, van der Stelt I, Swarts HJ, van Vliet M, Amolo T, Vervoort JJ, Venema D, Hollman PC, Rietjens IM and Keijer J: Direct comparison of metabolic health effects of the flavonoids quercetin, hesperetin, epicatechin, apigenin and anthocyanins in high-fat-diet-fed mice. *Genes Nutr*, 10: DOI 10.1007/s12263-015-0469-z, 2015.
 - 10) Killilea DW, Westropp JL, Shiraki R, Mellema M, Larsen J, Kahn AJ, Kapahi P, Chi T and Stoller ML: Elemental Content of Calcium Oxalate Stones from a Canine Model of Urinary Stone Disease. *PLoS One*, 10: e0128374, 2015.
 - 11) Zhou Y, Wang S and Tang CB: Study on inhibitory effect of EGCG on Calcium oxalate nephrolithiasis in rats and its related mechanism. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 40: 1376-1380, 2015.
 - 12) Zhong YS, Yu CH, Ying HZ, Wang ZY and Cai HF: Prophylactic effects of *Orthosiphon stamineus* Benth. extracts on experimental induction of calcium oxalate nephrolithiasis in rats. *J Ethnopharmacol*, 144: 761-767, 2012.
 - 13) Pawar AT and Vyawahare NS: Antirolithiatic activity of *Abelmoschus moschatus* seed extracts against zinc disc implantation-induced urolithiasis in rats. *J Basic Clin Pharm*, 7: 32-38, 2016.