

# シマニシキソウおよびモクマオウ抽出物の血糖値上昇抑制効果

豊川哲也、鎌田靖弘、照屋正映、上地美香<sup>1</sup>、新垣美香<sup>1</sup>、市場俊雄

沖縄産植物から得た抽出液、430 検体について  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を測定したところ約 50 検体が 45% 以上の阻害活性を示した。これらの素材より選定したものについて、II 型糖尿病マウスを用いて血糖値低下作用を検討した結果、シマニシキソウ抽出物とモクマオウ抽出物に強い血糖値低下作用を見いだした。

## 1 はじめに

我々は、これまでに県産資源の有効活用を目指し、糖尿病予防には各種糖類分解酵素阻害活性試験、高血圧症予防の指標のアングiotenシン変換酵素 (ACE) 阻害活性試験、ガンや老化の予防には抗酸化活性試験、美白効果にメラニン合成阻害活性試験などを行ってきた<sup>1-5)</sup>。

現在、国内では過食が原因の糖尿病疾患が増加傾向にあり、糖尿病予防の必要性が指摘されている。40 歳以上では 10 人に 1 人が糖尿病患者で、糖尿病予備軍を含めるとその総数は 1,370 万人と推計されており、さらに現在の増加傾向がそのまま続くと仮定した場合、10 年後の糖尿病有病者は男性約 520 万人、女性 560 万人、合計 1,080 万人となることが予想されることから、糖尿病を予防・治療することは現代日本社会において大きな意味を持つと考えられる<sup>6)</sup>。

本研究では、沖縄県で栽培・採取された植物抽出液について血糖値低下作用の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を測定し、その中から選定した植物抽出物を II 型糖尿病モデル動物の KK-Ay マウスに投与し血糖値上昇抑制効果を確認した。

## 2 実験方法

### 2-1 試料の調製

#### 2-1-1 素材選択用試料の調製

各試料は、当センターにて収集した植物を用いて調製した。各植物は、60 °C で 12 時間乾燥後、遠心粉砕器 (MRK-Retsch, ZM100) にて粉砕した。粉砕試料より、高速溶媒抽出装置 (日本ダイオネクス、ASE-200) で、試料重量; 2 g、抽出溶媒; イオン交換水、抽出温度; 82 °C、溶媒量; 25 ml、抽出時間 10 分、抽出回数; 2 回の条件で抽出を行った。抽出液は、遠心濃縮機で

乾燥し素材選択用試料とした。

### 2-1-2 動物試験用試料の調製

実験に供した試料は、沖縄県で栽培・採取された植物を用いた。各試料は、60 °C で 12 時間乾燥した後粉砕した。粉砕試料は、20 倍量のイオン交換水に 2 時間浸漬し、オートクレイブで 105 °C、30 分間の抽出操作を 2 回行った。さらに、限外ろ過 (排除分子量 10 K Da、富士フィルター工業) を行い、低分子側をスプレードライヤーで乾燥し投与試料を得た。

### 2-2 糖類分解酵素阻害活性試験

$\alpha$ -アミラーゼ阻害活性試験、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性試験、スクラーゼ阻害活性試験は既報のとおり行った<sup>1-5)</sup>。

### 2-3 耐消化酵素試験

ペプシンおよびパンクレアチンを用いて、耐消化酵素試験を以下の手順で行った。0.1M 塩酸緩衝液 (pH 2.0) および 200 mM ホウ酸緩衝液 (pH 8.0) に 10 mg/ml となるように試料を溶解・懸濁し、0.2% ペプシンならびにパンクレアチン溶液を 1/10 溶添加し、37 °C で 19 時間恒温振とう機で反応を行った。反応終了後、100 °C、15 分間の条件で酵素の熱失活を行い、メンブレンフィルターでろ過後、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性試験を行い、以下の式より残存活性を算出した。なお、非酵素処理溶液とは酵素溶液添加直後に熱失活を行った試料を指す。

残存活性 (%) = 消化酵素処理溶液の阻害活性 / 非酵素処理溶液の阻害活性 × 100

1 研修生

2-4 動物試験

II型糖尿病モデル動物である4週齢のKK-A<sup>y</sup>マウス雄(日本クレア株式会社を、1週間予備飼育した後、体重、血糖値が統計的に有意差がないように5群に群別した。温度22±3℃、相対湿度55±20、明暗時間12時間に設定した飼育室にて、プラスチック製ケージ(14.5×26.0×12.5 cm)を用いて1匹ずつ飼育した。飼料は固形飼料CE-2(Lot No. E2 112-K2、日本クレア(株))を、飲料水は公共水道水を自由に摂取させた。

被験試料は、マウス用金属製経口胃ゾンデを取り付けたプラスチック製ディスプレイ注射筒を用いて56日間連日強制経口投与した。投与は原則として午前中に実施した。体重、飼料摂取量および飲水量を経日的に測定した。血糖値は、測定前日より約12時間の絶食の後、尾静脈血より採血し、プレシジョン血糖測定システム(メディセンズジャパン株式会社)にて測定した。糖化ヘモグロビンは、小型HbA1c, Malb/Cアナライザー(DCA2000 システム、バイエルメディカル株式

会社)にて測定した。血清インスリンは、シバヤギインスリン測定キット(和光)にて測定した。試験最終日に、主要臓器について肉眼的に観察し、肝臓及び腎臓については臓器重量を測定した。

3 結果

3-1 素材の選定

動物試験に供する投与試料は、当センターで収集した430種類の植物や伝統食材などから糖類分解酵素阻害活性、特許および文献の有無、収穫量、県産ブランドへの可能性、食経歴などの項目を選定基準に13種類を1次選定した。選定素材および素材から得られた50%エタノール抽出液の糖類分解酵素阻害活性を表1に示す。

選定した植物は、最終的にマウスでの血糖値上昇抑制効果の確認を行うため、投与試料を大量に調製する必要がある。そのため、大量抽出、膜分離などが可能な水可溶性物質をターゲットに熱水抽出を行った。

表1 選定植物50%エタノール抽出液の糖類分解酵素阻害活性

植物名	部位	阻害活性 (%)		
		α-アミラーゼ 阻害活性	α-グルコシダーゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性
イリオモテニシキソウ	地上部	—	73.4	50.3
オオバワダン	葉	—	46.8	41.2
カンキチク	茎葉	99.7	46.4	48.6
クマツヅラ	全草	—	53.6	43.3
ゲットウ	葉	99.9	18.5	34.9
ゲンノショウコ	葉	96.8	86.5	69.2
タイモ	茎	95.1	39.6	40.1
クダモノトケイソウ	可食部	68.8	45.2	50.3
マルバアカリファ	葉	—	92.8	88.8
モクマオウ	葉	—	87.8	51.2
モモタマナ	幹	99.9	39.1	28.5
ヤマモモ	葉	99.5	56.2	39.3
ユウガオ	可食部	99.9	39.1	32.3

表2 各植物熱水抽出試料の糖類分解酵素阻害活性

植物名	部位	比活性 (%)		
		α-アミラーゼ 阻害活性	α-グルコシダーゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性
イリオモテニシキソウ	地上部	65.4	61.6	42.6
オオバワダン	葉	38.6	32.6	33.7
カンキチク	茎葉	34.6	28.9	22.8
クマツヅラ	全草	55.5	44.6	35.5
ゲットウ	葉	23.3	15.7	7.8
ゲンノショウコ	葉	78.8	75.0	44.8
クダモノトケイソウ	可食部	18.6	14.0	18.3
マルバアカリファ	葉	78.9	71.0	44.3
モクマオウ	葉	86.5	79.7	61.2
モモタマナ	幹	70.1	51.6	49.1
ヤマモモ	葉	77.5	65.9	52.0
ユウガオ	可食部	10.7	4.6	19.6
シマグワ (陽性対照)	葉	91.4	96.8	86.0

表2に選定用試料10 mg/mlでの各種糖類分解酵素阻害活性を示す。なお、ポジティブコントロールに、クワの阻害活性を測定した。抽出溶媒が50%エタノールから水に変わったことにより、カンキチク、ゲットウ、クダモノトケイソウ、ユウガオ抽出液の活性は顕著に低下し、これら植物に含まれる糖類分解酵素阻害活性物質が水に難溶性であることを示している。また、各糖類分解酵素阻害活性で50%以上の活性が認められたのは、イリオモテニシキソウ、クマツヅラ、マルバアカリファ、ゲンノショウコ、モクマオウ、モモタマナ、ヤマモモの6植物であった。

選定素材の糖類分解酵素阻害は、消化管内が反応の場になることから、pH変動や各種消化酵素にさらされるため、消化酵素のペプシンとパンクレアチンによる耐消化酵素耐性を検討した。各酵素処理後の残存活性を表3に示す。いずれの処理においても、活性の大きな低下は認められなかったことから、経口摂取によっても活性が保持されることが期待された。

糖類分解酵素阻害物質の血糖値上昇抑制作用には、経口医療薬であるアルカボースのように競争反動的に

糖類分解酵素を阻害する機構<sup>7)</sup>と、水溶性食物繊維のように高分子の粘性を利用して酵素-基質複合体の形成および腸管吸収を抑制する機構<sup>8)</sup>がある。本実験では、作用機構をより明確化するために酵素阻害物質に焦点を絞ることとした。そこで、分画分子量10KDの限外ろ過膜を用い、透過画分を回収した。表4にろ過前の阻害活性を100とした場合の、透過液の阻害活性を示す。クマツヅラを除いて、いずれの試料も阻害活性の低下が認められ高分子の関与が示唆された。

これらの結果より、阻害活性が高く、消化酵素による分解を受けにくく、さらに限外ろ過処理により活性の低下が少ないと考えられる植物素材として、イリオモテニシキソウ、クマツヅラ、マルバアカリファ、ゲンノショウコ、モクマオウ、モモタマナ、ヤマモモが挙げられた。動物用試料の調製には、原料植物がすくなくとも10 kg程度必要であるため、今回は入手の容易なクマツヅラ、マルバアカリファ、モクマオウを動物試験に供することとした。また、イリオモテニシキソウの代替には近縁種のシマニシキソウを動物試験に供した。

表3 消化酵素処理後の残存活性

生物資源名	ペプシン処理			パンクレアチン処理		
	α-アミラーゼ阻害活性	α-グルコシダーゼ阻害活性	スクラーゼ阻害活性	α-アミラーゼ阻害活性	α-グルコシダーゼ阻害活性	スクラーゼ阻害活性
イリオモテニシキソウ	100.3	97.9	107.5	92.7	82.3	74.0
オオバワダン	109.6	93.9	114.6	108.3	92.4	101.7
カンキチク	117.7	114.5	218.3	74.0	81.7	136.5
クマツヅラ	102.1	87.0	108.2	80.2	62.1	50.0
ゲットウ	92.6	76.4	194.1	115.5	76.5	86.9
ゲンノショウコ	100.9	101.5	141.4	94.8	88.1	142.0
クダモノトケイソウ	103.7	104.4	117.6	121.0	115.2	61.5
マルバアカリファ	95.9	95.6	115.0	97.0	85.7	95.6
モクマオウ	101.8	92.9	129.1	95.9	94.6	130.0
モモタマナ	105.8	107.6	143.1	92.6	91.9	125.2
ヤマモモ	94.2	96.7	97.9	76.5	68.1	77.7
ユウガオ	129.5	86.2	175.7	171.7	74.5	86.6
シマダワ (陽性対照)	100.6	99.8	101.2	100.3	101.2	99.0

表4 限外ろ過処理後の活性

植物名	透過液の原液に対する活性(%)		
	α-アミラーゼ阻害活性	α-グルコシダーゼ阻害活性	スクラーゼ阻害活性
イリオモテニシキソウ	68.6	67.3	43.5
オオバワダン	85.1	86.4	62.0
カンキチク	59.5	48.8	67.0
クマツヅラ	111.2	129.3	219.1
ゲットウ	62.7	75.4	106.9
ゲンノショウコ	72.1	72.8	56.6
クダモノトケイソウ	-	65.8	64.6
マルバアカリファ	78.2	79.2	63.6
モクマオウ	66.1	71.7	61.4
ヤマモモ	58.0	62.3	51.5
シマダワ (陽性対照)	101.2	101.5	112.8

### 3-2 投与飼料

各植物から調製した投与飼料の、10 mg/ml あたりの糖類分解酵素阻害活性を表5に示す。素材選定用試料の活性と比較して、クマツヅラ、マルバアカリファ、ニシキシソウでは若干活性が低下した。モクマオウでは、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性およびスクラーゼ阻害活性ともに半分以下に低下した。

表5 動物試験用試料の糖類分解酵素阻害活性

植物名	$\alpha$ -グルコシダーゼ	スクラーゼ
	阻害活性	阻害活性
クマツヅラ	39.4	20.3
マルバアカリファ	66.1	42.3
モクマオウ	31.1	27.7
シマニシキシソウ	43.1	28.8

### 3-3 血糖値変化

図1にKK-Ayマウスを用いて、調製試料を8週間強制経口投与した場合の血糖値の変化を示す。対照群と比較して、シマニシキシソウ抽出物投与群では、8週目において有意に血糖値の低下が認められた(P<0.05)。また、クマツヅラ抽出物投与群およびモクマオウ抽出物投与群では、6週目と8週目に有意に血糖値の低下が認められた(P<0.05)。マルバアカリファ抽出物投与群では、6週目と8週目に血糖値の低下傾向(P<0.07)を示した。

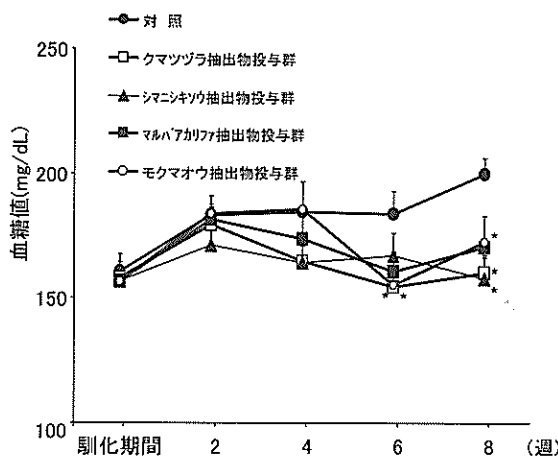


図1 植物抽出液がKK-Ayマウス血糖値に与える影響

### 3-4 体重増加量、摂餌量、摂水量および臓器重量

表6に、各植物抽出物を投与したときのKK-Ayマウスの体重増加量、摂餌量、摂水量および臓器重量を示す。体重増加量は、マルバアカリファ抽出物投与群において有意に低下した(P<0.05)。摂餌量は、クマツヅラおよびマルバアカリファ投与群およびにおいて、有意に低下した(P<0.05)。摂水量は、全群とも対照群と比較して有意な差は認められなかった。臓器重量では、マルバアカリファおよびモクマオウ抽出物投与群で、肝重量の低下が認められた(P<0.05)。

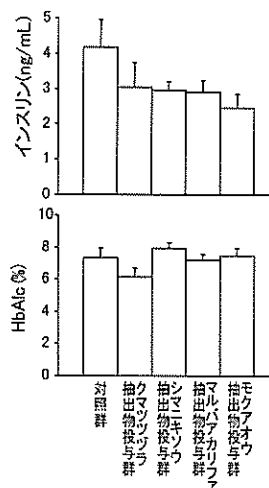


図2 植物抽出液が血中インスリン量及び糖化ヘモグロビン量に与える影響

### 3-5 血中インスリン量および糖化ヘモグロビン量

図2に、投与56日目におけるKK-Ayマウスの血中糖化ヘモグロビン量およびインスリン量を示す。各植物投与群は、対照群と比較して糖化ヘモグロビン量に変化は認められなかった。インスリン量は、モクマオウ

表6 KK-Ayマウスの体重増加量、摂餌量および臓器重量の変化

	体重増加量(g)/日	摂餌量(g)/日	摂水量(g)/日	臓器重量	
				肝臓(g)/体重	腎臓(g)/体重
対照	0.27±0.01	5.98±0.21	12.1±1.4	51.9±2.2	13.7±0.9
クマツヅラ抽出物投与群	0.25±0.01	5.42±0.08*	10.6±1.0	46.5±1.4	14.1±0.5
シマニシキシソウ抽出物投与群	0.24±0.01	5.54±0.22	10.6±1.1	48.0±1.6	12.8±0.4
サンシキアカリファ抽出物投与群	0.23±0.01*	5.36±0.15*	9.7±0.6	46.4±1.2*	12.9±0.5
モクマオウ抽出物投与群	0.25±0.01	5.49±0.20	11.4±1.0	46.6±1.1*	13.2±0.4

抽出物投与群において低下傾向 ( $P < 0.07$ ) を示した。

#### 4 考察

糖類分解酵素阻害活性は、血糖値上昇抑制作用の指標となる活性である。糖類分解酵素阻害による血糖値上昇抑制のメカニズムは、消化管内や小腸刷子縁膜上でデンプン、マルトースおよびスクロースの分解が阻害されることにより、グルコース生成速度が低下し、結果的に血中へのグルコース移行量が減少するものである<sup>9)</sup>。本実験の目的は、県産資源より糖類分解酵素阻害活性の高い植物を選抜し、これら植物の抽出物を用いてII型糖尿病モデル動物KK-Ayマウスの血糖値低下作用を明らかにすることである。

クマツヅラ (*Verbena officinalis*) は、クマツヅラ科クマツヅラ属の植物で、アジア、アフリカ、ヨーロッパに広く分布しており、全草に Verbenalin という配糖体を含み、消炎、止血作用などが知られている<sup>10)</sup>。クマツヅラ抽出物をKK-Ayマウスに投与した場合、血糖値の低下が投与6週目と8週目に有意に認められた。また、体重増加量、摂水量、臓器重量は対照群と比較して有意な差は認められなかった。しかしながら、摂餌量に関して対照群の5.98g/dayに対し5.42g/dayと約10%の食餌摂取量の低下が認められ、摂取エネルギー量の低下が血糖値の低下をもたらしたとも考えられるため、今後は投与量を含めて詳細な検討を行いたい。

シマニシキソウ (*Euphorbia hirta*) は、トウダイグサ科トウダイグサ属の植物で熱帯から亜熱帯に広く分布する。中国名は大飛揚草で通乳、かゆみ止め、胃腸炎血尿などに効果があるとされている<sup>11)</sup>。シマニシキソウ抽出物をKK-Ayマウスに投与した場合、投与8週目に血糖値の低下が有意に認められた。体重増加量、摂水量、摂餌量は対照群と比較して有意な差は認められなかったことから、血糖値の低下の主要因がシマニシキソウ抽出物の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用であることが強く支持された。現在、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性成分の精製を進めている。イリオモテニシキソウの成分にケルセチン誘導体が、シマニシキソウの成分にEuphorbin類が報告されている<sup>12)</sup>。そこで、ケルセチン誘導体類の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を測定したところ、ケルセチン-3-キシロシド、ケルセチン-3-グルコシド、ケルセチン-3-アラビノシド、ケルセチン-3-フコシドに強い阻害活性を認めた。しかしながら、現在精製中の物質はクロマトパターンなどの結果から、ケルセチン類ではないことが示唆されており、今後も解析を進めていく予定である。

サンシキアカリファ (*Acalypha wilkesiana*) は、南

太平洋の島々原産の植物である。サンシキアカリファ抽出物をKK-Ayマウスに投与した場合、投与6週目および8週目に血糖値が低下する傾向 ( $P < 0.07$ ) が認められたが、体重増加量、摂餌量に関して対照群より有意に低値を示したため ( $P < 0.05$ )、クマツヅラ同様に摂取エネルギー量の低下が血糖値の低下をもたらしたとも考えられる。今後は投与量などについて、更に詳細に検討を行いたい。

モクマオウ (*Casuarina equisetifolium*) はモクマオウ科モクマオウ属の植物で、東南アジアから太平洋諸島に広く野生し、トンガやタヒチなどでは葉草として用いられている<sup>14)</sup>。モクマオウ抽出物をKK-Ayマウスに投与した場合、投与開始後6週目と8週目に血糖値の低下が有意に認められた ( $P < 0.05$ )。

体重増加量、摂水量、摂餌量は対照群と比較して有意な差は認められなかったことから、血糖値の低下の主要因がモクマオウ抽出物の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用であることが強く支持された。また、体重当たりの肝臓重量が低下していることが認められた ( $P < 0.05$ )。KK-Ayマウスは加齢とともに肝臓に脂肪が沈着するため、モクマオウ抽出物投与により肝臓への脂肪沈着が抑制されたと考えられる。

#### 5 まとめ

沖縄産植物抽出液の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を測定し、特に活性の強い植物について、II型糖尿病マウスを用いて血糖値低下作用を検討した。その結果、シマニシキソウ抽出とモクマオウ抽出物に血糖値低下作用を見いだした。

#### 参考文献

- 1) 豊川哲也、鎌田靖弘、与座江利子 県産資源を活用した機能性食品素材の開発 沖縄県工業技術センター研究報告第2号 (2000)
- 2) 鎌田靖弘、豊川哲也 県産資源を活用した機能性素材の開発 沖縄県工業技術センター研究報告第3号 (2001)
- 3) 豊川哲也、鎌田靖弘、山城枝利子、比嘉賢一、吉田靖彦、花城薫 選択的細胞毒性を有する亜熱帯生物資源の探索について—各種ガン細胞に対する県産資源の効果— 沖縄県工業技術センター研究報告第3号 (2001)
- 4) 鎌田靖弘、豊川哲也、照屋正映、吉田靖彦、花城薫、新垣美香、上地美香 県産資源を利用した機能性素材の開発—in vitro試験での機能性評価— 沖縄県工業技術センター研究報告第4号 (2002)

- 5) 豊川哲也、吉田靖彦、鎌田靖弘、花城薫 県産資源の有効活用による産業振興を目指して—機能性評価と利用法開発— 南方資源利用技術研究会誌 Vol17 No.1 pp.9-17 (2001)
- 6) 岡山明 糖尿病有病率のBMIによる寄与とBMI変化による推計 健康日本21糖尿病分科会 (1999)
- 7) asuda K, Shimowada K, Uno M, Odaka H, Adachi T, Shihara N, Suzuki N, Tamon A, Nagashima K, Hosokawa M, Tsuda K, Seino Y. Long-term therapeutic effects of voglibose, a potent intestinal alpha-glucosidase inhibitor, in spontaneous diabetic GK rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2003 Feb 59(2) pp.113-22
- 8) 低粘性水溶性食物繊維(難消化性デキストリン)の耐糖能改善効果 栄養学雑誌 Vol153 No6 pp.361-368 (1995)
- 9) 出口ヨリ子、長田邦子、内田和美、木村広子、芳川雅樹、工藤辰幸、保井久子、綿貫雅章 グッパ葉熱水抽出物のdb/dbマウスにおける抗糖尿病効果およびヒト飲用試験による食後血糖値上昇抑制効果 日本農芸化学会誌 Vol.72 No8 pp.923-931 (1998)
- 10) 世界有用植物辞典 平凡社
- 11) 趙秀貞 青草葯彩色図譜 福建科学技術出版社
- 12) Dictionary of Natural Products. (CHAPMAN & HALL)
- 13) Whistler, W. A. 1992. Tongan herbal medicine. *Isle Botanica*, Honolulu. p101

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。