

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00902

研究課題名(和文) ウメ抽出物中の糖尿病改善物質の検索

研究課題名(英文) Amelioration of diabetes mellitus by Japanese Apricot (Prunus mume) extract

研究代表者

李 云善 (LI, Yun-Shan)

産業医科大学・産業生態科学研究所・講師

研究者番号：90449950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではウメエキスと中国の漢方薬である烏梅の抽出物中の糖尿病改善効果とその有効成分について検討した。ウメエキスの水抽出物は、生体内では強い抗酸化作用と降血糖及び抗酸化作用が認められた。一方、烏梅炭の水と80%エタノール抽出物はいずれも強い抗酸化作用と降血糖効果が見られた。また、HPLC法でウメエキスと烏梅炭の水抽出物の α -glucosidase活性の抑制作用がある活性成分を分画した。

研究成果の概要(英文)：In this study, improvement effects and active components of extracts of Prunus mume concentration and Fructus mume on diabetes mellitus was studied. The water extract of Prunus mume concentration exhibited strong antioxidant activities and hypoglycemic action in in vivo experiments. On the other hand, higher antioxidant activities and hypoglycemic action of the 80% ethanol extract of Fructus mume carbon were observed. Moreover, the active fractions which provided antioxidant activities and α -glucosidase inhibitory activity of the water extract of Prunus mume concentration and Fructus mume carbon were fractionated by the high performance liquid chromatography (HPLC).

研究分野：複合領域

キーワード：糖尿病 酸化ストレス 8-hydroxydeoxyguanosin

1. 研究開始当初の背景

糖尿病とは、常に血糖が高い状態になり、網膜症、腎症、神経障害など重篤な合併症を引き起こす恐ろしい代謝性疾患である。酸化ストレスは糖尿病の発症及び動脈硬化性疾患、腎症など糖尿病が色々な合併症を引き起こす大きな要因であると報告されている。抗酸化ビタミンCやEを豊富に含んだ食事あるいはサプリメントは、糖尿病におけるインスリンの治療効果を高めるだけでなく、体の臓器をインスリンの悪影響から守るという報告もあり、抗酸化物の投与は糖尿病治療の一つの戦略として注目されている。近年、西洋薬の血糖降下剤は治療中に低血糖症、肝障害などの副作用があるため、副作用の少ない漢方薬治療や薬用食品からの新薬開発が注目されている。

私たちは2型糖尿病モデル BKS.Cg-m+ *Lepr^{db}/+* *Lepr^{db}/Jcl* [2型糖尿病モデル] マウスにおいて、酸化ストレスマーカーである尿中 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)と尿中及びに血清中の 8-hydroxyguanine(8-OHGua)が非糖尿病マウスに比べて、有意に増加することを報告した (Li et al. J UOEH 2013)。しかし、抗酸化剤の単独使用では降血糖効果がなかった。

私たちは抗酸化作用と降血糖作用両方を持つ可能性があるウメを用いて研究を行い、抗酸化物質が降血糖作用に及ぼす影響に注目し、糖尿病の治療と合併症予防の新薬及び健康食品の開発ができるものと期待している。

2. 研究の目的

本研究では、ウメの抽出物を用いて *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を行うことにより抗酸

化効果と降血糖作用両方から、ウメ抽出物の糖尿病改善効果及びメカニズムを探索することを目的とする。一方、抗酸化作用が降血糖作用に及ぼす影響についても検討する。

3. 研究の方法

(1)まず健康食品であるウメエキス(ウメ果汁加熱濃縮物)と中国の漢方薬である烏梅を用いて水と80%エタノール抽出物を作成し、*in vitro* 実験で抗酸化作用(SOD活性、総抗酸化能など)及び細胞のインスリン分泌量に及ぼす影響を検討した。

(2)さらに抗酸化作用及びインスリン分泌に影響を及ぼす作用があるウメエキスと烏梅炭の抽出物を選び、BKS.Cg-m+ *Lepr^{db}/+* *Lepr^{db}/Jcl* マウスを用いて、これらの抽出物の生体内での抗酸化作用及び降血糖効果を検討した。マウスは8週齢からウメ抽出物を投与開始する。その後血糖値、尿中の酸化ストレスマーカーである8-OHdGの測定を継続し、生体内での血糖値及び抗酸化作用に及ぼす影響について検討を行った。

さらに、投与12週間後マウスを解剖し、血液と臓器を摘出し、血清中のインスリン量及び抗酸化作用を検討した。

(3)ウメエキスは α -glucosidase 抑制作用があると報告されているので、私たちは α -glucosidase 抑制作用に着目し、ウメエキスと烏梅炭の水抽出物をHPLC法で分画し、その中から α -glucosidase 抑制作用とヒドロキシルラジカル (*hydroxyl radical*) 消去作用両方を持つ活性画分を選択し、BKS.Cg-m+ *Lepr^{db}/+* *Lepr^{db}/Jcl* マウスに投与した。その後血糖値、尿中の8-OHdGの測定を測定し、

生体内での血糖値及び抗酸化作用に及ぼす影響について検討を行った。

4. 研究成果

(1) 烏梅は *in vitro* 実験でウメエキス（果汁加熱濃縮物）に比べて顕著に高い抗酸化能を持つことが分かった。ウメの水及びエタノール抽出物をラット膵臓細胞 RIN-5f 細胞に処理した結果、烏梅抽出物の抗酸化作用はウメエキス抽出物より高いことが分かった。一方、烏梅炭の 80%エタノール抽出物は RIN-5f 細胞のインスリン分泌を高める傾向があることが認められた。以上の結果から、生ウメの果汁に比べ、ウメを加熱処理することにより抗酸化能が高まると考えられる。

(2) ウメエキス及び烏梅炭の抽出物をマウスに投与 2 週間後から、空腹時血糖値と尿中 8-OHdG 値は非投与群に比べ、有意に減少した。いずれの投与群の血清中においても、insulin 分泌には有意な変化はなかった。これらの結果から、ウメエキス及び烏梅炭の抽出物は抗酸化作用と降血糖効果が認められたが、インスリン分泌量に対する影響は見られなかった。

(3) ウメエキスと烏梅炭の水抽出物を高速液体クロマトグラフ (High performance liquid chromatography: HPLC) 法で分画し、各画分の *in vitro* 実験での α -glucosidase 抑制活性と抗酸化作用を測定した (図 1)。その中から得たヒドロキシルラジカル (hydroxyl radical) 消去活性と α -グルコシダーゼ (α -glucosidase) 抑制活性がある画分を分取し、細胞と動物への投与実験を行った。細胞投与実験では、ウメエキスの水抽出物から得

られた画分の投与により、RIN-5f 細胞のインスリン分泌量が有意に増加し、脂質過酸化バイオマーカーマロンジアルデヒド (malondialdehyde: MDA) の減少が認められた。動物投与実験では、ウメエキス及び烏梅の水抽出物の画分投与群の血糖値は非投与群に比べて有意に減少することが見られたが、抗酸化作用は認められなかった。以上の結果から、ウメエキスと烏梅の水抽出物から *in vitro* 実験で得られた α -glucosidase 抑制活性と抗酸化作用がある画分は、糖尿病モデルマウスへの投与により降血糖効果を示したが、抗酸化作用は示さなかった。この結果はウメエキスと烏梅の抽出物を直接に動物に投与した結果と異なった。その原因は、生体内でこれらの画分が降血糖効果を果たしているが、抗酸化作用にはこれらの画分以外の成分が寄与している可能性があると考えられる。

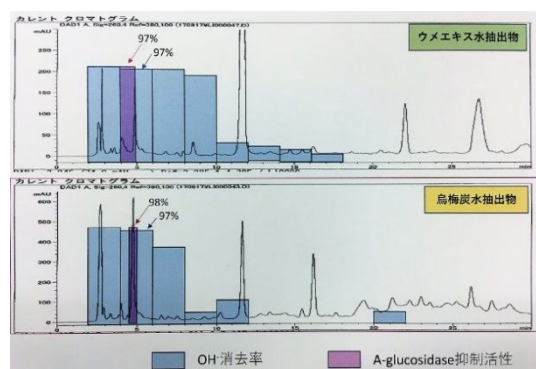


図 1 ウメエキスと烏梅炭の水抽出物を高速液体クロマトグラフ分析結果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 2 件)

(1) Yun-Shan Li, Yuya Kawasaki, Yuko

Ootsuyama, Hiroshi Kasai, Kazuaki Kawai. Antioxidant activities of Fructus Mume and plum concentrate, the 8th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research-Asia (SFRR-Asia) & The 14th Conference of the Asian Society of Mitochondrial Research and Medicine (ASMRM), September 8-11, 2017, Xi'an Nanyang Hotel, Xi'an, China

- (2) 李云善, 川崎裕也, 大津山祐子, 葛西宏, 河井一明, ウバイ(烏梅)の抗酸化作用, 第45回日本環境変異原学会, 2016年11月16-17日, つくば国際会議場, つくば市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

李云善 (LI, Yun-Shan)

産業医科大学・産業生態科学研究所・講師

研究者番号：90449950

(2) 研究分担者

川崎 裕也 (KAWASAKI, Yuya)

産業医科大学・産業生態科学研究所・助教

研究者番号：30721716

河井 一明 (KAWAI, Kazuaki)

産業医科大学・産業生態科学研究所・教授

研究者番号：60161262

葛西 宏 (KASAI, Hiroshi)

産業医科大学・産業生態科学研究所・非常

勤講師

研究者番号：40152615