

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350175

研究課題名(和文) 果汁飲料のインスリン抵抗性に及ぼす影響解明

研究課題名(英文) Fruit juice and its water insoluble fraction on insulin resistance

研究代表者

杉浦 実 (SUGIURA, Minoru)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹茶業研究部門カンキツ研究領域・ユニット長

研究者番号：10355406

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、果汁に含まれる糖質を液体として摂取した場合のインスリン抵抗性や糖尿病の発症・進展に及ぼす影響について実験動物を用いた検討を行うとともに、果物由来の機能性成分を豊富に含む不溶性画分を再添加することによる予防効果を正常及び糖尿病モデル動物を用いて検討した。その結果、ミカン果汁を急性投与した後の血糖値上昇は果汁中の不溶性画分の含有量が多いほど抑制されること、不溶性固形物を含むミカン果汁の慢性投与は糖尿病モデルマウスのインスリン抵抗性を改善することが明らかになった。健康を指向した果実飲料の製造においては、不溶性画分を除去せずにより生の果実品質に近い製品開発が重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：It is widely known that the ingestion of fruit juice is one of the risk factor for developing insulin resistance. In this study, the effects of water insoluble fraction of fruit on postprandial blood glucose level and insulin resistance of normal and type 2 diabetic mice were examined. Postprandial blood glucose level after single oral administration of clear fruit juice not including water insoluble fraction was significantly inhibited in a dose-dependent way by adding water insoluble fraction of fruit. On the other hand, although chronic administration of clear fruit juice did not affect insulin resistance of type 2 diabetic mice, fruit juice including water insoluble fraction ameliorated insulin resistance in a dose-dependently manner. These results suggest that water insoluble fraction of fruit is an important factor for inhibiting postprandial blood glucose elevation and/or preventing insulin resistance.

研究分野：食品科学

キーワード：果汁 不溶性画分 インスリン抵抗性 糖尿病 糖負荷試験

1. 研究開始当初の背景

果物にはビタミン・ミネラル・食物繊維等の健康の維持・増進に重要な栄養成分以外にも、カロテノイドやフラボノイド類といった植物性二次代謝産物（機能性食因子）が豊富に含有されている。近年、欧米を中心とする栄養疫学的研究から、これら機能性成分の摂取が様々な生活習慣病の予防に有効である可能性が明らかになりつつある。

一方、糖尿病についてはまだ報告数が少ないが、幾つかの大規模疫学研究の結果では、果物の摂取が糖尿病予防に有用との知見が得られている。またこれまでに我々は、一般消費者を対象にしたアンケート調査からウンシュウミカン（以下、ミカン）を高頻度に摂取している人達では糖尿病の有病率が有意に低いこと（Sugiura et al, 2002）、またミカン産地住民を対象にした栄養疫学調査（三ヶ日町研究）からミカンに多く含まれているカロテノイド色素であるβ-クリプトキサンチンの血中濃度が高い人では糖尿病の危険因子であるインスリン抵抗性やメタボリックシンドロームのリスクが低いこと（Sugiura et al, 2006, Sugiura et al, 2008）、糖尿病患者における肝機能障害リスクが有意に低い（Sugiura et al, 2006）ことなどを明らかにしてきた。

また糖尿病モデル動物を用いた実験的検討からも、ミカン濃縮果汁を添加した飼料を摂取させると2型糖尿病モデル動物であるGKラットのインスリン抵抗性を改善すること（Sugiura et al, 2006）、ストレプトゾトシン誘発性の1型糖尿病ラットの肝臓における酸化ストレス（Sugiura et al., 2006）や動脈硬化の進展を顕著に抑制すること（Kamata et al, 2005）等を明らかにしてきた。これらミカンによる抗糖尿病作用にはビタミンやカロテノイド、フラボノイド類等の抗酸化物質の関与が考えられるが、我々は最近、β-クリプトキサンチンが自然発症糖尿病モデル動物のインスリン抵抗性を改善し、ミカン中の主要な活性本体であることを見出している。

このように近年の国内外における様々な研究から、それまで糖尿病の危険因子と捉えられることが多かった果物が逆に予防因子になる可能性のあることが明らかになりつつある。また果物は生果で食する場合においては、他の食品に比べて食後血糖値の上昇が穏やかである「低GI (Glycemic Index) 食品」と位置付けられており、低GI食品の摂取は体重増加や肥満、また糖尿病の予防に有効である可能性が指摘されている。

一方、このような果物の健康効果をより手軽に享受できる方法として果汁飲料があり、近年、生果だけでなく果汁飲料の健康への有用性についても、数多くのヒト介入試験が行われるようになってきた。特に脂質代謝や高血圧などの循環器系疾患、酸化ストレス防御への有用性が数多くの研究から示されている。

しかしながら、果汁に関しては近年、糖尿病との危険性が指摘される論文が多く報告されており、WHOも果汁飲料の摂取はおそらく体重増加や肥満のリスク要因になると指摘している。Bazzano (2008)らの研究では、1日当たりの果汁飲料の摂取回数が1回増えると糖尿病の発症リスクがおおよそ18%増加すると試算されている。しかしながら、この研究で評価されている飲料が100%果汁なのか、あるいはソフトドリンクなどのビバレッジ類を含んだものなのかは明確には示されていない。同様に他の研究でも、加工後に糖質類を添加された果汁含有飲料あるいはソフトドリンク類でも検討が行われ、何れもインスリン抵抗性と正の相関が示されており、果汁を含むソフトドリンク類の糖尿病や肥満に対する健康への悪影響が懸念されている。

以上のように果物は様々な生活習慣病の予防に有用と考えられるが、インスリン抵抗性を基盤とする糖尿病に関しては、生果では予防効果が期待できるものの果汁飲料ではむしろリスク要因に繋がる可能性が指摘されている。その原因として、果汁飲料として加工する際に本来果物が有する食物繊維やカロテノイド・フラボノイド類などの生活習慣病の予防に重要な機能性成分の喪失が起きること、また短時間で多量の糖質を液体で摂取することが糖尿病の最大の危険因子であるインスリン抵抗性を引き起こすためではないかと考えられている。

2. 研究の目的

果汁飲料の製造工程においては、その品質の向上や安定性のため、不溶性食物繊維の多くが取り除かれ、それに伴いカロテノイドやフラボノイド類の喪失も起きることがこれまでに判明している。そのため、同じ量の果物でも生果として摂取する場合と果汁で摂取する場合とでは、糖質の摂取量がほぼ同じであっても、果汁では機能性成分が豊富な不溶性画分の摂取量が激減してしまう。また生果と同じ量の機能性成分を果汁から摂取しようとした場合、当然ながら過剰な糖質の摂取が問題となる。そこで本研究課題では、果物が本来有する生活習慣病予防という有益な面と、糖質を多く含む食品を飲料として摂取することによる糖尿病の危険因子としての負の側面の可能性について、疾患モデル動物等を用いた実験的検討から両者の食品形態による違いを明らかにする。生果と果汁飲料という食品形態の違いによる相反する健康影響が、糖含有飲料の摂取による悪影響と食物繊維やカロテノイド・フラボノイド類などの機能性成分の損失によるものとする仮説を実験的に検証する。具体的にはミカンの搾汁から調製され、食物繊維やカロテノイド・フラボノイド類の機能性成分を殆ど含有しない清澄果汁と、搾汁・加工の工程で分離されたβ-クリプトキサンチンやパルプ等の機能性成分が豊富な不溶性画分を再添加し

た果汁を用い、両者の糖代謝に及ぼす影響を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究課題においては果汁飲料としてミカン果汁を対象とする。通常の製造方法であるインライン搾汁機で搾汁されたミカン原料果汁は、その後、フィニッシャー濾過された後、更に遠心処理により不溶性固形物（パルプ）が除かれ、100%ミカン果汁として流通する。本研究では、100%ミカン果汁を珪藻土濾過することにより得られる不溶性成分を殆ど含まない清澄果汁、及び原料果汁から篩別（フィニッシャー濾過）と遠心操作により除去された不溶性固形物（フィニッシャーパルプ及び遠心パルプ）を実験に用いる。清澄果汁及びそれと同量の糖質を含むコントロール果汁を正常マウス及び自然発症糖尿病モデルマウスに投与し、インスリン抵抗性に及ぼす影響を評価するとともに、不溶性固形物のコントロール果汁への再添加による効果を検証する。

(1) 正常動物における果汁の急性単回投与による血糖値上昇への影響

飲料メーカーにおいて製造されたミカン果汁から珪藻土濾過により清澄果汁を調製するとともに、清澄果汁と同じ組成の糖質のみを含む糖質溶液を調製する。正常動物に同じ量の糖質を含有するそれぞれの溶液を強制胃内投与し、投与後の血糖値の上昇変化を比較する。また同じ量の糖質を含有する100%ミカン果汁についても同様の急性単回投与試験を行い、投与後の血糖値変化を測定する。糖質のみの溶液、清澄果汁、及び100%ミカン果汁の間で投与後の血糖値変化がどのように異なるか比較検討を行う。次に、清澄果汁に不溶性画分を一定量添加し、糖質摂取による急性的な血糖値上昇がミカン果汁の製造工程で取り除かれた不溶性画分を添加することによりどの程度抑制されるか、またその有効な不溶性画分の添加量について検討を行う。

(2) 正常および自然発症糖尿病モデル動物における果汁の連続投与による糖・脂質代謝とインスリン抵抗性への影響

上記(1)の研究で調製した清澄果汁、及び清澄果汁と同量の糖質を含有する糖液を各濃度に飲料水に添加することで正常動物に連続投与を行う。投与8週目に各群の動物をブドウ糖負荷試験（インスリン抵抗性試験）に供する。ブドウ糖強制投与後の血糖値の上昇変化を計測することでインスリン抵抗性を評価する。実験後、更に2週間の投与を継続し、投与開始から10週間後に全採血した後、血中のグルコース値や血清脂質を測定するとともにインスリン等のサイトカイン類についても分析を行う。これらの実験により、飲料水から糖質を長期間連続的に摂取することによる正常マウスでの糖・脂質代謝や体重変化、インスリン抵抗性への影響を調

べるとともに清澄果汁中に含有されるタンパク質やビタミン・ミネラル類の複合的な影響を比較検討する。次に上記の動物実験と同様に、糖・脂質代謝や体重変化、インスリン抵抗性に対する影響について、自然発症糖尿病モデル動物を用いて検討を行う。これらの実験により、飲料水から糖質を長期間連続的に摂取することの影響について、自然発症糖尿病モデル動物と正常動物とで比較検討する。

上記の実験結果から、糖・脂質代謝や体重変化、インスリン抵抗性に影響する糖質の摂取量を確認し、次に同量の糖質を含むミカン果汁やあるいは不溶性画分を添加することによるインスリン抵抗性の予防効果を検証する。

4. 研究成果

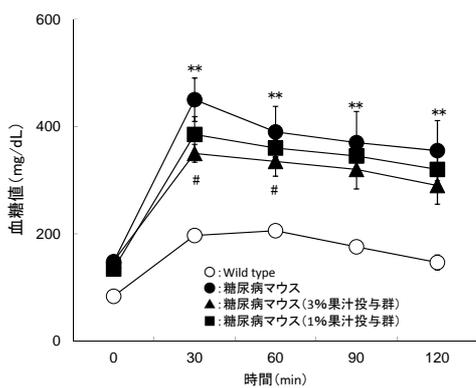
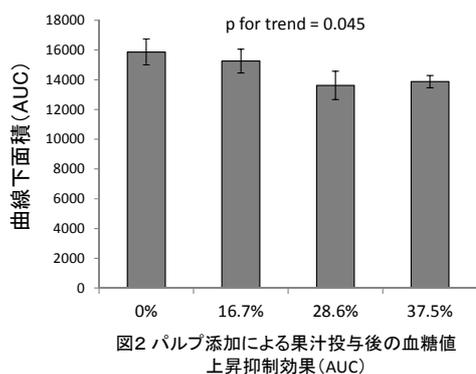
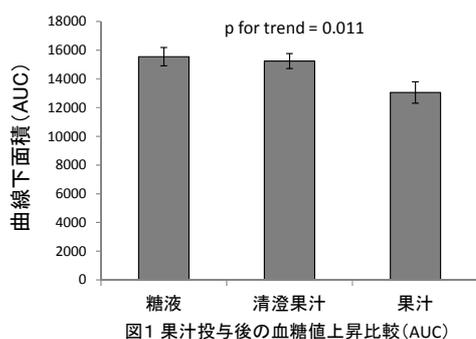
正常マウスに100%ミカン果汁(Brix 10.5)、珪藻土濾過により調製した清澄果汁及びこれらと同量の糖質（ブドウ糖、果糖及びショ糖）を含む対照糖質液を20ml/kgの用量で単回経口投与し、投与後の血糖値変化を投与前、投与後30、60、90、120及び180分後に測定するとともに投与180分後までの曲線下面積であるAUC値を求めた。その結果、各群間での血糖値に有意な差はみられなかったが、AUC値は糖液>透明果汁>みかん果汁の順に低くなる傾向が認められた（傾向性 $P=0.011$ 、図1）。

次にみかん果汁に不溶性画分であるパルプを各濃度（0%、16.7%、28.6%、及び37.5%）で添加した果汁と通常のみかん果汁で比較したところ、不溶性画分の添加量が多いほどAUC値は低くなる傾向が認められた（傾向性 $P=0.045$ 、図2）。不溶性画分の添加量多いほど血糖上昇は有意に抑制された。一方、正常及び糖尿病モデルマウスに果汁と同量の糖質を含む糖液を16週間慢性投与しても、2gグルコース負荷試験で評価したインスリン抵抗性は飲料水のみを投与した対照群と顕著な差はほとんど認められず、インスリン抵抗性が増悪することはなかった。これらの結果から、本研究で用いた糖尿病モデルマウスに果汁を長期投与しても糖尿病の悪化が観察されないことが判明した。

これに対し、果汁を慢性投与した糖尿病モデルマウスのインスリン抵抗性は有意に改善され、果汁中のミカン成分あるいは不溶性食物繊維等がインスリン抵抗性を改善する作用のあることが示唆された（図3）。

これまでミカンに特徴的に多く含まれるカロテノイド色素である β -クリプトキサンチンに糖尿病モデルマウスのインスリン抵抗性を改善させる作用のあることが既に実験的に明らかになっていることから、果汁中の不溶性画分に含有される β -クリプトキサンチンによる効果であることが示唆された。またミカン産地住民を対象にした栄養疫学調査から、血中 β -クリプトキサンチン高値

群では、2型糖尿病、脂質代謝異常症、肝機能異常症の発症リスクが有意に低いことが明らかになっており、 β -クリプトキサンチンには肝機能を維持することでインスリン抵抗性を改善し、糖脂質代謝を正常化させる作用のあることが示唆される。また β -クリプトキサンチン以外にも不溶性画分に含有される食物繊維やフラボノイドの作用についても今後、検証する必要がある。



<引用文献>

① Sugiura M, Matsumoto H, Yano M. Cross-Sectional Analysis of Satsuma mandarin (Citrus unshiu Marc.) Consumption and Health Status Based on a Self-Administered Questionnaires. *Journal of Health Science* 48, 2002, 366-369

② Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, Kato M, Ohshima M,

Nagao A. Serum carotenoid concentrations are inversely associated with serum aminotransferases in hyperglycemic subjects. *Diabetes Research and Clinical Practice* 71, 2006, 82-91

③ Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, Kato M, Ohshima M, Nagao A. The homeostasis model assessment-insulin resistance index is inversely associated with serum carotenoids in non-diabetic subjects. *Journal of Epidemiology* 16, 2006, 71-78

④ Sugiura M, Nakamura M, Ogawa K, Ikoma Y, Matsumoto H, Ando F, Shimokata H and Yano M. Associations of serum carotenoid concentrations with metabolic syndrome: Interaction with smoking. *British Journal of Nutrition* 100, 2008, 1297-1306

⑤ Sugiura M, Ogawa K, Yano M. Effect of chronic administration of fruit extract (Citrus unshiu Marc.) on glucose tolerance in GK rats, a model of type 2 diabetes. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70, 2006, 293-295

⑥ Sugiura M, Ohshima M, Ogawa K, Yano M. Chronic administration of Satsuma mandarin (Citrus unshiu Marc.) improves oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat liver. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 29, 2006, 588-591

⑦ Kamata K, Kobayashi T, Matsumoto T, Kanie N, Oda S, Kaneda A, Sugiura M. Effects of chronic administration of fruit extract (Citrus unshiu Marc.) on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 28, 2005, 267-270

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

① Sugiura M, Nakamura M, Ogawa K, Ikoma Y and Yano M. High serum carotenoids associated with lower risk for elevated serum alanine aminotransferase among Japanese subjects: Mikkabi prospective cohort study. 査読有、*The British Journal of Nutrition* 115, 2016, 1462-1469 DOI: 10.1017/S0007114516000374

② Sugiura M, Nakamura M, Ogawa K, Ikoma Y and Yano M. High serum carotenoids associated with lower risk for type 2 diabetes among Japanese subjects: Mikkabi prospective cohort study. 査読有、*BMJ Open Diabetes Research & Care* 3, 2015, e000147 DOI: 10.1136/bmjdr-2015-000147

③ Sugiura M, Nakamura M, Ogawa K, Ikoma

Y and Yano M. High serum carotenoids associated with lower risk for metabolic syndrome and its components among Japanese subjects: Mikkabi prospective cohort study. 査読有、The British Journal of Nutrition 114, 2015, 1674-1682 DOI: 10.1017/S0007114515003268

④ Sugiura M β -Cryptoxanthin and the risk for lifestyle-related disease: findings from recent nutritional epidemiologic studies. 査読有、Yakugaku Zasshi 135, 2015, 67-76 DOI: 10.1248/yakushi.14-00208-5

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉浦 実 (SUGIURA, Minoru)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹茶業研究部門 カンキツ研究領域・ユニット長

研究者番号：10355406