

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 6 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21510223

研究課題名（和文） 糖質トランスポーターを制御する機能性分子の解明

研究課題名（英文） Elucidation of natural products to regulate glucose-transporters on the small intestine.

研究代表者 小山智之（KOYAMA TOMOYUKI）

東京海洋大学・大学院海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号：00377904

研究成果の概要（和文）：200文字

本研究では、食後血糖値の上昇を抑制する食品素材を探索した結果、数種類の粗抽出物から糖質分解酵素の抑制作用または腸管からのグルコース吸収の抑制作用を示す成分を機器分析により同定した。このうち、モモ葉抽出物から得られた multiflorin A は、既存のトランスポーター阻害剤よりも強力な作用を示し、構造—活性相関研究により、アセチル基が活性発現に重要であることが示された。

研究成果の概要（英文）：

Through exploratory study of the food material to suppress postprandial elevation of blood glucose level in mice, this study aimed to find and identified compounds having inhibitory effect of glucose absorption from the intestinal tract. As a result, some inhibitors against carbohydrate digestive enzymes or against glucose-transport in the intestine were purified with chromatography and then identified by spectral analysis. Multiflorin A, which was obtained from peach leaf extract, showed the most powerful effect compared with known transporter-inhibitors. Then the study of structure-activity relationship showed that its acetyl group is important to express the activity in vivo.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成21年度	2,300,000	690,000	2,990,000
平成22年度	700,000	210,000	910,000
平成23年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：生物活性物質、機能性食品素材

1. 研究開始当初の背景

血糖値上昇を抑制する既存の機能性食品の多くは、糖質分解酵素の活性を阻害するメカニズムに着目して開発されている。研究代表者のこれまでの研究においては、糖質分解酵素阻害作用以外の作用メカニズムにより血糖値上昇を抑制する抽出物にも注目してきた。実験動物、培養細胞を用いた予備検討から、これらは腸管に存在する糖質トランスポーターを阻害することで腸管から血中へのグルコースの吸収を抑制している可能性が示唆された。これら抽出物中の活性成分を特定して、作用メカニズムを検証するとともに、その抽出・調製の方法についても検討を加えることができれば、機能性食品の新しい素材としても応用できると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、天然由来の抽出物から、これらグルコース吸収を抑制する成分を精製して、その構造を決定するとともにin vivo並びにin vitroでの詳細な作用について検討する事を目的とした。

具体的には、これまでに見いだした天然由来成分について、活性成分の分離精製、ならびに構造決定を行うとともに、同定した化合物については、実験動物を用いて糖質吸収に及ぼす阻害メカニズムを確認する。さらに腸管においてグルコースの吸収を介することが示唆されたものについては、その特異性や機能の評価を行う。また、さらに新しい成分を

求めて、血糖値上昇抑制作用の探索研究についても継続する。

3. 研究の方法

(1) マウスにおいてグルコース吸収抑制作用を示す成分の探索・・・マウスに一定量の糖質（スターチ、マルトース、スクロース、グルコース）を経口投与して、経時的に血糖値をモニターした。対照群に対して血糖値上昇の抑制を示すサンプルを活性ありと判断した。また、血糖値以外にも腸管に残存したグルコースの量と血中インスリンレベルを同時に測定して、吸収阻害が主たる作用メカニズムであることを明確にした。

(2) 活性成分の分離精製および構造決定・・・上記活性試験を指標として、分液操作、カラムクロマトグラフィー、HPLC等の常法を用いて活性成分を単離した。精製した化合物については、核磁気共鳴スペクトル、質量分析スペクトル等の各種機器分析データの解析および既知データとの比較により、その構造を決定した。

(3) 活性成分の大量調製法の検討・・・必要に応じて活性成分の大量調製が可能かどうかを検討するために、原料からの抽出・精製方法について各種の条件を変えることにより検討した。

(4) 糖質輸送機構に及ぼす影響の解析・・・単離した化合物を用いて培養細胞及び動物組織を用いて詳細な機能を解析した。化合物の活性の強さと特異性について、既存の特異的阻害剤や特異的基質を用いて解析を行った。ま

た、食品素材としての応用も考慮して精製した化合物と粗抽出物との比較も行った。

4. 研究成果

本研究における探索研究を通して、マウスで食後血糖値上昇を抑制する食品素材を新たに見いだした。これまでに見いだした有望な食品素材について、各種動物試験や酵素活性試験により作用メカニズムを推定した。これら活性を指標として、糖質分解酵素阻害作用を有する天然素材ならびに、グルコース吸収の阻害作用を有する天然素材から数種類の化合物を単離し、それぞれのスペクトルデータ解析することにより化学構造を同定した。

これら抽出物のうちで最も強力な血糖値上昇抑制作用を示したモモの葉からは、ケンフェロール配糖体である multiflorin A を同定し、そのグルコーストランスポーターに対する作用を既存の阻害剤と比較した。さらに、構造-活性相関研究から、その作用が特異的であり、分子中のアセチル基が活性発現に重要である可能性を示した。

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)

[雑誌論文] (計6件)

1. Shirosaki, M., Goto, Y., Hirooka, S., Masuda, H., Koyama, T., Yazawa, K., (2012) Peach leaf contains multiflorin A as a potent inhibitor of glucose absorption in the small intestine in mice. *Biol. Pharm. Bull.* (accepted). 査読有り
2. Shirosaki, M., Koyama, T., Yazawa, K., (2012) Apple leaf extract as a potential candidate for suppressing postprandial elevation of the blood glucose level. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 58, 63-67. 査読有り
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnsv/58/1/58_63/_pdf

3. Shirosaki, M., Koyama, T., Yazawa, K., (2011) Suppressive effect of peach leaf extract on glucose absorption from the small intestine of mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 76: 89-94. 査読有り
[doi: 10.1271/bbb.110541]
4. Honma, A., Koyama, T., Yazawa, K., (2010) Anti-hyperglycemic effects of Sugar Maple *Acer saccharum* and its constituent acertannin. *Food Chem.*, 123: 390-394. 査読有り
[doi: 10.1016/j.foodchem.2010.04.052].
5. Honma, A., Koyama, T., Yazawa, K., (2010) Anti-hyperglycemic effects of Japanese maple *Acer amoenum* and its constituent corilagin *Journal of Wood Science*, 56: 507-512. 査読有り
[doi: 10.1007/s10086-010-1130-5]
6. Honma, A., Koyama, T., Yazawa, K., (2011) Anti-hyperglycemic effects of Japanese Red Maple *Acer pycnanthum* and its constituents ginnalins B and C. *J. Enzym. Inhibit. Med. Chem.*, 26: 176-180. 査読有り
[doi: 10.3109/14756366.2010.486795]

[学会発表] (計7件)

1. 城崎美幸、小山智之、矢澤一良、モモから単離された抗高血糖作用を示すフラボノールグリコシド. 環太平洋国際化学会議 2010、2010.12.17、国際コンベンションセンター(ホノルル).
2. 城崎美幸、小山智之、矢澤一良、キウイ葉エキスから単離された抗高血糖作用成分. 環太平洋国際化学会議 2010、2010.12.19、国際コンベンションセンター(ホノルル).
3. 城崎美幸、小山智之、矢澤一良、モモの葉から単離したグルコース吸収抑制成分と作用メカニズムの推定. 日本薬学会 130 年会、2010.3.29、岡山桃太郎アリーナ(岡山).
4. 本間篤史、小山智之、矢澤一良、サトウカエデの血糖値上昇抑制作用. 日本農芸化学会 2010 年度大会、2010.3.28、東大駒場キャンパス(東京).
5. 小山智之、城崎美幸、矢澤一良、モモ葉エキスのマウス血糖値上昇抑制作用と食品への応用に関する研究. 第3回ポリフ

エノール研究会、2009.8.7、お茶の水女子大（東京）。

6. 城崎美幸、小山智之、矢澤一良、キウイ葉エキスから単離したアミラーゼ阻害作用物質。新規素材探索研究会第8回セミナー、2009.6.5、フジビューホテル（新横浜）。
7. 本間篤史、小山智之、矢澤一良、サトウカエデの血糖値上昇抑制作用。新規素材探索研究会第8回セミナー、2009.6.5、フジビューホテル（新横浜）。

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

小山智之（KOYAMA TOMOYUKI）

東京海洋大学・大学院海洋科学技術研究

科・准教授

研究者番号：00377904