α -グルコシダーゼ阻害作用をもった桑葉エキスを末添加デンプン食品のヒトにおける食後血糖上昇抑制効果

中村まり子, 橋口(石黒) 美智留

長崎県立大学シーボルト校大学院人間健康科学研究科
栄養科学専攻

Suppressive Effect of Extractive from Leaves of *Morus alba* with α -Glucosidase Inhibitors on Human Postprandial Blood Glucose Elevation Induced by Starchy Foods

Mariko Nakamura and Michiru Hashiguchi-Ishiguro

Division of Nutritional Sciences, Graduate School of Human Health Science,
University of Nagasaki, Siebold

In order to prevent lifestyle-related diseases, the suppression of early postprandial increments of blood glucose and insulin levels is important. We clarified the suppressive effect of starchy foods supplemented with an extractive from the leaves of *Morus alba* (hereafter referred to as ELM), which inhibits α -glucosidases, on postprandial blood glucose and insulin in 12 healthy subjects (mean age, 27.8 $\pm$ 8.8 years; mean body mass index (BMI), 20.3 $\pm$ 0.5 kg/m²), by using a within-subject, repeated measures design. When the subjects ingested 144 g of cooked rice and *miso* soup containing 2.5 or 5.0 g ELM, the elevations of blood glucose and insulin levels were significantly lower ($p < 0.05$) than the elevations at 30 min after the ingestion of 150 g of rice (control, equivalent of 50 g of available carbohydrate). Further, the ingestion of rice and curry containing 3.3 or 6.5 g ELM also suppressed the early postprandial increments of blood glucose and insulin levels ($p < 0.05$). Meanwhile, breath hydrogen excretions were markedly increased by the ingestion of rice supplemented with ELM. We concluded that the simultaneous ingestions of ELM and starchy food effectively controlled the responses of blood glucose and insulin levels in a dose-dependent manner. We believe that the development of foods containing ELM can contribute to the prevention of type 2 diabetes mellitus.

Jpn. J. Nutr. Diet., 68 (6) 351~358 (2010)

Key words: the leaves of *Morus alba*, postprandial blood glucose, postprandial blood insulin, type 2 diabetes mellitus, suppressive effect

緒 言

平成19年度の国民健康・栄養調査によると、糖尿病が強く疑われる人は約890万人、糖尿病の可能性が否定できない人は約1,320万人、合わせて約2,210万人が糖尿病のリスクを背負っていると推定されている。2型糖尿病の予防には運動や食事等の生活習慣が大きく関連しており、食生活を含めた行動変容の改善、すなわち一次予防が重要である¹⁾。糖尿病患者にとって、食後血糖上昇を緩やかにする食品やインスリン分泌を刺激しない食品は、単に血糖やインスリンのコントロールに対する有効性のみならず、食品選択を豊かにすることで生活の質 (Quality of

life, QOL) を向上させる面からも有意義である。

糖尿病の臨床現場で用いられているアカルボース、ボグリボース、ミグリトールなどは窒素を分子内に持つ Pseudo-saccharide (擬似糖) で^{2~4)}、 α -グルコシダーゼ阻害剤として利用されている。これらの医薬品は α -アミラーゼや二糖類水解酵素を阻害し、糖質の消化・吸収を阻害あるいは遅延させることによって食後の血糖上昇を抑制する。この α -グルコシダーゼ阻害剤の作用機序は、インスリン分泌やインスリン作用を促進して血糖を降下させる医薬品とは原理的に異なり、血中インスリン濃度を高めることなく血糖を改善するという特徴がある。現

キーワード: 桑葉エキス, 食後血糖値, 食後インスリン, 2型糖尿病, 上昇抑制効果

(連絡先: 中村まり子 〒851-2195 長崎県西彼杵郡長与町まなび野1-1-1 長崎県立大学シーボルト校大学院人間健康科学研究科
電話・FAX 095-813-5211 E-mail marikon@sun.ac.jp)

在, 様々な植物より α -グルコシダーゼ阻害物質が検出され^{5~8)}, 血糖を上昇させない食品への応用が精力的に検討されている。

桑葉には α -グルコシダーゼを阻害する 1-デオキシノジリマイシン (DNJ) およびその誘導体が存在する⁹⁾。著者らの先行研究において, 桑葉エキスがラット小腸粘膜のスクラーゼ, マルターゼならびにイソマルターゼに対して強い拮抗阻害を示すことを明らかにすると共に¹⁰⁾, ラットならびにヒトへ桑葉エキスをショ糖と同時に摂取させると血糖上昇が用量依存的に抑制されることを明らかにしている^{10, 11)}。さらに, 桑葉エキスのスクラーゼ阻害作用を利用した血糖を上昇させない水羊羹や大福餅などの作製を試み, ショ糖を主成分とした場合, 添加する桑葉エキス粉末とショ糖の比率が 1 : 10 のときに, 血糖上昇抑制ならびにインスリン分泌抑制作用を効果的に発現することを明らかにしている¹¹⁾。また, DNJ やその誘導体による α -グルコシダーゼ阻害や, 桑葉抽出物による食後血糖上昇抑制作用等についても報告がある^{12~17)}。

一方, ショ糖を主成分とした桑葉エキス添加菓子類を一度に大量摂取すると, 難消化性オリゴ糖や糖アルコールを摂取した場合と同様に^{18, 19)}, 高浸透圧性の下痢を誘発することがある。これは桑葉エキスによって消化が阻害されたショ糖が, 大量に大腸へ到達するためである。大腸へ到達したショ糖は腸内細菌によって発酵分解されるが, 腸内細菌の発酵分解能を上回るショ糖が大腸へ流入した場合には, 大腸内浸透圧が限界を超えるために下痢が誘発される。しかし, 高分子のデンプンを主成分とする食品と桑葉エキスを同時に摂取した場合は, 消化が阻害されたデンプンは大腸へ到達しても浸透圧が低分子糖質の場合のように上昇しないので, 下痢は誘発され難いことが考えられる。

そこで本研究では, 桑葉エキスの α -グルコシダーゼ阻害作用について, ヒト唾液酵素を用いて *in vitro* で観察した。次に, *in vitro* で観察された桑葉エキスの消化酵素阻害効果が *in vivo* においても発現し血糖上昇を抑制することを, デンプン食品と桑葉エキスを同時に摂取することによって明らかにした。桑葉エキス添加味噌汁と米飯の同時摂取ならびに桑葉エキス添加カレーライスを被験者へ摂取させ, 血糖およびインスリン分泌へ及ぼす影響, また消化吸收されなかった糖質が腸内細菌によって発酵を受けた指標として呼気水素ガス排出に及ぼす影響を検討した。日本人の主食である米飯と桑葉エキスを同時に摂取した場合に血糖上昇およびインスリン分泌が抑制されることが明らかになれば, 桑葉エキスの α -グルコシダーゼ阻害作用を利用した食後血糖を上昇させない食品の用途は拡大され, 糖尿病患者や耐糖能が低下している中高年者の QOL を高めることに寄与できる。

方 法

1) 桑葉エキス

桑葉エキス末 (トヨタマ健康食品(株), 東京都) の主な栄養成分組成を Table 1 に示す。粉末 100 g 中に DNJ を 0.77% および DNJ 誘導体を含有し, またデキストリンを 74 g 含む。外観は抹茶粉末に類似し, 香味はよもぎ臭に類似している。

Table 1 Constituents of powder of extractives from leaves of *Morus alba*

Contents	g/100 g
Protein	7.2
Fat	1.2
Carbohydrate	74.0
Dietary fiber	1.6
1-deoxynojirimycin	0.77

Data were analyzed by Japan Food Research Laboratories.

2) ヒト唾液 α -アミラーゼに対する桑葉エキスの阻害実験

(1) ヒト唾液 α -アミラーゼの調製

唾液提供者は健康な成人男子 1 名 (22 歳) で, 口腔内を水道水で洗浄後, 一定時間脱脂綿を口腔内に含ませて唾液を採集した。濾紙 (No.1, 東洋濾紙(株), 東京都) をセットした三角ロートへ唾液を含んだ脱脂綿を乗せて, 唾液を三角フラスコへ採取した。口腔内常在菌を除くために 0.22 μ m 孔の Membrane Filter (Millipore Corp., MA, U.S.A) でろ過後, 使用するまで -80°C に凍結保存した。使用時は, 生理的食塩水で適当に希釈して用いた。

(2) ヒト唾液 α -アミラーゼに対する桑葉エキスの阻害効果の測定

α -アミラーゼ活性はシカリキット AMY (関東化学(株), 東京都) を用いて測定した。 α -アミラーゼ活性は標準酵素液活性から算出し, 基質には 9 mmol 2-クロロ-4-ニトロフェニル- α -D-マルトトリオシドを用いた。たんぱく質濃度は, 色素を用いる Bradford²⁰⁾ の方法に準じて測定した。

3) デンプン食品と桑葉エキスの同時摂取による血糖上昇抑制実験

(1) 被験者ならびに属性

被験者は本研究の目的, 実験内容, 試験食について十分に理解し, 実験に協力することを文書にて承諾した健康成人 12 名 (男性 6 名, 女性 6 名) で, 平均年齢 27.8 ± 8.8 歳, BMI 20.3 ± 0.5 である。被験者は, 実験 2 週間前から抗生物質などの薬剤の使用が無く, また耐糖能異常や消化器疾患の無い者とした。

(2) 試験食 (test foods) の調製ならびに摂取方法

Table 2 は, 実験に用いた試験食構成成分ならびに主な

Table 2 Ingredient contents and nutritive components of test foods

	Rice + <i>miso soup</i>	Rice + curry
Rice (g)	150.0	150.0
<i>Miso soup</i> powder (g)	1.7	—
Water (g)	180.0	—
Curry (retort-pouched) (g)	—	150.0
ELM (g) {		
Control	0.0	0.0
Carbohydrate : ELM = 20 : 1	2.5	3.3
Carbohydrate : ELM = 10 : 1	5.0	6.5
Energy (kcal)	332.0	347.0
Protein (g)	5.7	7.8
Fat (g)	1.6	4.9
Carbohydrate (g)	55.3	67.2

ELM, the extractive from leaves of *Morus Alba*.

Fig. 1 Experimental protocol.

栄養成分組成である。桑葉エキスの外観および香味をマスクし易いことを考慮し、日本人の常用食品である味噌汁ならびにカレーへ桑葉エキスを添加して、米飯と同時に摂取する事とした。桑葉エキスと米飯を同時に摂取したときの血糖上昇抑制効果を観察するために、米飯（サトウのごはん、佐藤食品工業(株)、新潟県）150 g（糖質 50 g 相当量）を用い、桑葉エキスを添加する食品として即席味噌汁（生みそタイプみそ汁 あさげ、永谷園(株)、東京都）ならびにレトルトカレー（ボンカレー、大塚食品(株)、東京都）をそれぞれ用いた。味噌汁は、調味みそ 17 g と具 2 g をお湯 180 ml に溶解後、米飯中の糖質と桑葉エキスの割合を20 : 1 および10 : 1 とするために、桑葉エキス 2.5 g または 5.0 g を添加した。レトルトカレー（糖質 17.2 g 含有）の場合には、一食分 150 g に桑葉エキス 3.3 g または 6.5 g を添加した。この時の米飯とレトルトカレーの総糖質量は 67.2 g となった。桑葉エキスを添加しない味噌汁ならびにレトルトカレーと米飯との組み合わせをそれぞれの対照試験食とした。

試験食は水 150 ml と併せて提供し、米飯と味噌汁摂取はそれぞれを交互に口腔内へ入れるよう指示し、また米飯とレトルトカレー摂取の場合は両者を混合させた後、7分以内に摂取するよう指示した。

(3) 被験者実験の手順

実験手順は、Fig. 1 に示した。各被験者には、あらかじめ

め本研究におけるすべての試験食（味噌汁＋米飯を3種類、カレー＋米飯を3種類；計6種類）を無作為な順番で繰り返し摂取する一重盲検法にて実施した。各試験食の摂取にあたっては、前試験の影響を避けるために約1週間のウォッシュアウト期間を設けた。

(4) 採血ならびに呼気採取方法

採血は手指先端を穿刺し、ヘマトクリット管を用いて試験食投与前（空腹時血糖、0分値）と、投与後30, 60, 90, 120, 150, 180分の計7回行った。

呼気採取にあたって、被験者には口腔内の常在菌による影響を回避するために水道水で口腔内を洗浄させ、呼気採取前約5分間は座位安静にさせた。試験食摂取前に1回目の呼気を採取（0時間値）し、その後は試験食摂取後1時間毎に8時間まで計9回実施した。採取は、マウスピースと逆流防止弁付き T ピースを装着したコレクションバッグ（Quintron Instrument Co., USA）を使用し、死腔ガス 150 ml を除く終末呼気ガス約 750 ml を採取した。

(5) 被験者の食事およびその摂取と制限

試験食摂取前日は通常の生活を行わせ、牛乳やヨーグルトなどの乳製品、食物繊維やオリゴ糖を含む発酵性の高い食品を控えるよう指示した。夕食は前日の20時頃までに終了するように指示し、それ以降の飲食は水および茶に限り自由摂取を認めた。試験食摂取後は、過換気状

態を伴う運動、睡眠および特別試験食 (experimental food; completely digestive) 以外の飲食を禁止した。

被験者を一定時間 (約9時間) 拘束するので、被験者のストレスを軽減して過度の空腹による影響を最小限にするために、被験者には特別試験食を Fig. 1 のプロトコルに従って摂取させた。特別試験食は、ほぼ完全に消化されて水素ガスを産生しない食品を組み合わせたもので、本研究では1食あたり、ゆで卵 (M サイズ) 1個、ツナ缶 (シーチキンマイルド、ハゴロモフーズ(株)、静岡県) 1缶 (80 g)、紅茶 (シヨ糖 5 g 添加) を用いた。

(6) 血漿ブドウ糖および血漿インスリンの測定方法

採血後、ヘマトクリット遠心機 (久保田商事(株)、東京都) を用いて遠心分離 (11,000 rpm, 室温, 5 分間) し、得られた血漿をブドウ糖およびインスリン測定に用いた。

ブドウ糖濃度はブドウ糖オキシダーゼを用いる Trinder の方法²¹⁾ に準じて測定し、インスリン濃度はモルモット抗体 ((株)森永生科学研究所, 神奈川県) を使用した測定キットを用いて測定した²²⁾。

(7) 呼気ガスの分析方法

呼気中の水素ガスおよびメタンガス濃度は、ガスクロマトグラフ法の手法を用いた呼気水素/メタン分析装置 [Breath (H_2/CH_4) Analyzer] モデル BGA-1000D ((株)呼気生化学栄養代謝研究所, 奈良県) を用いて測定した。測定は温度 (25°C 前後)、湿度 (70% 前後) の環境を一定に維持して行った。校正用標準ガスとして、水素 98.5 ppm/メタン 51.1 ppm (ジャパンファインプロダクツ(株)、栃木県) を使用した。

4) 研究倫理委員会等の審査

本研究は、長崎県立大学研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。また各被験者より文書によるインフォームドコンセントを得た。

5) 解析および統計処理

血糖値、インスリン濃度および呼気水素ガス排出量は、平均値と標準偏差 (S.D.) を算出した。血糖曲線下面積ならびにインスリン曲線下面積は、Jenkins らの方法²³⁾ に準じて算出した。各々の平均値について正規性の検定を行った後、桑葉エキス添加量の違いによる血糖値、インスリン濃度および呼気水素ガス排出量の差異について

は、一元配置分散分析を行い Tukey の下位検定を行った。解析には統計解析ソフト SPSS ver.11 for Japan (SPSS Inc., 東京都) を用い、いずれも有意確率を 5 % 未満とした。

結 果

1) ヒト唾液アミラーゼに対する阻害効果

Table 3 は、桑葉エキスのヒト唾液 α -アミラーゼ活性に対する阻害効果を示したものである。適当に希釈した唾液 15 μ l (たんぱく質 0.45 mg/ml)、活性化液 750 μ l ならびに基質液 250 μ l を混合した場合 (コントロール) のアミラーゼ活性は、651 IU/l であった。これに対して、桑葉エキス溶液 (20 mg/ml) 40 μ l を反応液に加えた場合の AMY 活性は17%阻害され、桑葉エキス溶液 (40 mg/ml) を 40 μ l 添加した場合には42%阻害された。これらの結果は、桑葉エキ스가唾液 α -アミラーゼを用量依存的に阻害することを示している。

2) デンブ食品と桑葉エキスの同時摂取による血糖上昇抑制効果

(1) 被験者の試験への参加状況

いずれの被験者も途中で脱落することなく、試験食摂取実験を完了した。また、試験食摂取後に下痢等を生じるものはなかった。

(2) 米飯摂取による食後血糖、インスリン分泌ならびに呼気水素ガス排出動態に及ぼす桑葉エキス添加味噌汁の影響

Fig. 2 は、桑葉エキス添加味噌汁と米飯を同時に摂取した場合の血糖、インスリンならびに呼気水素ガスの経時的変化を示したものである。桑葉エキス 2.5 g 添加味噌汁摂取の場合、摂取後30分の血糖値は 100 mg/100 ml で、桑葉エキス無添加味噌汁の場合 (141 mg/100 ml) に比べて有意に低値を示した ($p < 0.05$, Fig. 2-A)。桑葉エキス 5.0 g 添加味噌汁の場合は、桑葉エキス無添加味噌汁に比べて、摂取後30, 60, 90分で有意な血糖上昇抑制効果を示した ($p < 0.05$)。桑葉エキス 5.0 g 添加味噌汁摂取後の血糖値は、桑葉エキス 2.5 g 添加味噌汁の場合に比べて低い傾向を示したが、両群間に有意差は観察されなかった。一方、血漿インスリン濃度は、桑葉エキス 2.5 g および 5.0 g 添加味噌汁のいずれの場合も、桑葉エ

Table 3 Inhibitory effect by different concentrations of ELM on α -amylase of saliva in human

Added inhibitor	dilution factors	Amylase activity (IU/l)	Percentage of inhibition (%)
ELM	$\times 1$	380	42
ELM	$\times 2$	543	17
Not added inhibitor		651	0

ELM, the extractive from leaves of *Morus alba*; The enzyme of amylase was saliva in human. Data were expressed as the mean of triplicate assay.

キス無添加味噌汁に比べて摂取後30, 60分で有意な低値を示した ($p < 0.05$, Fig. 2-B)。また, 呼気水素ガスは, 桑葉エキス無添加味噌汁では殆ど排出されなかったが, 桑葉エキス 2.5 g および 5.0 g 添加味噌汁において有意な排出が観察された ($p < 0.05$, Fig. 2-C)。

(3) 米飯摂取による食後血糖, インスリン分泌ならびに呼気水素ガス排出動態に及ぼす桑葉エキス添加カレーの影響

Fig. 3 は, 桑葉エキス添加カレーと米飯を同時に摂取した場合の血糖, インスリンならびに呼気水素ガスの経時変化を示したものである。桑葉エキス無添加カレーと米飯摂取の場合, 血糖値は摂取後30分でピークに達し

(126 mg/100 ml), その後緩やかに低下して180分ではほぼ空腹時状態のレベルに戻った。これに対して, 桑葉エキス 3.3 g または 6.5 g 添加カレーと米飯を摂取した場合, 30分後の血糖値はそれぞれ 101 mg/100 ml ならびに 89 mg/100 ml となり, 桑葉エキス無添加カレーに比べて有意な低値を示した ($p < 0.05$, Fig. 3-A)。桑葉エキス 6.5 g 添加カレー摂取後の血糖値は, 桑葉エキス 3.3 g 添加カレーに比べて30分値および60分値で低い傾向を示したが有意差は見られなかった。インスリン濃度は, 桑葉エキス 3.3 g および 6.5 g 添加カレーのいずれも, 桑葉エキス無添加カレーに比べて摂取後30分で有意なインスリン分泌抑制効果を示した ($p < 0.05$)。しかし, 桑葉エキ

Fig. 2 Effect of the addition of ELM on postprandial blood glucose, plasma insulin and breath hydrogen excretion after ingestion of cooked paddy rice and miso soup.

Data were expressed as the mean $\pm$ S.D.

*: Significantly different from the corresponding control at $p < 0.05$ by one-way ANOVA and Tukey's HSD test.

ELM: the extractive from leaves of *Morus alba*

◇: rice + miso soup (control), ▲: rice + miso soup containing ELM 2.5 g, ■: rice + miso soup containing ELM 5.0 g

Fig. 3 Effect of the addition of ELM on postprandial blood glucose, plasma insulin and breath hydrogen excretion after ingestion of cooked paddy rice and curry.

Data were expressed as the mean $\pm$ S.D.

*: Significantly different from the corresponding control at $p < 0.05$ by one-way ANOVA and Tukey's HSD test.

ELM: the extractive from leaves of *Morus alba*

◇: rice + curry (control), ▲: rice + curry containing ELM 3.0 g, ■: rice + curry containing ELM 6.0 g

Table 4 The ratios of areas under the curve of incremental postprandial blood glucose and insulin for 2 h or 3 h after the ingestion of test foods

Test foods	Ratio of AUC of glucose		Ratio of AUC of insulin	
	0-2 h	0-3 h	0-2 h	0-3 h
Rice + <i>miso soup</i> (control)	100 ^{a,b}	100 ^d	100 ^{e,f}	100 ^{g,h}
Rice + <i>miso soup</i> containing of ELM 2.5 g	49.0 ± 23.4 ^a	62.9 ± 29.8	28.4 ± 20.0 ^e	30.4 ± 20.8 ^g
Rice + <i>miso soup</i> containing of ELM 5.0 g	25.2 ± 19.1 ^b	31.3 ± 25.3 ^d	27.2 ± 23.4 ^f	28.2 ± 27.1 ^h
Rice + curry (control)	100 ^c	100	100	100
Rice + curry containing of ELM 3.3 g	81.6 ± 35.8	92.5 ± 55.7	71.9 ± 45.5	88.2 ± 65.7
Rice + curry containing of ELM 6.5 g	51.2 ± 20.4 ^c	68.4 ± 33.3	60.6 ± 41.0	69.4 ± 54.1

AUC, area under the curve; ELM, the extractive from leaves of *Morus Alba*. There is a significant difference between same letters by ANOVA and Tukey's post hoc test ($p < 0.05$).

ス 3.3 g および 6.5 g 添加カレーの両群間に有意差は観察されなかった (Fig. 3-B)。桑葉エキス添加カレー摂取後の呼気水素ガス排出濃度は、桑葉エキス無添加カレーではごく僅かしか排出されなかったが、桑葉エキス 3.3 g および 6.5 g 添加カレーでは有意な排出が観察された ($p < 0.05$, Fig. 3-C)。

(4) 米飯摂取後の初期血糖ならびにインスリン分泌に及ぼす桑葉エキス同時摂取の影響

Table 4 は、桑葉エキス無添加味噌汁と米飯摂取後の血糖曲線下面積 (AUC; area under the curve) を 100 とした場合の桑葉エキス添加味噌汁と米飯同時摂取後の血糖 AUC の比率を示したものである。桑葉エキス 2.5 g 添加味噌汁と米飯の同時摂取後 1 時間までの AUC は 35.6 ± 19.2 、2 時間までの AUC は 49.0 ± 23.4 と有意に低値を示した ($p < 0.05$)。しかし、摂取後 3 時間までの AUC は 62.9 ± 29.8 となり、有意差は観察されなかった。一方、桑葉エキス 5.0 g 添加の場合は 1 時間までの AUC は 19.3 ± 11.0 、2 時間までの AUC は 25.2 ± 19.1 、3 時間までの AUC は 31.3 ± 25.3 となり、いずれも桑葉エキス無添加のそれに比べて有意に低値を示した ($p < 0.05$)。インスリン AUC については、桑葉エキス 2.5 g および 5.0 g 添加味噌汁のいずれの場合も、1 時間までの AUC (21.4 ± 15.1 , 23.4 ± 17.3)、2 時間までの AUC (28.4 ± 20.0 , 27.2 ± 23.4) および 3 時間までの AUC (30.4 ± 20.8 , 28.2 ± 27.1) は桑葉エキス無添加味噌汁に比べて有意に低値を示した ($p < 0.05$)。

桑葉エキス添加カレーと米飯同時摂取後 1 時間までの血糖 AUC は、桑葉エキス 3.3 g 添加で 63.1 ± 21.7 、6.5 g 添加で 28.7 ± 17.5 となり、添加する桑葉エキス量に依存して有意に低値を示した ($p < 0.05$)。桑葉エキス 3.3 g 添加カレーと米飯の同時摂取後 2 時間および 3 時間までの血糖 AUC は 81.6 ± 35.8 および 92.5 ± 55.7 となり、有意差は観察されなかった。桑葉エキス 6.5 g 添加カレーと米飯の同時摂取後 2 時間までの血糖 AUC は 51.2 ± 20.4 となり、桑葉エキス無添加カレーのそれに比べて有意に低値を示したが ($p < 0.05$)、3 時間までの血糖 AUC

は 68.4 ± 33.3 となり、有意差を示さなかった。さらに、インスリン AUC は桑葉エキス 3.3 g および 6.5 g 添加カレーの 1 時間までの AUC は 59.2 ± 33.4 および 48.8 ± 39.7 となり有意に低値を示した ($p < 0.05$)。なお、2 時間および 3 時間 AUC は低値を示したが有意差はなかった。米飯とカレーを摂取した場合の血糖値ならびにインスリン濃度は、被験者によるばらつきが大きく、米飯と味噌汁を摂取した場合に比べて標準偏差も高値を示した。

考 察

アカルボースやボグリボースなどの α -グルコシダーゼ阻害剤は、 α -アミラーゼや糖質の消化の最終段階に作用する二糖類水解酵素活性に対して拮抗的に作用して、消化を阻害する^{10,16)}。桑葉には DNJ およびその誘導体が含まれるので、桑葉エキスが α -アミラーゼを阻害することは十分考えられる。しかし、阻害作用がないという報告もあれば、阻害作用があるという報告もある^{13,24)}。今回のヒト唾液を用いた阻害実験では、桑葉エキスは α -アミラーゼに対して顕著な阻害作用を示した。桑葉エキスが α -アミラーゼを阻害するとなれば、スクロースを主成分とした食品だけではなく、小麦粉を材料とする菓子類や米飯などのデンプン食品への用途が開ける。

日本人が日常生活において頻繁に摂取する米飯との組み合わせ食品として味噌汁ならびにレトルトカレーを用い、これらに桑葉エキスを添加させたものを米飯と同時に摂取させ、食後血糖ならびにインスリン分泌に対する抑制効果を観察した。桑葉エキス添加味噌汁と米飯の同時摂取の場合、血糖ならびにインスリン分泌は顕著に抑制された。また、桑葉エキス添加カレーと米飯の同時摂取の場合も同様の抑制効果が観察され、その抑制効果は糖質と桑葉エキスの量比が 10 : 1 の方が 20 : 1 よりもやや強かったが、顕著な差異は観察されなかった。

米飯と桑葉エキス添加食品との同時摂取によって、食後血糖ならびにインスリン分泌が抑制されることが明らかになったことは、桑葉エキスが高分子のデンプンに対しても消化を阻害して血糖上昇を効果的に抑制すること

を示している。桑葉エキ스는、マルターゼならびにイソマルターゼに対しても阻害を示すので、米飯と桑葉エキスを同時に摂取した場合の血糖上昇抑制効果は消化の最終段階である膜消化が桑葉エキ스로阻害された可能性も考えられる。本研究における抑制効果は、下痢などを誘発しないことを勘案すると α -アミラーゼに対しても阻害していることが示唆される。デンプン食品、特に米飯と組み合わせて摂取する食品に桑葉エキスを添加することによって血糖上昇が効果的に抑制されることは、米飯を主食とする食習慣を持った日本人にとって、糖尿病の一次予防への桑葉エキスの用途が広がる可能性を秘めている。

難消化性糖質であるフラクトオリゴ糖を40 g 摂取させた場合は、大半の被験者が下痢を誘発したが、20 g 程度では下痢を誘発する被験者は少ない²⁵⁾。腸内細菌の発酵分解能を上回る糖質が大腸へ流入した場合には、大腸内浸透圧が限界を超えるために下痢が誘発される。しかし、高分子のデンプンを主成分とする食品と桑葉エキスを同時に摂取した場合は、水素ガス濃度の最大値は30 ppm程度となり、これはフラクトオリゴ糖5-10 g を摂取した場合と同程度であった^{26, 27)}。糖質50 g 相当量を摂取したにもかかわらず下痢を誘発しなかった理由として、阻害された糖質の大腸への流出量が腸内浸透圧の限界を超えるレベルではなかったことが示唆される。しかし、桑葉エキス添加によって呼吸水素ガス排出が有意に増加したことは、摂取したデンプンあるいは部分消化によって生じたオリゴ糖が完全に消化されずに大腸へ到達して腸内細菌によって発酵を受けたことを裏付けている。腸内細菌によって糖質が発酵を受けると、腸内細菌叢が改善されてビフィズス菌や乳酸菌などの有用菌を増殖し有害菌を減少させる²⁸⁾ので、プレバイオティクス効果も合わせて期待することができる。また難消化性オリゴ糖が腸内細菌によって完全に発酵分解されると、エネルギー損失が生じて約半分の2 kcal/g になる^{29, 30)}ので、桑葉エキスによって消化が阻害されたデンプンのエネルギー量も半減するものと考えられる。糖尿病患者においてもある程度のエネルギーを確保する必要があるため、発酵・吸収経路によるエネルギー供給は、インスリン節約作用の面からも好都合といえる。

糖尿病予備軍(impaired glucose tolerance; IGT)や早期の2型糖尿病患者では、血糖に対するインスリン分泌の消失が知られている。日本人のインスリン分泌細胞は米国人と比べて脆弱であり、病態の進展に伴いインスリン分泌が減少し、最終的にはインスリン分泌が枯渇してインスリン依存状態となる患者も少なくない。IGTや2型糖尿病患者では、健康な人と比較して膵 β 細胞が減少しているとの報告もあり^{31, 32)}、膵 β 細胞機能を保持する

ことは非常に重要な課題と考えられる。本研究により、日本人の主食である米飯と桑葉エキス添加味噌汁またはカレーを同時摂取することで、食後血糖上昇を抑制すると共にインスリン分泌も低下することが明らかになった。このことは、インスリン需要を低減して膵 β 細胞の負担を軽減し、糖尿病の一次予防に寄与する可能性を示している。

ま と め

本研究では、桑葉エキスの α -アミラーゼに対する阻害作用に注目し、高分子デンプンを含有する米飯と桑葉エキス添加味噌汁の同時摂取ならびに桑葉エキス添加カレーライスを摂取させ、食後血糖上昇ならびにインスリン分泌に対する抑制効果を検討した。その結果、米飯と桑葉エキスを同時に摂取した場合にも、食後血糖上昇ならびにインスリン分泌が有意に抑制されることが明らかになった。また、呼吸水素ガス排出量は、桑葉エキス添加食品摂取後に有意に増加した。本研究の結果、桑葉エキスは米飯を主食とする日本人の糖尿病やその他の生活習慣病を予防する機能的な食品開発に寄与する食品素材となるものと考えられる。

謝 辞

本研究にあたり、桑葉エキスを供与して下さったトヨタ健康食品株式会社、ならびに被験者として本研究に協力して下さった皆様に心より厚く御礼申し上げます。また、本研究においてご指導を賜りました長崎県立大学大学院人間健康科学研究科の奥 恒行教授、中村禎子助教に深謝いたします。

なお、本研究の一部は、日本栄養改善学会創立50周年・特定非営利活動法人設立記念特別研究助成事業(2008年度)により行われました。

文 献

- 1) 厚生労働省：平成19年度国民健康・栄養調査結果の概要について(報道発表資料)，<http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/12/h1225-5.html>，(2009年11月1日)
- 2) Walton, R.J., Sherif, I.T., Noy, G.A. and Alberti, K.G.: Improved metabolic profiles in insulin-treated diabetic patients given an alpha-glucosidase inhibitor, *Br. Med. J.*, **1**, 220-221 (1979)
- 3) Göke, B., Fuder, H., Wieckhorst, G., Theiss, U., Stridde, E., Littke, T., Kleist, P., Arnold, R. and Lucker, P.W.: Voglibose (AO-128) is an efficient α -glucosidase inhibitor and mobilizes the endogenous GLP-1 reserve, *Digestion*, **56**, 493-501 (1995)
- 4) 久保山 昇, 林 一郎, 山口忠志: 新規 α -グルコシダーゼ阻害薬ミグリトール(セイブル®錠)の薬物動態学および薬理学的特徴と臨床試験成績, *日本薬理学雑誌*, **127**, 223-232 (2006)

- 5) Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J.B., Sasaoka, T. and Kimura, I.: Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans, *BMC. Pharmacol.*, **4**, 18 (2004)
- 6) 山内有信, 稲井玲子, 東元 稔: グァバ葉抽出茶の糖類分解酵素活性阻害ならびに消化管輸送およびグルコース吸収抑制による血糖値上昇抑制作用, *栄養学雑誌*, **66**, 25-29 (2008)
- 7) 田淵美保子, 田村朝子, 山田則子: ウコギ (*Acanthopanax sieboldianus*) 葉投与が新生児期のストレプトゾトシン投与による2型糖尿病ラットの耐糖能に及ぼす影響, *日本栄養・食糧学会誌*, **56**, 243-246 (2003)
- 8) 西川 康, 桎内賀子, 高田曜子, 上中居和男, 堀名恵美, 松浦寿喜: インスリーナ葉抽出物の α -グルコシダーゼ阻害能の比較, *日本栄養・食糧学会誌*, **56**, 375-378 (2003)
- 9) Asano, N., Oselo, K., Kizu, H. and Matsui, K.: Nitrogen-in-the-ring pyranoses and furanoses: structural basis of inhibition of mammalian glycosidases, *J. Med. Chem.*, **37**, 3701-3706 (1994)
- 10) Oku, T., Yamada, M., Nakamura, M., Sadamori, N. and Nakamura, S.: Inhibitory effects of extractives from leaves of *Morus alba* on human and rat small intestinal disaccharidase activity, *Br. J. Nutr.*, **95**, 933-938 (2006)
- 11) Nakamura, M., Nakamura, S. and Oku, T.: Suppressive response of confections containing the extractive from leaves of *Morus alba* on postprandial blood glucose and insulin in healthy human subjects, *Nutr. Metab. (Lond)*, **6**, 29 (2009)
- 12) Saunier, B., Kilker, R.D.Jr., Tkacz, J.S., Quaroni, A. and Herscovics, A.: Inhibition of N-linked complex oligosaccharide formation by 1-deoxynojirimycin, an inhibitor of processing glucosidases, *J. Biol. Chem.*, **257**, 14155-14161 (1982)
- 13) 阿武尚彦, 田村幸一, 大野弘美, 富 裕孝: 桑 (*Morus alba* L.) 葉エキスのマルターゼ, スクラールゼおよび α -アミラーゼ阻害について, *日本食品保蔵科学会誌*, **30**, 223-229 (2004)
- 14) Kimura, T., Nakagawa, K., Kubota, H., Kojima, Y., Goto, Y., Yamagishi, K., Oita, S., Oikawa, S. and Miyazawa, T.: Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 5869-5874 (2007)
- 15) Mudra, M., Ercan-Fang, N., Zhong, L., Furne, J. and Levitt, M.: Influence of mulberry leaf extract on the blood glucose and breath hydrogen response to ingestion of 75 g sucrose by type 2 diabetic and control subjects, *Diabetes Care*, **30**, 1272-1274 (2007)
- 16) Samulitis, B.K., Goda, T., Lee, S.M. and Koldovský, O.: Inhibitory mechanism of acarbose and 1-deoxynojirimycin derivatives on carbohydrases in rat small intestine, *Drugs Exp. Clin. Res.*, **13**, 517-524 (1987)
- 17) Sels, J.P., Huijberts, M.S. and Wolffenbuttel, B.H.: Miglitol, a new α -glucosidase inhibitor, *Expert Opin. Pharmacother.*, **1**, 149-156 (1999)
- 18) Oku, T.: Oligosaccharides with beneficial health effects: a Japanese perspective, *Nutr. Rev.*, **54**, s59-s66 (1996)
- 19) Oku, T. and Nakamura, S.: Digestion, absorption, fermentation, and metabolism of functional sugar substitutes and their available energy, *Pure Appl. Chem.*, **74**, 1253-1261 (2002)
- 20) Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, **72**, 248-258 (1976)
- 21) Trinder, P.: Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen, *J. Clin. Pathol.*, **22**, 158-161 (1969)
- 22) Liversy, J.H., Hodgkinson, S.C., Round, H.R. and Donald, R.A.: Effect of time, temperature and freezing on the stability of immunoreactive LH, FSH, TSH, growth hormone, prolactin and insulin in plasma, *Clin. Biochem.*, **13**, 151-155 (1980)
- 23) Jenkins, D.J., Wolever, T.M., Taylor, R.H., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, J.M., Bowling, A.C., Newman, H.C., Jenkins, A.L. and Goff, D.V.: Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 362-366 (1981)
- 24) Raimbaud, E., Buleon, A. and Perez, S.: Molecular modeling of acarviosine, the pseudo-disaccharide moiety of acarbose, and other inhibitors of α -amylases, *Carbohydr. Res.*, **227**, 351-363 (1992)
- 25) Oku, T., Nakamura, M., Hashiguchi-Ishiguro, M., Tanabe, K. and Nakamura, S.: Bioavailability and laxative threshold of 1-kestose in human adults, *DBPMB*, **3**(s1), 90-95 (2009)
- 26) 中村禎子, 奥 恒行: ヒトにおける呼吸水素ガス試験による発酵分解評価の有効性とそれに基づく各種食物繊維素材のエネルギー評価の試み, *日本食物繊維学会誌*, **9**, 34-46 (2005)
- 27) Oku, T. and Nakamura, S.: Comparison of digestibility and breath hydrogen gas excretion of fructo-oligosaccharide, galactosyl-sucrose, and isomalto-oligosaccharide in healthy human subjects, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **57**, 1150-1156 (2003)
- 28) Teitelbaum, J.E. and Walker, W.A.: Nutritional impact of pro- and prebiotics as protective gastro-intestinal organisms, *Annu. Rev. Nutr.*, **22**, 107-138 (2002)
- 29) 奥 恒行: 難消化吸収性糖質の有効エネルギー量について, *栄養学雑誌*, **54**, 143-150 (1996)
- 30) 奥 恒行: 各種食物繊維素材の暫定エネルギー換算係数について, *栄養学雑誌*, **61**, 263-266 (2003)
- 31) Butler, A.E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R.A. and Butler, P.C.: Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes, *Diabetes*, **52**, 102-110 (2003)
- 32) Kim, J.W., Ko, S.H., Cho, J.H., Sun, C., Hong, O.K., Lee, S.H., Kim, J.H., Lee, K.W., Kwon, H.S., Lee, J.M., Song, K.H., Son, H.Y. and Yoon, K.H.: Loss of beta-cells with fibrotic islet destruction in type 2 diabetes mellitus, *Front. Biosci.*, **13**, 6022-6033 (2008)

(受付:平成22年1月6日, 受理:平成22年10月6日)