

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：27401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00825

研究課題名（和文）インスリン製剤に代わる経口可能な海苔由来作用物質の探索および作用機序解明

研究課題名（英文）Identification of components of orally administered Pyropia spp. extract and elucidation of the mechanisms underlying its insulin-like effects

研究代表者

友寄 博子 (tomoyori, hiroko)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：10347700

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）： のり由来成分の血糖降下作用については、実験動物で明らかにしてきたが、インスリン様作用であることを確認するために糖質消化酵素阻害作用および抗酸化能について評価した。その結果、いずれも関連が低いことが明らかになったことから、インスリン様作用による血糖降下作用である可能性が高まった。

次に実用化に向けて抽出に適した品質を見出すための指標として等級ならびにたんぱく質含有量などに対する活性を比較した結果、等級の低く、たんぱく質含有量が低いのに強い作用がみられ、低級のりの新たな活用法を見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インスリンは糖尿病の治療に欠かせないホルモンであり、その補充には皮下投与が一般的であるが、我々はこれまで経口摂取可能なインスリン様作用成分をのり由来成分中に見出してきている。本研究の結果から廃棄品質ののりが成分抽出に適していることが明らかになり、有効活用が期待される。さらに、高品質のりにはたんぱく質や抗酸化性成分が、低品質のりには水溶性食物繊維画分やインスリン様作用成分が多く含まれることが明らかになり、のりはどの品質でも血糖降下作用が期待できる。

研究成果の概要（英文）： The study aimed was to identify the components of orally Pyropia spp. extract (Nori extract) and to elucidate the mechanisms underlying its insulin-like effects. It has previously been shown that Nori extract suppresses blood glucose in vivo by exerting insulin-like effects. Here, we assessed the inhibitory effects of Nori extract on carbohydrate-digesting enzymes and its antioxidant activity. These factors were not involved in blood glucose suppression, indicating that the suppressive effects of Nori extract is due to an insulin-like effect and is not mediated by other factors. Correlations were evident between Nori grade and parameters including insulin-like effect, crude soluble dietary fiber fraction content, protein content, and antioxidant activity. Based on these correlations, we suggest that low-grade Nori extract would be advantageous in identifying components exhibiting insulin-like effects.

研究分野：食品栄養機能学

キーワード：糖尿病 インスリン 機能性食品 海藻 海苔 のり 血糖降下作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は重篤化することで、失明や下肢切断のような QOL の低下を招くだけでなく、がんや様々な生活習慣病の原因となることも指摘されている。現在血糖降下作用に関連した機能性食品、特に特定保健用食品は数多く販売されているが、それらの商品は、糖質の吸収をおだやかにするなどの腸管吸収への影響に関するものしかない。つまり、食後の急激な血糖値上昇を抑える機能が利用されているが、それに加えて本来は、インスリンの過剰分泌を抑える機能も必要である。高血糖に続き、高インスリン血症を呈すると、インスリンを分泌する膵臓が疲弊し、インスリンを補充する必要が出てくる。しかし、インスリンの投与は苦痛を伴う方法によって投与されているのが現状であり、現在日本では経口可能なインスリン製剤はなく、処方されている糖尿病経口薬には副作用がある。さらに、食品の分野においても経口摂取可能なインスリン様作用物質の報告は少なく、実用化されたインスリン代替薬はない。そこで、申請者は現在のインスリン製剤に代わる作用成分を見出すために、インスリン様作用を示す食品成分を探索したところ、のりに作用を示す成分があることを発見した。

2. 研究の目的

(1) 品質差が及ぼすのり成分の相違

のりは、通常板状に加工した乾のりの状態で専門の検査員の主観的評価により格付けされる。これに加えて、入札制度により市場で販売されるかが決まるが、買い手がつかない低品質のりは、価格維持のために廃棄処分される。本研究では、インスリン様作用を示す成分がどの品質に多く含まれるか明らかにするとともに、その成分を抽出する指標となる栄養成分の探索を目的に研究を行った。

なお、本研究では、熊本県漁業組合連合会の協力を得て、7 等級 15 種類の乾のりを

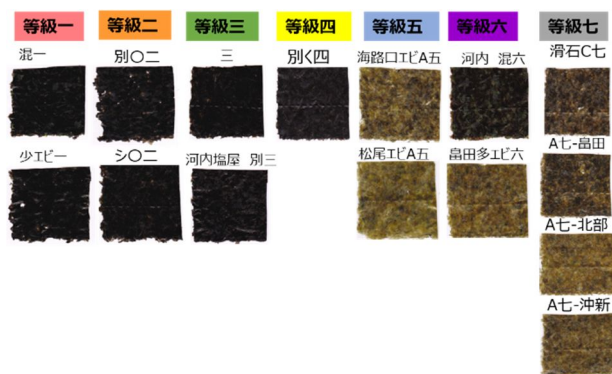


図 1 実験試料に用いた熊本県産のり

の数字は、数字が小さくなるにつれて品質が高くなることを示している。

(2) のり由来成分のインスリン様作用成分の分離・精製

作用成分は、低品質のりから効率よく抽出可能であることが明らかになったため、廃棄のりを試料として作用成分の分離・精製を行った。これまでの方法で煩雑であった作業工程を効率化するとともに、作用成分の同定を目的に研究を行った。

(3) 血糖降下作用に関する指標の評価

機能性食品における血糖降下作用には主に糖質消化酵素阻害作用が挙げられ、抗酸化作用も関係することが示唆されている。本研究ではこれまで血糖降下作用を示していた成分がインスリン様作用以外の作用で血糖降下作用を示すか確認する目的で研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 品質差が及ぼすのり成分の相違

先に示したのりから微粉末試料を作製し、熱水抽出に続いて 75% エタノール抽出を行い、熱水抽出可溶性画分、75% エタノール可溶性画分の 2 試料を得て、活性測定に使用した。なお、インスリン様作用の指標として脂肪分解抑制作用を用いて、品質との比較をおこなった。インスリンは脂肪分解抑制作用を有するため、脂肪分解率が低い方が作用が強いことを示している。品質はヒトの主観的な感覚によるものであるため、より客観的な指標を探る目的で乾のりに含まれるたんぱく質含量および熱水抽出物の抗酸化能を測定した。先の 2 試料抽出の際に得られる 75% エタノール不溶性画分を水溶性食物繊維粗抽出画分としてその含有率についても比較を行った。

(2) のり由来成分のインスリン様作用成分の分離・精製

作用成分の分離・精製を進めた。これまで同様に 75% エタノール抽出可溶性画分を分子量 1000 の限外濾過膜で分離し、ゲル濾過クロマトグラフィーに続いて ODS カラムにて分離を行った。得られた画分の活性を確認した後に、研究分担者により構造解析を行った。

(3) 血糖降下作用に関する指標の評価

糖質消化酵素として α -アミラーゼおよびマルターゼを選択し、のり抽出物の活性への影響を評価した。本実験ではアカルボースを陽性対照に実験を行った。次に、抗酸化活性の指標である H-ORAC (hydrophilic-oxygen radical absorbance capacity) を測定した。

4. 研究成果

(1) 品質差が及ぼすのりの成分の相違

インスリン様作用成分抽出に有利な品質の決定

先に示した熱水抽出可溶性画分を試料として脂肪分解抑制作用を等級別に比較した結果、熱水抽出物では等級が下がるにつれて活性が強くなる結果を示した(図3)。のりのたんぱく質含有量はヒトの官能検査の結果と相関関係を示すことが報告されている。そこで、本研究でも等級と比較したところ、より強い相関関係を示すことが明らかになったため(図2)たんぱく質含有量と脂肪分解率を比較したところ(図4)たんぱく質含有量との比較の方がより強い相関関係がみられ、低品質ののりが成分抽出に有利であることが明らかになった。現在ののりの産地では値が付かないのりは大量に廃棄されている。今後このようなのりの活用法として、インスリン様作用成分抽出素材としての活用が期待される。

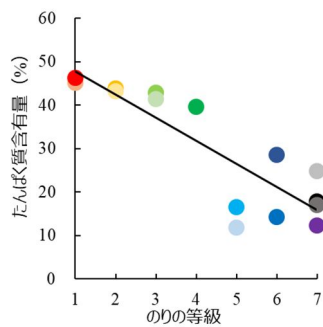


図2 のりの等級とたんぱく質含有量

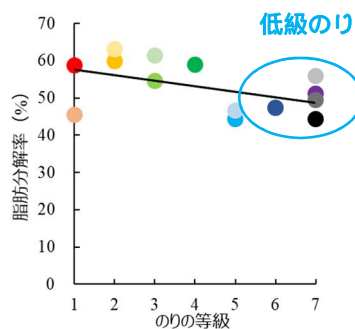


図3 のりの等級と脂肪分解率

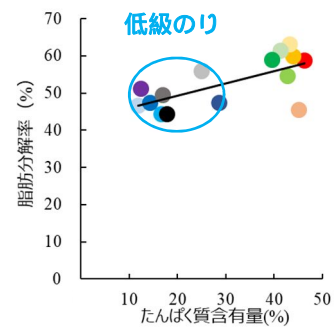


図4 たんぱく質含有量と脂肪分解率

(2) のり由来成分のインスリン様作用成分の分離・精製

作用成分精製の効率化

これまで作用成分の精製を目的に研究を行ってきたが、さらに作業の効率化ならびに作用成分の情報収集のためにカラムクロマトグラフィーで得られた画分について吸収極大を調べた。その結果、カラムクロマトグラフィーで分画した画分から得られた吸収極大波長を用いてまとめて(図5)活性を調べたところ(図6)吸収ピークと一致し、さらに活性が強まっているため、活性成分の精製を効率的に進めることができた。

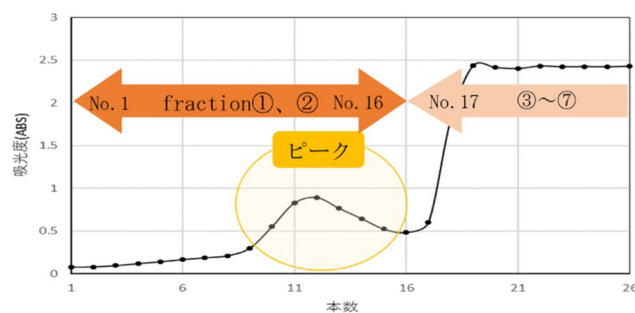


図5 ゲルクロマトグラフィーによる分画と吸光度

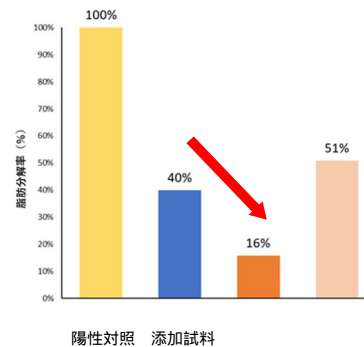


図6 ゲルクロマトグラフィー分離画分の脂肪分解率

作用成分の同定

先の研究で集めた精製成分について ODS カラムによりさらに精製した後に、NMR 解析を行った。その結果、単一成分ではなくさらなる精製が必要である可能性示された。

(3) 血糖降下作用に関する指標の評価

糖質消化酵素阻害作用への影響は4種類の等級より抽出した75%エタノール抽出上清を用いて評価した。その結果、どの等級でも同じ程度で活性を強く阻害する試料はなかった(図7および8)。つまり、のり由来成分は糖質消化酵素阻害作用で血糖を下げていたのではないことが明らかになった。続いて、インスリン様作用成分は水溶性であることから、H-ORAC法で抗酸化能を評価した結果(図9)等級が高い方がより抗酸化能は高く、インスリン様作用成分は抗酸化能

を有する成分ではない可能性が示された。次にのり成分を抽出する過程で得られる水溶性食物繊維粗抽出画分について等級との関係を調べた結果、等級が低い方がより多く含まれる可能性が示された（図 10）。

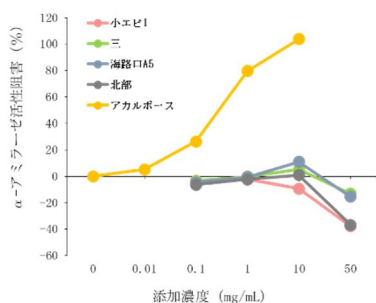


図 7 α-アミラーゼ活性への影響

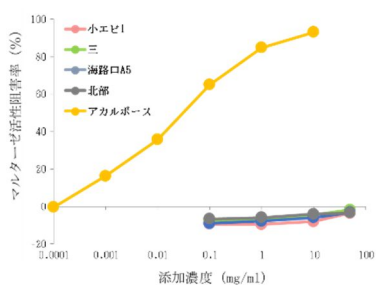


図 8 マルターゼ活性への影響

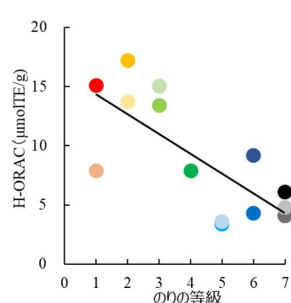


図 9 等級と抗酸化能

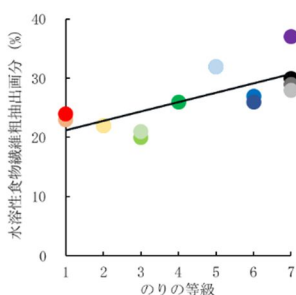


図 10 等級と水溶性食物繊維粗抽出画分

以上の結果から、のりに含まれるインスリン様作用成分は、等級の低いのりに多く含まれること、糖質消化酵素阻害作用は見られないこと、抗酸化能は低いことが明らかになった。本研究では、インスリン様作用成分の同定には至らなかったが、効率的に精製を進めるために重要な指標を得ることができた。今後さらに研究を進めて、インスリン様作用成分の同定ならびに分析法の確立を行いたいと考えている。

等級比較の結果から、品質が高いのりはたんぱく質や抗酸化成分が、品質が低いのりは水溶性食物繊維粗抽出画分やインスリン様作用成分が多く含まれる可能性が示された。このことから、のりはどの等級でも血糖値を穏やかにする作用を有する有用な食品であることが示された。これからののりを食べることで、ヒトの健康に役立つだけでなく、日本の食文化の一食材として利用されることを期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 友寄 博子、浅川牧夫
2. 発表標題 海苔由来低分子画分の長期摂取による高インスリン血症改善作用
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 友寄博子、大田黒 香織、阿蘇品里紗、市木美帆、野坂瑠璃子
2. 発表標題 海苔の成分組成に及ぼす品質差による影響
3. 学会等名 日本未病システム学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 友寄博子
2. 発表標題 食品成分による生体機能調節の可能性
3. 学会等名 糖尿病学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 友寄博子、浅川牧夫
2. 発表標題 海苔由来低分子画分の長期摂取による高インスリン血症改善作用
3. 学会等名 日本機能性食品医用学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 三上浩司、アダムス英理、阿部真比古、小田達也、小林正裕、流石啓次、里見正隆、高橋潤、瀧尾進、田中竜介、玉城泉也、寺田竜太、友寄博子、美藤友博、福井洋平、藤田雄二、藤吉栄次、松田竜也、三根崇幸、宮田昌彦	4. 発行年 2019年
2. 出版社 GlobeEdit	5. 総ページ数 355
3. 書名 アマノリ生物学の最前線	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	池田 剛 (IKEDA TSUYOSHI) (80295138)	崇城大学・薬学部・教授 (37401)	