

小豆ポリフェノールを有効成分とする糖尿病の予防につながる 糖・脂質代謝異常改善剤の開発

佐藤 伸¹⁾ *、向井 友花^{1) 2)}、牧 道子³⁾、服部 清澄³⁾

1) 青森県立保健大学、2) 現 神奈川県立保健福祉大学、3) 株式会社遠藤製館

Key words ①小豆ポリフェノール、②AMP 活性化プロテインキナーゼ、
③糖・脂質代謝、④糖尿病

I. はじめに

わが国の糖尿病の患者数は、境界型糖尿病を含めると 2000 万人に及ぶともいわれ、その数はさらに増えると予測されている。それゆえ、その予防・改善は急務である。タンパク質リン酸化酵素である AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) は、糖や脂質代謝の中心的な調節因子としての役割を果たす¹⁾。この酵素は、細胞内のエネルギーセンサーといわれ、細胞内エネルギー (ATP) 量の減少を感知すると、活性化し ATP 量を回復させる効果をもたらす。また、ヒストン脱アセチル化酵素である Sirt1 (サーチュインのファミリーの 1 つ) は、抗老化作用をもち、糖尿病や肥満などに予防的に働く²⁾。近年、AMPK や Sirt1 を活性化したりする医薬品が開発されている。また、ある種の植物由来ポリフェノールが AMPK や Sirt1 を活性化することもわかってきた³⁾。

小豆は和菓子の原料や料理の素材として日本人にはなじみが深い食物のひとつである。しかしながら、小豆あんの製造過程でポリフェノールの多く含む「渋切り水」や食物繊維を多く含む「あんかす (種皮部)」が廃棄され、その再利用が課題となっている。その一案として「渋切り水」を清涼飲料水として活用しようとする試みがなされている。そこでは、たとえば、糖尿病の予防改善に寄与する科学的エビデンスが求められている。

II. 目的

本課題では、糖尿病でみられる糖質や脂質の代謝異常に果たす小豆ポリフェノール (小豆 PP) の生理的役割を検討し、糖尿病予防につながる糖質・脂質代謝異常の予防改善剤の開発を目指す。今年度は、糖尿病モデルラットにおいて小豆 PP は AMPK や Sirt1 を活性化するか、さらに、糖尿病における糖質や脂質代謝の異常を軽減するかを検討した。

III. 研究方法 (研究の経過)

本研究は青森県立保健大学動物実験委員会の承認を得て、すべて「青森県立保健大学動物実験に関する指針」に従って実施された。

1. 実験動物、投与量及び試料採取

Wistar 系雄性ラット (6 週齢) にストレプトゾトシン (STZ) を尾静脈に単回投与 (65 mg/kg 体重) した。対照群には STZ の vehicle であるクエン酸緩衝液 (pH4.5) を投与した。投与後 48 時間の血糖値が 300mg/ml 以上の動物を糖尿病ラットとした。小豆 PP 抽出液 (APE) は、株式会社

*連絡先：〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: s_sato3@auhw.ac.jp

遠藤製館にて調製した。糖尿病ラットを3群に分け、0（蒸留水）、1.0及び4.0 mg/ml（10 ml/kg）を各群に胃内強制投与した。対照群に蒸留水を同様に投与した。投与期間中に体重及び摂餌量を測定した。4週間後に、エーテル麻酔のもと採血し、臓器を摘出し、重量を測定した。

2. 血液生化学検査及びウエスタンブロッティング

血漿中のグルコース（Glc）、トリグリセリド（Tg）及び総コレステロール（T-cho）濃度を測定した。肝臓をホモジネイトしたのち、遠心分離（5000×g、45分間、4℃）を行い、上清のタンパク質濃度を測定した。その後、SDS-PAGE電気泳動法を行い、ブロッティングした。リン酸化AMPK（p-AMPK）抗体及びβ-アクチンを反応させた後、HRP標識二次抗体を反応させた。

IV. 結果及び考察

1. 体重、摂餌量の変化

APE投与期間中の対照群と糖尿病ラット群の体重を比べると、糖尿病ラット群の体重は投与後6週及び11週を除き、有意に低値を示した。また、糖尿病ラット群間では差は認められなかった。一方、対照群と糖尿病ラット群の摂餌量を比べると、糖尿病ラット群の摂餌量が有意に大きかった。しかし、糖尿病ラット群間では差はなかった。

2. 臓器重量への影響

対照群に比べて、APE非投与群（0 mg/ml群）の肝臓、腎臓及び心臓の相対重量は、有意に増加していた。この結果は、糖尿病群ではこれらの臓器の肥大が推定された。一方、0 mg/ml群に比べて、4.0 mg/ml群の相対重量は、有意差は認められなかったが、やや減少する傾向であった。

3. 血液生化学検査値への影響

0 mg/ml群のGlc及びT-cho濃度は対照群に比べて有意に増加した。4.0 mg/ml群のGlc、Tg及びT-cho濃度は0 mg/ml群に比べて、有意差は認められなかったが、減少傾向がみられた。このことから、高用量のAPEは糖尿病における糖質・脂質代謝に影響を及ぼす可能性が示唆された。一方、4.0 mg/ml群のGlc及びTg濃度は0 mg/ml群に比べて、高値を示した。これは、APEの用量依存的な反応はみられなかったため、APEが糖尿病の糖質・脂質代謝を悪化させたためというよりも、生体がSTZに過剰に反応しより重篤な糖尿病になったためと推察された。

4. 肝臓中のリン酸化AMPKタンパク質量への影響

0 mg/ml群のp-AMPK量は対照群に比べて、減少していた。一方、4.0 mg/ml群のp-AMPK量は、0 mg/ml群に比べて増加した。このことから、糖尿病ラットの肝臓ではAMPK活性は低下するが、高用量のAPE投与によりAMPKは活性化することが示唆された。

以上の結果を踏まえ、次年度は今回の実験で得た試料をさらに多面的に解析するほか、培養細胞を用いて脂質異常症におけるAPEの生理調節機能を明らかにし、APEを主たる成分とする糖質や脂質代謝異常の改善剤の開発を目指す。

V. 文献

- 1) Zhang BB, et al. *Cell Metab* 2009;9:407-16.
- 2) Ruderman NB, et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;298:E751-60.
- 3) Hwang et al. *N Biotechnol* 2009;26:17-22.

VII. 発表 なし