

小豆ポリフェノールを有効成分とする糖尿病の予防につながる 糖・脂質代謝異常改善剤の開発

佐藤 伸¹⁾ *、片岡沙織¹⁾、牧 道子¹⁾、服部 清澄¹⁾、蔵崎正明¹⁾

1) 青森県立保健大学、2) 株式会社遠藤製館、3) 北海道大学

Key Words ①小豆ポリフェノール、②糖・脂質代謝、
③AMP 活性化プロテインキナーゼ、④HepG2 細胞、⑤糖尿病モデルラット

I. はじめに

わが国の糖尿病の患者数は、境界型糖尿病を含めると 2000 万人に及ぶともいわれ、その数はさらに増えると予測されている。それゆえ、その予防・改善は急務である。AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) は、糖や脂質代謝の中心的な調節因子としての役割を果たすことから糖尿病や肥満の予防・改善のターゲットの一つとして注目されている。この酵素は、「エネルギーセンサー」ともいわれ、ひとたび細胞内エネルギー (ATP) 量の減少を感知すると活性化し、ATP 量を回復させる働きがある。このことは、「運動をすること」と同様の効果があるといわれ、2 型糖尿病や肥満予防に有効とされている¹⁾。近年、ある種の植物ポリフェノールが AMPK を活性化することがわかってきた²⁾。小豆にも、ポリフェノールが含まれているが、AMPK の活性に関する報告はほとんどない。加えて、小豆ポリフェノールの糖尿病の予防改善に寄与する科学的エビデンスも少ない。一方、小豆あんの製造過程でポリフェノールの多く含む「渋切り水」は廃棄され、その再利用が課題となっている。

II. 目的

そこで、糖尿病でみられる糖・脂質代謝の異常に果たす小豆ポリフェノールの生理調節機能を明らかにするために、ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞や糖尿病モデルラットを用いて AMPK やインスリン情報伝達に関与するプロテインキナーゼ B (Akt) のタンパク質発現やリン酸化量を解析する。ポリフェノールの多く含む「渋切り水」の再利用し、さらに、これを土台に糖尿病予防につながる糖質・脂質代謝異常の予防改善剤の開発を目指す。

III. 研究方法

株式会社遠藤製館にて調製された原液を濃縮し、総ポリフェノール濃度として 1.0 及び 4.0 mg/ml とした。

培養細胞試験では、HepG2 細胞に①APE の総ポリフェノール濃度として終濃度が 0、0.01、0.1 及び 1.0 µg/ml となるように曝露した試験、②終濃度が 20 mM Glc 濃度になるようにし APE の 0、0.01、0.1 及び 1.0 µg/ml を曝露した試験を行った。いずれの試験も 48 時間の培養後、細胞を回収した。

動物試験は、青森県立保健大学動物実験委員会の承認を得て、すべて「青森県立保健大学動物

*連絡先：〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: s_sato3@auhw.ac.jp

実験に関する指針」に従って実施された。ストレプトゾトシン (STZ) で誘発した糖尿病モデルラット (Wistar 系雄性ラット、5 週齢) を 3 群に分け、0 (蒸留水のみ)、10 及び 40 mg/kg として APE を 4 週間、胃内強制投与した。対照群 (C 群) に蒸留水を同様に投与した。試験終了時に深麻酔下で採血し、臓器を摘出した。屠殺後、グルコース (Glc) 及びトリグリセリド (Tg) 濃度を測定した。肝臓及び HepG2 細胞をホモジネイトした後、AMPK、リン酸化 AMPK 抗体、Akt、リン酸化 Akt 抗体を用いてウェスタンブロット法によりタンパク質発現及びリン酸化量を解析した。

IV. 結果及び考察

培養細胞試験では、HepG2 細胞に APE を曝露した結果、用量依存的にリン酸化 AMPK あるいはリン酸化 Akt 量が増加した。このことから、ヒトにおいても APE は AMPK や Akt を活性化する可能性が示唆された。次に、高濃度 Glc を曝露した HepG2 細胞に APE を曝露して AMPK あるいは Akt のリン酸化の程度を検討した。その結果、AMPK のリン酸化量は APE の用量依存的に増加した。しかし、Akt のリン酸化量は増加しなかった。このことから、高濃度の Glc に曝された場合、APE 添加により AMPK 活性は上昇するが、Akt 活性は上昇しないことが示唆された。

動物試験では、0 mg/kg 群に比べて 40 mg/kg 群の肝臓、腎臓及び心臓の相対重量は有意な差はみられなかったが、やや低下する傾向が認められた。40 mg/kg 群の Glc 及び Tg 濃度は 0 mg/kg 群に比べて有意な差はみられなかったが、減少傾向が認められた。APE 投与により、糖尿病ラットの肝臓中で AMPK あるいは Akt のリン酸化量の増加がみられた。また、APE 投与の有無に関わらず、糖尿病ラット群の AMPK 及び Akt タンパク質発現量には著しい差はみられなかった。この結果から、APE は糖尿病の肝臓中の AMPK を活性化し、糖代謝異常を軽減する可能性が考えられた。一方、40 mg/kg 群では Akt 活性は上昇することが明らかになった。このことから、APE 投与はインスリン情報伝達を改善する可能性が示唆された。

以上の試験結果から、APE は、糖尿病の予防改善のターゲットとされる AMPK やインスリンシグナル伝達の一経路を担う Akt を活性化することが明らかになった。今後、小豆あんの製造過程でポリフェノールの多く含む「渋切り水」は生理調節機能成分を有する「廃棄物」であり、再利用価値はさらに高まったといえる。

V. 文献

- 1) Zhang et al. AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab* 2009;9:407-16.
- 2) Hwang et al. AMP-activated protein kinase: a potential target for the diseases prevention by natural occurring polyphenols. *N Biotechnol* 2009;26:17-22.

VII. 発表

- 1) 片岡沙織、木村亜香子、服部清澄、牧道子、佐藤 伸. 小豆ポリフェノールは糖尿病モデルラット肝臓中の AMP 活性化プロテインキナーゼを活性化する. 2013 年度青森県保健医療福祉研究発表会・日本ヒューマンケア科学学会第 6 回学術集会、2013 年 12 月、青森市.
- 2) 木村亜香子、向井友花、片岡沙織、佐藤 伸. 糖尿病モデルラットの腎障害に及ぼす小豆ポリフェノール抽出液の影響. 第 60 回日本栄養改善学会学術総会、2013 年 9 月 神戸市.