

平成 29 年度 学内研究助成金 研究報告書

研 究 種 目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研 究 課 題 名	カンカニクジュヨウ中主成分エキナコシド、アクテオシドの食後血糖上昇抑制メカニズムの解明	
研究者所属・氏名	研究代表者： 島田紘明	

1. 研究目的・内容

本研究ではカンカニクジュヨウ中主成分エキナコシド(ECH)およびアクテオシド(ACT)の Na^+ 依存性グルコース輸送体(SGLT1)介在性グルコース取込み阻害活性を明らかにすることを目的とする。本研究では 1) ヒト腸管上皮モデル Caco-2 細胞における SGLT1 介在性グルコース取込みの評価、2) SGLT1 介在性グルコース取込みに対する ECH と ACT の阻害活性について検討する。

2. 研究経過及び成果

本研究では、蛍光性グルコースアナログである 2-NBDG を基質として用い、Caco-2 細胞における 2-NBDG の細胞内への取込み活性を Na^+ 共存下及び非共存下で評価した。Caco-2 細胞は既報に従い、SGLT1 発現を誘導するために播種後 2-NBDG 取込み実験まで 16-21 日間培養した。培地交換は 2 日に 1 度行った。

Na^+ 存在下では非存在下と比較して有意に高い 2-NBDG 取込み活性が見られた。さらに、 Na^+ 存在下における 2-NBDG 取込みは、SGLT1 の典型的阻害薬であるフロリジンにより濃度依存的に阻害された。一方で、 Na^+ 非共存下ではフロリジンにより 2-NBDG 取込み活性は阻害されなかった。以上の結果より、本研究により 2-NBDG により Caco-2 細胞における SGLT1 活性を評価可能であることを初めて明らかにした。

次に、ECH および ACT の SGLT1 介在性グルコース輸送に対する阻害活性を検討した。ECH および ACT は Na^+ 存在下において 2-NBDG 取込みを濃度依存的に阻害した一方、フロリジン同様に Na^+ 非共存下では 2-NBDG 取込み活性を阻害しなかった。フロリジン、ECH および ACT の Na^+ 依存的な 2-NBDG 取込みに対する 50% 阻害濃度(IC_{50})はそれぞれ $163.0 \pm 1.7 \mu\text{M}$ 、 $7.8 \pm 1.2 \mu\text{M}$ 、 $7.1 \pm 1.5 \mu\text{M}$ と算出された。したがって、ECH と ACT はフロリジンよりも約 20 倍強く SGLT1 介在性グルコース輸送を阻害することが明らかになった。また、 Na^+ 非共存下では阻害が見られなかったことから、SGLT1 を選択的に阻害する可能性がある。

以上より、本研究で得られた成果は 1) 2-NBDG により Caco-2 細胞における SGLT1 介在性輸送を評価できること、2) ECH および ACT が SGLT1 介在性グルコース取込み輸送を強力かつ特異的に阻害することの 2 点を解明したことである。従来、ECH と ACT の食後血糖上昇抑制作用は二糖分解酵素である α -グルコシダーゼに対する阻害活性で説明されてきたが、阻害活性が非常に弱い場合、食後血糖上昇抑制作用メカニズムの解明には至っていなかった。本研究により、ECH と ACT の SGLT1 阻害によるグルコースの消化管吸収抑制が食後血糖上昇抑制作用の理論的根拠として示された。したがって、カンカニクジュヨウやその主成分である ECH と ACT は、食後の血糖上昇を抑制するための健康食品や抗糖尿病薬のシーズとして有用である。

本研究成果は、H29 年度に国際学会における招待講演 1 回、国内学会における口頭発表 2 回および学術雑誌へ論文報告 1 報行った。さらに、本内容にて特許出願中である (発明の名称：グルコース輸送阻害剤及びグルコース輸送阻害用の機能性食品、出願番号：特願 2017-162174、発明者：岩城正宏、島田紘明、村岡修、森川敏生、二宮清文)。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

ECH と ACT は経口投与後の生体利用率が著しく低いことが知られている。本研究では、消化管内で SGLT1 阻害活性を示すことを明らかにしたため、生体利用率は低くても薬効を示す。しかし、ECH と ACT にはその他の様々な薬理作用が報告されているにも関わらず、血中に入ることができないためその薬効が期待できない。そこで、現在は ECH と ACT の生体利用率を向上するために、消化管および肝臓における初回通過効果について検討している。

今後以下の点について明らかにしていく。

1) ECH・ACT の Caco-2 細胞への取込みやラット腸管からの吸収における SGLT1 の寄与解明

2) ECH・ACT の肝臓における代謝機構の解明

現在までに、ECH と ACT が SGLT1 の基質とならないことや、肝臓においてカテコール-O-メチルトランスフェラーゼによって著しく代謝されることを示唆している。今後、ECH と ACT の生体利用率が低い原因を解明することにより、構造変換などにより薬効を維持したまま初回通過効果を回避できる、新規化合物の創出を目指したい。

4. 成果の発表等

発 表 機 関 名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
The 9th Symposiums on Cistanches Herba and Desert Medicinal Plants	招待講演	2017 年 5 月
特許庁	特許出願	2017 年 8 月
日本生薬学会第 64 回年会	口頭発表	2017 年 9 月
第 39 回生体膜と薬物の相互作用シン ポジウム	口頭発表	2017 年 10 月
Journal of Functional Foods	学術雑誌	2017 年 12 月