

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18510206
 研究課題名（和文） 糖尿病予防素材としての利用の面からみた日本で保存される桑葉品種の遺伝資源活用
 研究課題名（英文） Application for genetic resource of mulberry cultivars variety in Japan seen in respect of use as diabetes prevention material
 研究代表者
 八並 一寿（YATSUNAMI KAZUHISA）
 玉川大学・農学部・准教授
 研究者番号：40182357

研究成果の概要：

抗糖尿病活性の高いクワ品種を選抜し、その増産方法を確立した。 α -グルコシダーゼ阻害活性(α -GI)が強く、1-デオキシノジリマイシン(DNJ)の高い桑品種の選抜を試みた。親木の DNJ は、7月～9月は同程度、10月に低下、幼木の DNJ は親木より低く、親株の葉位 16 位以下の葉の含量に相当した。幼木で最も DNJ 含量が高いのは、品種 513 であった。品種 513 を育成し、育成 3 年目以降、7月に一旦 90cm の高さで切り揃え、その後約 1 か月育成した枝の先端付近の葉を採取することで、糖尿病予防効果の高い桑葉の生産が可能と結論した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,300,000	0	1,300,000
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	420,000	3,120,000

研究分野：食品機能学

科研費の分科・細目：複合新領域・資源保全学

キーワード：桑葉、 α -グルコシダーゼ、1-デオキシノジリマイシン、品種、阻害、含量、糖尿病、遺伝資源

1. 研究開始当初の背景

(1) 農林水産省 HP 統計データを見ると、わが国の養蚕生産の生産水準は、平成 12 年の水準を 100 とした場合、昭和 35～45 年までは、およそ現在と比較し 900 倍も高い水準であった。昭和 45 年以降、平成 2 年までは、水準が急激に低下した。平成 15 年の水準は、

昭和 35 年と比較してわずか 1/140 と激減し、養蚕業は壊滅したとあってよい。この原因は、農家が繭を生産しても利益が出ず、生産意欲が減退していると考えられ、手を入れずに放置される桑園も多い。

(2) 初期の糖尿病患者には、経口糖尿病薬として α グルコシダーゼ阻害薬 (α -GI 薬) が

処方されるが、放屁、腹部の膨満感などの副作用がある。食品由来の α -GI 成分は、医薬品のような強力な阻害作用はないが、おだやかな作用で糖の吸収を抑制するので、糖尿病患者でも継続的な摂取が期待される。

(3) 抗糖尿病活性の高いクワ品種が選抜され、増産方法が確立されれば、これまで遊休桑園であった農地にも、新たに見出された品種を生産しようとする農家が増え、結果的に養蚕業の再建・復興となる研究である。

(4) これまでの研究がいずれも蚕の餌を前提とした研究であり、本研究のようにヒトに与えることを前提とした検討されていない。

(5) 1品種クワの成分を分析した報告はあるが、数百種にもおよぶ膨大な品種を解析した例はない。

(6) 阻害活性と阻害成分である 1-デオキシノジリマイシン (DNJ) 含量の関連を考察した研究はないので、こうした研究より機能性の高いクワ数品種が選出されれば、養蚕業の復興につながると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 京都市芸繊維大の保存桑園に保存されている、約250種のクワについて、 α -GI 活性とDNJを測定し、保存品種の活性と代表的阻害成分の含量の実態を調査する。

(2) 各種桑葉の抗糖尿病効果として、 α -GI 活性と有効成分DNJ含量との関連を明らかにする。

(3) 機能性の高い品種数種に限定して、季節的、部位的消長を明らかにする。有用品種として選定した桑品種は、挿し木による増殖実験を行ない、その増殖適正を検討する。

(4) 幼木の桑葉の採取を行い、優良な形質(高い阻害活性やDNJ含量)が保存されているかについて、資源保護学・遺伝的見地から検討を加える。また、在来品種で機能性を高める収穫法を確立し、有用選択品種の増殖技

術の開発も行う。

(5) 奄美・沖縄地方に分布するシマグワは、抗酸化性が強く、本土では冬場に立ち枯れるために栽培出来ない。本土では、冬場に桑葉を栽培することはできないが、これらの地域に自生シマグワの食品機能性を明らかに出来れば、離島の産業振興、国内の桑葉の安定供給の面から意義深い。そこで、沖永良部島、徳之島に自生するシマグワの α -GI 活性やDNJ含量などより、そのシマグワの食品機能性を検討した。

3. 研究の方法

(1) 試料調製 保存品種やシマグワの葉を、採取し、ビニール袋に密閉し冷凍し研究室まで輸送した。この葉数枚を混合し、これに75%エタノールを加え、ホモジナイザーでホモジナイズ後、3000rpm で遠心分離を行い、この上清を保存溶液とした。

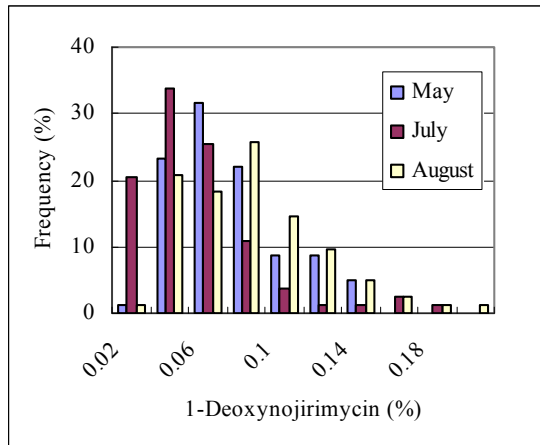
(2) DNJ量 保存溶液の限外濾過物を、蛍光試薬で誘導化後HPLC法にてDNJを定量した。カラムは、TSKgel ODS-120T(東ソー社製; 4.6mmI. D. ×150mm)を、検出は254nmで、移動層は、アセトニトリルと0.1%酢酸を1:1をA液、メタノールをB液として行った。

(3) α -GI 活性の測定用試料溶液は、ラット小腸粉末より調製した酵素を用い、基質はマルトースとし、37°Cで反応させ遊離したグルコース量をグルコース-CII-テストワコーで測定し算出した。

(4) 抗酸化性は、DPPH ラジカル消去活性を用い、乾燥葉1gに含まれる抗酸化性分が400 μ MDPPHの520nmの吸光値を50%減少させるのに相当するTrolox量(μ M)で表示した。ポリフェノールはフォーリン-デニス法で測定した。

4. 研究成果

(1) 247品種の葉中のDNJ含量調査した結果、5月では0.05%前後、7月は0.08%前後、8月は0.07%前後が多かった(図1)。5月、7月、8月の平均値は、0.062%、



0.063%、0.081%であり、7~8月に収穫した葉のDNJ含量は高い。桑の系統により差は、認められなかった。

図1、5月、7月、8月の葉のDNJ含量
7月、8月、9月、10月で α -GI活性を比較すると、全部の平均阻害活性は54.9%で、各品種とも60.1~65.0%の出現率が最も高かった。系統による阻害活性の差を認めず、葉位1~5と6~10の活性は高い傾向であった。

(2) ① α -GI活性と有効成分DNJ含量との関連を、表1に示した。ピアソンの相関係数(r)は、7月のカラヤマグワ系で高く、他の系統でも7月のrは、5月や8月よりも高い。

	Correlation coefficient (r)			
	May	July	August	whole
<i>M. bombycis</i>	0.462	0.651	0.54	0.506
n	29	35	41	105
<i>M. alba</i> L.	0.662	0.901	0.178	0.563
n	16	13	8	37

<i>M. latifolia</i>	0.63	0.529	0.378	0.456
n	35	25	18	78
whole	0.545	0.665	0.46	0.499
n	80	73	67	220

②葉位6~10の α -GI活性とDNJ含量のrは0.888で採集時期と葉位が同一であれば、高い相関を示すことが示唆された。

以上までで、判明したより効果的な桑葉の採取法は、品種が不明あるいは異なる場合でも、1) 同一の時期に採取し他の季節のものを混合しない、2) 先端葉と枝の下葉とは混合しないことが重要である。

(3) 3年間京都工芸繊維大学で育成される特定品種の α -グルコシダーゼとDNJの消長を調査したところ、品種72や品種95の阻害活性は、測定期間中比較的一定の範囲であったが、DNJ量は高い月が見られる年とほぼ一定の範囲の年に分かれた。品種152や品種170は、活性のDNJ量も月によりばらばらであった。品種513や品種537は、おおむね阻害活性が強いとDNJ量が高い傾向であったが、測定年により検出されるDNJのレベルは異なっていた。2品種(品種95、品種477)の親株の α -GI活性は、他の品種の親株より高かった。2品種(品種362、品種437)は、親株とその幼木の α -GI活性は、ほぼ同じ消長を示したが、他はいずれも親株の阻害活性が高かった。季節的消長を見ると、親株で7、8、9月の α -GI活性が高く、幼木では7、9、10月が高かった。親株のDNJ含量は、7月から9月がほぼ同程度で、10月になるにつれて低下した。幼木のDNJ含量は、親株より低く、親株の葉位16位以下の含量に相当した。幼木で最もDNJ含量が高いのは、品種513であった。品種513を育成し、育成3年目以降、7月に一旦90cmの高さで切り揃え、その後約1か月育成した枝の先端付近の葉を採取することで、糖尿病

予防効果の高い桑葉の生産が可能と結論した。

(4) 沖永良部島のシマグワを調査したところ、桑椹の結実時期が8月中～下旬と、本土と明らかな違いが見られた。葉の形体は丸葉と切葉が存在し、DNJは8月と12月と比較すると、8月採取の桑葉の含量が高かった。同じ地域で採集した桑葉でも、DNJ含量や α -GI活性に大きな差があることから、沖永良部島に自生するシマグワには、複数の系統が存在する可能性が示唆された。徳之島に自生するシマグワを調査したところ、島内3地区のDNJの消長では、2月採取のDNJ量は、5月より高かったが、8月とは同程度が2か所、1試料は8月が高かった。2月の抗酸化性は、5月や8月より高かった。2月採取の葉のDNJ含量は8月と同程度で、かつ抗酸化性が高いので、本土で生産が出来ない冬季に機能性の高い桑葉の生産が可能であると考えた。

(5) 沖永良部島と徳之島に自生するシマグワは、本土(京都)での栽培品種と同様か、やや強い抗酸化性を示した。シマグワの α -GI活性は、本土の6月や10月採取より高かった。シマグワのDNJ含量は、8月が12月より高い傾向を示した。以上より、シマグワは、抗酸化性、 α -GI活性、DNJなどの分析結果より、本土での栽培品種と食品機能面で同等な健康食品素材と考えた。

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)

- ①一田昌利、八並一寿、小野寺敏、徳之島に自生する「シマグワ」と島で持続可能な健康増進の試み、2008年度日本総合医学会総合医学論文集、4、68-73、(2008)、査読無
- ②八並一寿、一田昌利、小野寺敏、沖永良部島に自生する有望な桑資源と葉草・島の特産品について、Food Style 21、12、77-

82、(2008)、査読無

- ③Kazuhisa Yatsunami、Masatoshi Ichida、Satoshi Onodera、The relationship between 1-deoxyojirimycin content and α -glucosidase inhibitory activity in leaves of 276 mulberry cultivars (Morus spp.) in Kyoto, Japan、62、63-66、(2008)、査読有
- ④八並一寿、一田昌利、小野寺敏、沖永良部島の食材・桑と養蚕・自生する葉草・島の食品産業について、2007年度日本総合医学会総合医学論文集、3、60-67、
- ⑤八並一寿、一田昌利、小野寺敏、同一採取日・葉位での桑品種の α -グルコシダーゼ阻害活性と1-デオキシノジリマイシン含量の相関と葉位の違いによる阻害活性、日本未病システム学会雑誌、13、338-340、(2007)、査読無
- ⑥八並一寿、一田昌利、小野寺敏、未病者への応用が期待される桑葉の有効成分の研究-1-デオキシノジリマイシンの高い桑品種の選択とその応用法-、日本未病システム学会雑誌、13、66-68、(2007)、査読無

[学会発表] (計12件)

- ①八並一寿、一田昌利、小野寺敏、奄美・沖縄地方で年中収穫可能な自生シマグワの健康食品素材としての可能性、国際食品機能学会、2009年5月20日、東京
- ②八並一寿、一田昌利、小野寺敏、徳之島に自生するシマグワ葉中の1-デオキシノジリマイシン含量と抗酸化活性の比較、日本薬学会、2009年3月28日、京都
- ③八並一寿、一田昌利、小野寺敏、沖永良部島に自生するシマグワの1-デオキシノジリマイシン含量と α -クルコシダーゼ阻害活性について、蚕糸・昆虫機能利用学術講演会日本蚕糸学会、2009年3月22日、東京
- ④八並一寿、一田昌利、小野寺敏、2004~2007年における京都工芸繊維大で育成される特定品種の桑葉の α -グルコシダーゼ阻害活性と1-デオキシノジリマイシン(DNJ)の消長、日本蚕糸学会関東支部大会・蚕糸・昆虫機能利用学術講演会、2008年11月20日、茨城
- ⑤八並一寿、一田昌利、小野寺敏、京都工芸繊維大学の保存桑品種の挿し木増殖とその親株の葉の α -クルコシダーゼ阻害と1-デオキシノジリマイシン含量の比較、日本食品科学工学会、2008年9月6日、京都
- ⑥八並一寿、一田昌利、小野寺敏、沖永良部島に自生するシマグワの食品機能性の評価(第1次調査)、国際食品機能学会、2008年5月21日、東京
- ⑦八並一寿、一田昌利、小野寺敏、 α -グルコシダーゼと1-デオキシノジリマイシンを指

標とした京都工芸繊維大学に保存される各種桑葉の季節変化による機能性評価、日本代替・相補・伝統医療連合会議(JACT 日本統合医療学会(JIM)合同大会、2007年12月1日、宮城

⑧八並一寿、一田昌利、小野寺敏、京都工芸繊維大学保存桑園における保存品種の葉位別の桑葉抽出物の α -グルコシダーゼ阻害活性について —2006年7月~10月の消長一、日本蚕糸学会関東支部第58回大会蚕糸・昆虫機能利用学学術講演会、2007年11月17日、東京

⑨八並一寿、一田昌利、小野寺敏、同一採取日・葉位での桑品種の α -グルコシダーゼ阻害活性と1-デオキシノジリマイシン含量の相関と葉位の違いによる阻害活性、日本未病システム学会、2007年11月2日、石川

⑩八並一寿、一田昌利、小野寺敏、各種桑葉の1-デオキシノジリマイシン含量と α -グルコシダーゼ阻害活性の関連、日本生薬学会、2007年9月14日、愛知

⑪八並一寿、ビジネスリーダーに必要な機能性食品の知識 第1報—桑葉の食品機能を中心として—、日本ビジネス・マネジメント学会、2007年6月17日、神奈川

⑫八並一寿、一田昌利、小野寺敏、各種クワ品種における葉中の1-デオキシノジリマイシン含量分布の季節的消長、国際食品機能学会、2007年5月30日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八並 一寿 (YATSUNAMI KAZUHISA)
玉川大学・農学部・准教授
研究者番号：40182357

(2) 研究分担者

小野寺 敏 (ONODERA SATOSHI)
昭和薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：10169352

一田 昌利 (ICHIDA MASATOSHI)
京都工芸繊維大学・繊維学部・准教授
研究者番号：40223101