

ヤーコン茶葉熱水抽出物の *in vitro* での α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼ阻害作用

In Vitro α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Effects of Herbal Tea Leaves from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)

上田裕人¹, 菅原進太郎¹, 松田靖^{1,2}, 村田達郎^{1,2}, 黒田泰弘³, 星良和^{1,2},
椋田聖孝^{1,2}, 小野政輝^{1,2}, 井越敬司^{1,2}, 安田伸^{1,2,*}

¹東海大学大学院農学研究科, ²東海大学農学部, ³東海大学工学部

Yuto Ueda¹, Shintaro Sugahara¹, Yasushi Matsuda^{1,2}, Tatsuro Murata^{1,2}, Yasuhiro Kuroda³, Yoshikazu Hoshi^{1,2},
Kiyotaka Kabata^{1,2}, Masateru Ono^{1,2}, Keiji Igoshi^{1,2} and Shin Yasuda^{1,2,*}

¹Graduate School of Agriculture, Tokai University, ²School of Agriculture, Tokai University, ³School of Engineering, Tokai University

*連絡先: 安田伸 (先進生命科学研究所 高機能食品研究部門)

*Corresponding author: Shin Yasuda (Division of Functional Food Science, Institute of Advanced Biosciences)

[要旨]

ヤーコン (*Smallanthus sonchifolius*) は、一部地域で糖尿病や消化/腎障害を患う人々のための民間伝承薬として使用されている。我々は、本植物ならびにその加工食品の機能性研究の一貫として、抗糖尿病作用に着目している。ヤーコン茶葉熱水抽出物は2型糖尿病に対する食後過血糖治療薬アカルボース換算で糖質消化酵素である α -グルコシダーゼに対し0.638、 α -アミラーゼに対し0.0369倍の阻害効力を示した。以上より、とくに α -グルコシダーゼ阻害を機序とする血糖値上昇抑制作用の面で応用利用に期待が持たれる。

[Abstract]

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) has been regionally used as a folk medicine for the people suffering from diabetes and digestive/renal disorders. This study aims to examine multi-functional role of the hot-water extract of herbal tea leaves from yacon, especially in the field of anti-diabetes. The extract demonstrated inhibiting capacity in α -glucosidase assay with 0.638-fold and in α -amylase assay with 0.0369-fold of acarbose, a drug for treatment of type 2 diabetes. These results may indicate the potential of the herbal tea leaves from yacon to manage hyperglycemia in view of α -glucosidase inhibitor.

[Key Words]

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*), α -amylase, α -glucosidase, acarbose

1. はじめに

ヤーコン (*Smallanthus sonchifolius*) はキク科スマランサス属の一種であり、南米アンデス山脈地方原産の多年生草木である。過去数十年に渡り、ヤーコンはアジア (日本, 韓国, 台湾, 海南およびフィリピン), オセアニア (ニュージーランド), そしてヨーロッパ (チェコ共和国) などの様々な場所に導入されてきた[1]。この植物の塊根は、サツマイモのような形状であり、歴史的に果物/野菜として摂取されており、現在では、南米にてシロップ、ジュース、マーマレードなどの加工食品として利用されている[1, 2]。ヤーコンの葉部の一部はハーブティーとして地元の市場で消費されている。最近では、ヤーコンは地域によっては食事療法を必要とする患者のための潜在的な代替食として考えら

れている[2]。また、糖尿病や消化/腎障害を患う人々のための民間薬としても使用されている。これは豊富な難消化性フラクトオリゴ糖と有益なポリフェノールに起因する可能性が示されている[3]。さらにヤーコン塊根は、抗酸化作用[4]、ラットにおける抗糖尿病作用[5]、ヒトにおける抗肥満[6]および糖尿病ラットに対する脂質低下作用[7]が研究されている。また葉部は、抗真菌作用[8]、抗酸化作用[9]、正常および糖尿病ラットモデルにおける血糖降下作用[10]を有することが報告されている。これまでに我々は、ヤーコン茶葉の機能性研究に着手しており、これまでに複数のフリーラジカル種に対する抗酸化作用、特に活性酸素種の1つであるスーパーオキシドアニオン (O_2^-) ラジカルに対する抑制作用について酸化酵素やヒト顆粒球様好中球細胞モ

デルを用いて明らかにしてきている[11]. 我々は、本植物ならびにその加工食品の新たな機能性として、抗糖尿病作用に着目している。

厚生労働省が実施した平成 26 年(2014 年)の「患者調査」によると、糖尿病患者数は 316 万 6 千人となり、前回(平成 23 年(2011 年))の調査より 46 万 6 千人増加し、過去最高値となった。また同年に実施した「国民健康・栄養調査」によると糖尿病有病者(糖尿病が強く疑われる人)の割合は、男性で 15.5%、女性で 9.8%であり、2006 年の調査に比べ増加していることがわかっている。さらに、国際糖尿病連合(IDF)によると、世界の糖尿病人口は増加傾向にあり、2015 年で糖尿病有病者は 4 億 1,500 万人になり、前年より 2,830 万人増加している。これにより、有効な対策を施さないと、2040 年までには 6 億 4,200 万人に増加すると推測されている(厚生労働省ホームページより)。日本糖尿病学会の「糖尿病診断基準に関する調査検討委員会」は「糖尿病とはインスリン作用が不足することにより起こる代謝症候群であり、慢性の高血糖を主徴とするが、同時に脂質代謝や蛋白代謝にも各種の異常をきたし、これらが三大合併症をはじめとする全身の慢性合併症を引き起こす」と概念を唱えている。糖尿病は成因(発生機序)から 1 型糖尿病(インスリン依存型)と 2 型糖尿病(インスリン非依存型)に大きく分類される。1 型糖尿病は膵臓のβ細胞の破壊によるもので、通常は絶対的インスリン欠乏に至る[12]。糖尿病症例の約 90%を占める 2 型糖尿病は、インスリン分泌障害またはインスリン抵抗性などの遺伝的要因の他に、過食、運動不足、肥満、ストレスおよび加齢などの環境因子に依存する[13-15]。この糖尿病の進行は、小腸での食物の炭水化物の吸収を抑制することにより緩和させることが可能であり、リスク軽減の観点より糖質消化酵素阻害を標的とした本疾病予防策が提唱されている[13, 14]。

口腔、膵臓から分泌される唾液、膵液中に含まれるα-アミラーゼにより、炭水化物としてのデンプンのアミロースのα-1,4-グルコシド結合がアトランダムに加水分解され、マルトースが生じる。その後、小腸上皮細胞膜(刷子縁、細胞質)のα-グルコシダーゼもまた、マルトースの持つα-1,4-グルコシド結合を加水分解し、グルコースへと分解する。その後、グルコースは小腸の持つトランスポーターより体内に吸収される。従って、これらの糖質消化酵素(α-アミラーゼやα-グルコシダーゼ)を効果的に阻害または抑制することにより、糖の吸収と続く急激な血糖値の上昇を抑制することが可能

となる。アカルボースは、食後過血糖治療薬とも呼ばれ臨床的に服用される医薬品であり、十二指腸球部以下の小腸上皮のα-グルコシダーゼや膵臓から分泌されるα-アミラーゼを競合的に阻害し、糖質の吸収を遅延させる作用を持つことを機序とする[15-17]。しかしながら、2 型糖尿病治療におけるアカルボース投与に関する調査では、服用後の腹部膨満や下痢などといった副作用が原因となり、初期患者が継続服用を止めるケースが 19%に達すると報告されている[16]。近年、薬用植物を利用したバナバ茶、おとぎり草茶、グアバ茶、ギムネマシルベスタ茶、クワの葉茶を始めとする健康志向食材の糖質消化酵素抑制作用が検証されるにつれ、食材等によっては糖尿病リスク軽減効果に期待されるものが見出されつつある[18-21]。我々はこれまでに、地域の特色ある食材としての食用イグサ(*Juncus effusus* L. (Juncaceae))の有する糖質消化酵素阻害作用について研究を行い、α-アミラーゼおよびα-グルコシダーゼの両試験において、抑制作用を示すことを報告してきた[22]。

本研究では、ヤーコン茶葉熱水抽出物の潜在的な糖質消化酵素阻害作用について調べるため、*in vitro* でα-グルコシダーゼおよびα-アミラーゼに対する阻害作用について調べることにした。さらに、両試験におけるポジティブコントロールにアカルボースを使用し、薬効をアカルボース換算の阻害能として定義し評価することとした。

2. 結果の概要

1) ヤーコン茶葉熱水抽出物のα-グルコシダーゼ阻害活性

ヤーコン茶葉熱水抽出物を我々の既報に基づきα-グルコシダーゼ阻害試験に供した[22]。その結果、濃度依存的な阻害活性の上昇が認められ、470 μg/ml の半数阻害濃度(IC₅₀)値が得られた(Figure 1)。ポジティブコントロールとして用いたアカルボースの IC₅₀ 値は 300 μg/ml であった。我々はこれまでに、食用イグサのα-グルコシダーゼ阻害活性について調べてきた。その結果、食用イグサの熱水抽出物の IC₅₀ 値は 2,000 μg/ml となり、エタノール抽出物の IC₅₀ 値は 912 μg/ml であった[22]。従って、ヤーコン茶葉熱水抽出物は、我々がかつて報告した食用イグサ抽出物よりもα-グルコシダーゼに対して強い阻害作用を有することが認められた。本研究で用いた抽出物は、我々が以前報告した際に調製したものであり、熱水抽出物 1 mg 当たり 0.279 mg の

ポリフェノールが含まれていること、収率より乾燥茶葉1g当たり0.0776gのポリフェノールが含まれていることが明らかとなっている[11]。また、これまでにヤーコン葉のフェノール性の主成分にはクロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸等が挙げられ[23]、これらが成分レベルで α -グルコシダーゼ阻害作用を示すことが報告されている[24-26]。さらに、ヤーコン葉特有のカフェオイル誘導体[27]が特に強い α -グルコシダーゼ阻害作用を示すことが報告されており[28, 29]、これらのポリフェノール成分が本研究で用いたハーブティーの α -グルコシダーゼ阻害に対して大きく貢献している可能性がある。

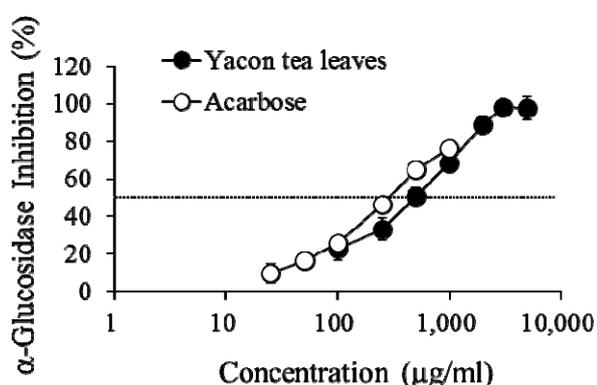


Figure 1. Effect of hot-water extract from herbal tea leaves from yacon in α -glucosidase inhibition assay. Data shown represent mean \pm S.D. from four experiments. Acarbose was used as the standard sample.

2) ヤーコン茶葉熱水抽出物の α -アミラーゼ阻害活性

ヤーコン茶葉熱水抽出物を我々の既報に基づき α -アミラーゼ阻害試験に供した[22]。その結果、ここでも濃度依存的な阻害活性の上昇が認められ、582 $\mu\text{g/ml}$ の IC_{50} 値が得られた (Figure 2)。ポジティブコントロールとして用いたアカルボースの IC_{50} 値は 21.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。我々はこれまでに、食用イグサの α -アミラーゼ阻害活性についても調べてきた。その結果、食用イグサの熱水抽出物の IC_{50} 値は >2,500 $\mu\text{g/ml}$ となり、エタノール抽出物の IC_{50} 値は 1,990 $\mu\text{g/ml}$ であった[22]。従って、ヤーコン茶葉熱水抽出物は、食用イグサ抽出物よりも α -アミラーゼに対して強い阻害作用を有することが認められた。ヤーコン葉中のフェノール性の主成分であるクロロゲン酸、カフェ酸、フェルラ酸等もまた、成分レベルで α -アミラーゼ阻害作用を示すことが報告されている[30, 31]。ヤーコン葉特有のカフェオイル誘導体[27]もまた、 α -アミラーゼ阻害作用を示すことが報告されており[31]、これらのポリフェノール成分

が本研究で用いたハーブティーの α -アミラーゼ阻害に対して大きく貢献している可能性がある。

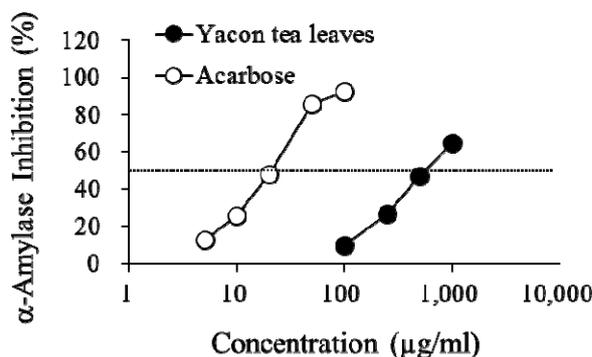


Figure 2. Effect of hot-water extract from herbal tea leaves from yacon in α -amylase inhibition assay. Data shown represent mean \pm S.D. from three experiments. Acarbose was used as the standard sample.

3) 糖質消化酵素阻害試験におけるアカルボース換算阻害能 (AEIC) の評価

α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼ阻害活性試験 (Figure 1 および Figure 2 参照) で得られたヤーコン茶葉熱水抽出物の IC_{50} 値を Table 1 にまとめた。近年、試験対象物の効能を評価する際には、基準物質を用いた相当量あるいは換算値として算出することがある。例えば、食材やエキスそのものの抗酸化効力の場合には、抗酸化物質であるトロロックス相当量として表すことが可能である[11]。これまでに我々は、アカルボースを基準とした糖質消化酵素阻害作用を検証するべく、食後過血糖治療薬アカルボースより得られた IC_{50} 値をもとに、食用イグサ由来の抽出物の薬効をアカルボース換算の阻害能 (AEIC: acarbose equivalent inhibiting capacity) として定義し評価してきた[22]。本サンプルにおいてもこの評価が可能であるため、検討を試みることにした。AEIC の算出は、アカルボースの IC_{50} 値 (分子) と試験サンプルの IC_{50} 値 (分母) との比に基づいて求めることができる。即ち、抽出物の阻害効果がアカルボースと同等もしくはそれ以上である場合、分母と分子に位置する IC_{50} 値の単位 (例えば $\mu\text{g/ml}$ や μM) が同じ場合に限定して、アカルボース換算阻害能は 1.00 またはそれ以上の値を示し、阻害効果が低い場合には 0 に近似することとなる。本研究で得られた結果より、ヤーコン茶葉熱水抽出物で認められた α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼに対する阻害作用は、それぞれアカルボースの 0.638 と 0.0369 倍であることが見出された。我々はこれまでに食用イグサの熱水抽出物の α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼに対する

AEIC 値にはそれぞれ、 <0.307 および <0.00908 , エタノール抽出物の AEIC 値には、 0.673 および 0.0114 の値を得ている[22]. 従って、本実験で明らかにしたヤーコン茶葉熱水抽出物のアカルボース換算では α -アミラーゼに対してよりも、 α -グルコシダーゼに対してより効果的に阻害すること、前報の食用イグサよりも比較的アカルボースに迫る α -グルコシダーゼ阻害能を有していることが判明した。

Table 1. IC₅₀ values and acarbose equivalent inhibiting capacity of hot-water extract from yacon tea leaves in α -glucosidase and α -amylase inhibition assays.

| | IC ₅₀ value* (μg/ml) | | AEIC** (g AE/g of extract) |
|-----------------------|---------------------------------|----------|-------------------------------|
| | Yacon tea leaves | Acarbose | Yacon tea leaves |
| α -Glucosidase | 470 | 300 | 0.638 (275)** |
| α -Amylase | 582 | 21.5 | 0.0369 (15.9) |

*Data shown represent mean value from four experiments (see **Figure 1**) and three experiments (see **Figure 2**). Acarbose was used as the standard sample.

**AEIC value was defined as the ratio of IC₅₀ value (acarbose (μg/ml)/test sample (μg/ml)). AE, acarbose equivalent.

***Data shown in parentheses are AEIC (μmol AE/g D.W.), D.W., dry weight of yacon tea leaves.

これまでに、92 種類の伝統薬を用いて糖質消化酵素阻害作用が探索されており、そのうち 27 種類の薬用植物に α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼ阻害能が報告されている[32]. そこでは、アセトン/エタノール/水 (2:2:1 容量比) による抽出物を用い、コーンスターチを基質にブタ膵臓由来の α -アミラーゼとラット小腸由来アセトンパウダー中の α -グルコシダーゼに対する阻害活性が測定されており、薬用植物そのものの乾燥粉末重量 1 g 当たりのアカルボース相当量 (μmol AE/g D.W.) として阻害能が示されている。本研究で得られた AEIC とは単位が異なるため、既報[32]と同じく乾燥粉末重量 1 g 当たりのアカルボース換算阻害能 (μmol AE/g D.W.) に算しなおして比較を試みた。本研究において使用した熱水抽出時の乾燥ヤーコン茶葉粉末の α -グルコシダーゼに対するアカルボース相当の阻害効力は $275 \mu\text{mol AE/g D.W.}$ が得られ、 α -アミラーゼに対する阻害効力は $15.9 \mu\text{mol AE/g D.W.}$ が算出された (Table 1)。この時、食用イグサのエタノール抽出時の乾燥粉末の α -グルコシダーゼ、ならびに α -アミラーゼに対するアカルボース相当の阻害効力はそれぞれ、 34.6 およ

Bulletin of the Institute of Advanced Biosciences, Vol.1, March 2017

び $0.586 \mu\text{mol AE/g D.W.}$ が算出されている[22]. 抽出溶媒や条件が既報と同一とは言えないものの、ヤーコン茶葉そのものの α -グルコシダーゼに対する阻害効力は既報の 27 種類より得られた結果 ($0.6-31.6 \mu\text{mol AE/g D.W.}$) と比較しても明らかに高い値を示すことが確認された。一方、 α -アミラーゼに対する阻害効力は、既報の 27 種類より得られた結果 ($2.4-349.2 \mu\text{mol AE/g D.W.}$) と比べても低い値を示すに留まった。

3. 展望

ヤーコン茶葉の機能特性に関する科学的エビデンスの付与を目的に、ヤーコン茶葉熱水抽出物を用いて α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼに対する阻害活性を評価した。食後過血糖治療薬アカルボースをポジティブコントロールとして、その薬効を換算阻害能として評価し、 α -グルコシダーゼに対して 0.638 倍ほどの阻害作用を有することを見出した。ヤーコン茶葉が持つ潜在的な糖質消化酵素阻害機構の解明には、有効成分の分離同定や定量、分子レベルでの評価、細胞ならびに生体レベルでの評価など、更なる検証が必要であるものの、同糖質消化酵素阻害を機序とする血糖値上昇抑制作用などへの応用利用に期待が持たれる。

4. 引用文献

- [1] Ojansivu *et al.*, *Trends Food Sci. Tech.* **22**, 40 (2011)
- [2] Delgado *et al.*, *Plant Foods Hum. Nutr.* **68**, 222 (2013)
- [3] Campos *et al.*, *Food Chem.* **135**, 1592 (2012)
- [4] Yan *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **47**, 4711 (1999)
- [5] Oliveira *et al.*, *Food Chem. Toxicol.* **59**, 256 (2013)
- [6] Genta *et al.*, *Clin. Nutr.* **28**, 182 (2009)
- [7] Habib *et al.*, *Chem. Biol. Interact.* **194**, 31 (2011)
- [8] Lin *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 2154 (2003)
- [9] Valentova *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **53**, 5577 (2005)
- [10] Aybar *et al.*, *J. Ethnopharmacol.* **74**, 125 (2001)
- [11] Sugahara *et al.*, *J. Food Sci.* **80**, C2420 (2015)
- [12] 清野ら, *糖尿病* **55**, 485 (2012)
- [13] Matsui *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **60**, 2019 (1996)
- [14] Kumar *et al.*, *Pharmacogn Rev.* **5**, 19 (2011)
- [15] Satoh *et al.*, *J. Ethnopharmacol.* **161**, 147 (2015)
- [16] Chiasson *et al.*, *Lancet.* **359**, 2072 (2002)
- [17] Hu *et al.*, *Clin Ther.* **37**, 1798 (2015)
- [18] 鈴木ら, *日本栄養・食糧学会誌* **54**, 131 (2001)
- [19] 松浦ら, *薬学雑誌* **124**, 217 (2004)

- [20] 田村ら, 日本家政学会誌 **60**, 673 (2009)
- [21] Rios *et al.*, *Planta Med.* **81**, 975 (2015)
- [22] 西村ら, 東海大学紀要農学部 **35**, 1 (2016)
- [23] Valentova *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **54**, 1347 (2006)
- [24] Matsui *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**, 2239 (2004)
- [25] Kwon *et al.*, *J. Food Biochem.* **32**, 15 (2008)
- [26] Ma *et al.*, *J. Med. Chem.* **51**, 6188 (2008)
- [27] Chagas *et al.*, *Plant Med.* **81**, 1296 (2015)
- [28] 寺田ら, 薬学雑誌 **126**, 665 (2006)
- [29] Gao *et al.*, *Food Chem.* **106**, 1195 (2008)
- [30] Rohn *et al.*, *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3566 (2002)
- [31] Narita and Inouye, *J. Agric. Food Chem.* **57**, 9218 (2009)
- [32] Feng *et al.*, *Am. J. Chin. Med.* **41**, 849 (2013)

5. 業績

【論文発表】

1. Sugahara, S., Ueda, Y., Fukuhara, K., Kamamuta, Y., Matsuda, Y., Murata, T., Kuroda, Y., Kabata, K., Ono, M., Igoshi, K. and Yasuda, S., Antioxidant Effects of Herbal Tea Leaves from Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) on Multiple Free Radical and Reducing Power Assays, Especially on Different Superoxide Anion Radical Generation Systems, *J. Food Sci.* **80**, C2420-C2429 (2015).
2. 西村龍彦, 上田裕人, 椛田聖孝, 小池晶琴, 小野政輝, 井越敬司, 安田伸. 食用イグサの*In vitro*での -アミラーゼおよび -グルコシダーゼ阻害作用, 東海大学紀要農学部 **35**, 1-7 (2016)

【学会等発表】

- 1) 上田裕人, 丸田梨愛, 酒井温子, 松田靖, 村田達郎, 黒田泰弘, 椛田聖孝, 小野政輝, 井越敬司, 安田伸: 品種の異なるヤーコン葉部の -グルコシダーゼ阻害作用と相関性の検討. 第19回生物機能研究会, 2015.7 佐賀

6. 謝辞

本研究の一部は, 東海大学総合研究機構プロジェクト研究, 総合農学研究所プロジェクト研究, および先進生命科学研究所プロジェクトの資金援助により実施されたものです.