短

報

海藻由来成分のインスリン様作用

友寄 博子,^{1*} 浅川 牧夫²

(2008年7月4日受付, 2008年9月4日受理)

¹熊本県立大学環境共生学部食健康科学科,²通宝海苔株式会社

Insulin-like effects in rats of a constituent of seaweed

HIROKO TOMOYORI^{1*} AND MAKIO ASAKAWA²¹Department of Food and Health Sciences, Prefectural University of Kumamoto, Kumamoto, 862-8502, ²Tsunohori Co., Ltd., Kumamoto, 862-0946, Japan

キーワード: インスリン様作用, 海藻, 糖尿病, ラット

生活習慣病の一つに挙げられる糖尿病は主としてⅡ型であり, インスリンの分泌不足またはインスリン抵抗性によるものである。また, 糖尿病の予防と治療には, 食後の急激な血糖値上昇を抑えることが重要だと考えられているが, あわせてインスリンの過剰分泌も抑える必要がある。インスリンは脂肪細胞において脂肪分解抑制作用を示す。¹⁾ 本研究では, このことを利用してラットの脂肪組織(臍周囲白色脂肪組織)を用いて海藻成分のインスリン様作用について検討した。また, 強い脂肪分解抑制作用を示した画分を用いて, ラットにグルコース負荷試験を行い, 海藻由来成分の血糖降下作用について検討を行った。

実験試料には, 熊本県産の3種類の海藻を使用した。その海藻は牛深産トサカノリ (*Meristotheca papulosa*), 有明産スサビノリ (*Porphyra yezoensis*), 天草産クロメ (*Ecklonia kurome*) である。これらを坂田ら²⁾の方法で, 熱水で抽出して得られたそれぞれの上清 (TE, NE, KE) に75% エタノールを添加し, その沈殿画分と非沈殿区分 (TS, NS, KS) に分けた。これらの画分の中から最も脂肪分解抑制作用を示した画分について, 坂田ら²⁾の方法で分子量ごとに各画分に分けて, 試験に供した。

実験動物には, ㈱九動 (佐賀県鳥栖市) より購入したウィスター系雄性ラットを用い, 室温 23°C, 12 時間のライトサイクルで飼育した。予備飼育は一週間行い, 固形飼育用飼料 CE-2 (㈱日本クレア 東京都) を自由摂取させ, 自由飲水とした。動物実験は, 熊本県立大学における研究に係る生命倫理に関する指針に基づき, 「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針 (文部科学省告示第七十一号)」を遵守して行った。

脂肪細胞におけるインスリン様作用測定法は次のように行なった。15~18 週齢のウィスター系雄性ラットをエーテル麻酔下でと殺し, 臍周囲の白色脂肪組織を摘出した。Hanks 緩衝液 (pH 7.4) で洗浄した脂肪組織に Hanks 緩衝液 (pH 7.4) を加えて細かく切断した。これを遠心分離して得られた上層を脂肪組織切片とした。2% BSA を含む Hanks 緩衝液 (pH 7.4) に被験物, ノルエピネフリン (終濃度 0.05 µg/mL) および調製した脂肪組織切片を加え, 37°C 60 分反応し, 遊離した脂肪酸量を測定した。活性値は無添加を 100% として各被験物の活性値を算出した。なお, 被験物はすべて Hanks 緩衝液 (pH 7.4) に溶解して実験に使用した。

グルコース負荷ラットの血糖値の測定法Ⅰを次に示す。6~7 週齢のウィスター系雄性ラットを一晩絶食し, 体重に有意差が出ないようにコントロール群と被験物群に分け, コントロール群には生理的食塩水を (530 µL/kg 体重), 被験物群は NS 中の分子量 1000 以下の画分 (130 µg/kg 体重) をラットの尾静脈より投与した。さらに投与 15 分後両群に D(+)-グルコース水溶液 (1.5 g/kg 体重) を非麻酔下で経口投与した。投与前を 0 分として経口投与 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360 分後に非麻酔下でラットの尾静脈より採血した。

グルコース負荷ラットの血糖値の測定法Ⅱを次に示す。10~11 週齢のウィスター系雄性ラットを一晩絶食し, 体重に有意差が出ないようにコントロール群と被験物群に分け, コントロール群には純水を被験物群は NS 中の分子量 1000 以下の画分 (263 mg/kg 体重) を D(+)-グルコース水溶液 (1.5 g/kg 体重) と同時に非麻酔下で経口投与した。投与前を 0 分として経口投与 30, 60, 120, 180, 240, 360 分後に非麻酔下でラットの尾静脈より採血した。

血糖値の測定はグルコース-B-テストワコー (和光純薬工業株式会社) を使用した。

統計処理において, 有意差検定をおこなう前に Bartlett の等分散検定によりデータの等分散性を確認し, 非等分散であったものに関しては常用対数または平方根をとって等分散性を保った上で有意差検定を行った。有意差検定は, Student's *t*-test により行った。また, $p < 0.05$ をもって有意差があると判定した。

3 種類の海藻抽出物で脂肪細胞におけるインスリン様作用を比較した結果, NS で最も強い脂肪分解抑制作用が見られた (Fig. 1)。更にこの画分を分子量の違いにより分けた試料について検討した結果, 分子量 1000 以

Fig. 1 The adipocyte lipolysis of seaweed extracts. Con. (control group), TE (*Meristotheca papulosa*, boiled water extracted fraction), TS (*Meristotheca papulosa*, 75% ethanol extracted fraction), KE (*Ecklonia kurome*, boiled water extracted fraction), KS (*Ecklonia kurome*, 75% ethanol extracted fraction), NE (*Porphyra yezoensis*, boiled water extracted fraction), NS (*Porphyra yezoensis*, 75% ethanol extracted fraction).

Fig. 2 The adipocyte lipolysis of the NS fractions separated by their molecular weights. Con. (control group), <1000 (fraction less than molecular weight 1000), <3000 (fraction less than molecular weight 3000), 3000-5000 (fraction molecular weight 3000 to 5000), 5000< (fraction less than molecular weight 5000).

下 (NS<1000) の画分で最も強い抑制作用が見られた (Fig. 2)。

先の結果から、NS<1000 画分のインスリン様作用を *in vivo* で確認する為に、グルコース負荷試験をラットで行った。インスリンは、経口摂取では消化酵素により分解される為にその作用を示さない。そこで、その作用を確認する為には、インスリンと同様に静脈に直接投与して確認する必要がある。そこで、ラット尾静脈より NS<1000 画分を投与し、グルコースをその 15 分後にそれぞれ経口投与して血糖値を測定し、その影響を検討

Fig. 3 Effect of NS<1000 fraction on serum glucose in the glucose tolerance test. NS<1000 solution or saline solution was administered at the caudal vein. 15 minutes after each administration, the glucose solution was administered orally. Blood samples were taken for glucose determinations 0, 30, 45, 60, 120, 180, 240 and 360 minutes later. Each value represents the mean SE from 6 rats. Significantly different from control, * $p < 0.05$.

Fig. 4 Effect of NS<1000 fraction on serum glucose in the glucose tolerance test. NS<1000 solution or purified water was administered orally with glucose solution. Blood samples were taken for glucose determinations 0, 30, 60, 120, 180, 240 and 360 minutes later. Each value represents the mean SE from 6 rats. Significantly different from control, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

した。その結果、グルコース負荷 360 分後有意にコントロール群よりも低い値を示した (Fig. 3)。このことから、この画分はラットの血中でインスリン様作用を示すことで血糖値を下げた可能性が示された。さらに、食

品としての利用を検討する為に、NS<1000画分を経口投与し、食後血糖値を下げる効果を示すかについて検討を行った。その結果、Fig. 4に示すようにグルコース負荷180分後有意にコントロール群よりも低い値を示した。現在、食後の血糖値を下げる食品由来成分は数多く報告されているが、そのほとんどが炭水化物の消化に関わる研究であり、その中でも、 α -グルコシダーゼ活性阻害を利用した研究が数多く報告されている。^{3,4)} 食品以外にも医薬品としてその効果を利用したものが使用されているが、その副作用が指摘されている。⁵⁾ 血糖をコントロールするホルモンはヒトの体内にはインスリンしかなく、特にI型糖尿病では静脈注射によって血糖値を制御している。そこで、経口摂取可能なインスリン製剤が望まれている。現在、外因性スクレオシドであるアデノシン、⁶⁾ パナジウム、⁷⁾ ペプチド⁸⁾などにインスリン様があることが報告されている。本研究で得られたNS<1000画分は、経口摂取によっても血糖値を下げる効果を示したことから、経口投与可能な食品成分として有効であると考ええる。今後活性成分についてさらに追求したいと考えている。

謝 辞

本研究は、平成15～17年度文部科学省都市エリア産官学連携促進事業(一般型)熊本県南エリア(県南グリー

ンバイオエリア)ならびに平成19年度科学研究費補助金若手研究(B)No. 19700597によって援助されて行われました。また、ご協力頂いた熊本県立大学環境共生学部Lavin, Richard Steven先生に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Goko H, Takashima S, Kawamuro A, Matsuoka A. Insulin-like effects of dithiothreitol on isolated rat adipocytes. *Biochem J.* 1981; **200**: 425-458.
- 2) 坂田美保, 恵良聖子, 浅川牧夫. 海藻多糖類のレオロジー特性と食品への利用. 熊本大学教育学部紀要 2005; **54**: 69-74.
- 3) 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. グァバ葉熱水抽出物の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 1998; **72**: 923-931.
- 4) 海老原清. 食物繊維の栄養・生理機能に関する研究. 日本栄養・食糧学会誌 2008; **61**: 3-9.
- 5) 森 保道. 経口血糖降下薬の副作用とその対策. 日本臨床 2002; **60**(増刊9): 325-324.
- 6) 森本千恵, 亀田健治, 辻田隆広, 奥田 拓道. 脂肪細胞におけるアデノシンのインスリン様作用について. 肥満研究 2002; **8**: 92-93.
- 7) Meyerovitch J, Farfel Z, Sack J, Shechter Y. Oral administration of vanadate normalizes blood glucose levels in streptozotocin-treated rats. Characterization and mode of action. *J. Biol. Chem.* 1987; **262**: 6658-6662.
- 8) 梶原英之. 抗脂質分解活性を持つ植物由来ペプチドの分析. 生物研報 2000; **14**: 53-135.