

機能性に優れた県産食品素材の検索(Ⅱ)*

山口 佑子**、岸 敦***、小浜 恵子****

アルドースレダクターゼは糖尿病合併症の発症に深く関与しており、合併症の予防にはAR活性を阻害することが重要であると言われている。前報の糖尿病予防効果に関する一次スクリーニングにて高い評価を得た県産農産物約50種について、AGE(Advanced Glycation End Products)生成抑制能、DPPHラジカル消去活性およびアルドースレダクターゼ阻害活性を評価した。その結果、多数の農産物で再現性を確認でき、また高いアルドースレダクターゼ阻害活性を持つ機能性に優れた農産物が見つかった。

キーワード：糖化変性、アルドースレダクターゼ、糖尿病

Relative Estimation of Food Functionality of Agricultural Products Harvested in Iwate Prefecture

YAMAGUCHI Yuko, KISHI Atsushi and KOHAMA Keiko

Aldose reductase is a key enzyme in the polyol pathway. It is related to many complications associated with diabetes. The inhibition of Aldose reductase is possible method to prevent or delay diabetic peripheral neuropathy. In this study, we measured inhibition of aldose reductase activity of 48 agricultural products. These agricultural products showed strong food functionality in first screening. And we measured radical scavenging activity (DPPH radical scavenging activities) and physiological functional activities which work on AGEs generation inhibitory by using ELISA system. As a result, some agricultural products showed strong food functionality.

key words : glycation, aldose reductase, diabetes

1 緒 言

消費者の健康食品に関する興味や関心は年々高まっており、それに伴って健康食品市場も年々増大している。そのため、食品の高付加価値化のためには何らかの機能性を見いだすことが必要であり、食品の機能性解明に重点を置く企業は増加の傾向にある。そこで我々は、県産食品素材の機能性面での高付加価値化を目的として、生活習慣病の中でも国民病といわれるほど発症率の高い糖尿病に着目した機能性評価に取り組んでいる。糖尿病を発病し高血糖状態が続くと、生体内におけるタンパク質の非酵素的糖付加反応が促進され糖化タンパク質が生成される(グリケーション)。これらはその後の反応過程を経て、非酵素的糖付加反応-後期反応生成物(AGE: Advanced Glycation End Products)となり、生体内で種々の糖尿病の病態(腎臓障害、視力障害、etc)を引き起こす原因となる^{1),2)}。これら一連の反応では、ラジカルの発生によりAGEの生成が促進されるともいわれており、抗酸化活性もAGE生成の抑制に重要と考えられている。一方、AGEの前駆物質であるグリオキサール、3-デオキシグルコソンなどのジカルボニル化合物は、アルドースレダクターゼを介するポリオール経路により合成されることが知

られている。そのため、糖尿病合併症の予防のためにはアルドースレダクターゼの働きを阻害することも有効である³⁾。

前報⁴⁾ではAGE生成抑制という点に着目した一次スクリーニングとして、約250種類の県産農産物の糖化タンパク質生成抑制能および抗酸化活性を評価した。その結果、高い活性を持つ食品素材が多数見つかった。

そこで本報告では一次スクリーニングの結果を踏まえ、活性の高い36品種について、改めてサンプルを収集し、前報同様の評価に加え、アルドースレダクターゼ阻害活性についても分析したので報告する。

2 実験方法

2-1 分析試料

今回測定に用いた試料は、岩手県農業研究センター、盛岡農業普及センター、独立行政法人果樹試験場などを通じて県内より収集した。農産物の種類は小果実類を中心に36品種48種類(産地、時期別など)であった。収集した品種は以下の通り。

キャンベル、紅伊豆、安芸クイーン、巨峰、サニールージュ、ナイアガラ、藤稔、天秀、UK、ブルーチップ、

* いわて新ブランド食品創生事業

**** 食品技術部

** 食品技術部(現 醸造技術部)

*** 食品技術部(現 商工企画室)

シェラ、ダロー、ヌイ、ブルーレイ、エリオット、スパータン、ブルーレイ、ハリソン、コビル、ミーダー、レカ、ブリギッダ、トロ、プル、レイトブルー、シグネクト、グーズベリー、アロニア、カシス、フサスグリ、ラズベリー、メイポール、カリン、アカモク、黒米（朝紫）、赤米（紅衣）。

2-2 試料抽出液の調製

試料は前報⁴⁾同様に可食部を凍結乾燥後、粉碎し、10倍量 (w/v) の100%エタノールで1時間抽出、または純水で熱水抽出した。この抽出液を濾過し、試料抽出液とした。

2-3 総ポリフェノール含量の測定

各試料の総ポリフェノール量は既報⁵⁾に従って測定し、没食子酸相当量として算出した。

2-4 ラジカル消去活性の測定

有色ラジカルであるDPPHの消去活性は、既報⁵⁾に従って測定し、没食子酸相当量として算出した。

2-5 糖化タンパク質生成抑制能の測定

糖化タンパク質生成抑制能は、前報⁴⁾に従って測定し、対照として用いた10mM G-Rutinの生成抑制率と比較することにより、相対的な生成抑制能を算出した。

2-6 糖化タンパク質生成抑制能の測定

アルドースレダクターゼ阻害活性は進藤らの文献⁶⁾の方法に準じて測定した。96穴マイクロプレートにて、0.2mMリン酸緩衝液 (pH6.2) 50μl に 1.5mM NADPH10μl、100mM DL-グリセルアルデヒド10μl、水10μl、及び抽出液10μlを加え、さらに0.03unit/mlのヒト組換え体アルドースレダクターゼ (和光純薬 (株) 製) 10μlを添加した後、25℃で酵素反応を15分間行った。対照として試料の代わりに水を用いた場合についても同様の操作を行った。マイクロプレートリーダーで340nmにおける酵素反応前と終了後の吸光度の差からNADPHの減少量を求め、阻害活性を算出した。

3 結果および考察

3-1 試料中の総ポリフェノール含量

図1に、各試料中の総ポリフェノール量の分布を示した。前報⁴⁾同様、ほとんどの試料でエタノール抽出よりも熱水抽出の方が高いポリフェノール量を示していた。熱水抽出物ではアロニア、カリン、フサスグリ、カシス、アカモクなどに多く含まれていた。エタノール抽出物でも、ほぼ同様の結果であった。これらは前報⁴⁾でも高い値を示しており、同様の傾向が認められた。

3-2 各測定法によるラジカル消去活性の比較

図2に、各試料のDPPHラジカル消去活性の分布を示した。各試料は活性が高い順に並べてある。前報⁴⁾同様、熱水抽出物の方がエタノール抽出物よりも活性が高いが、これは総ポリフェノール含量が高いためと考えられる。48点のサンプルを測定したが、その中で活性の低い試料は (1mg没食子酸相当量/g以下) は抽出法によらず約10

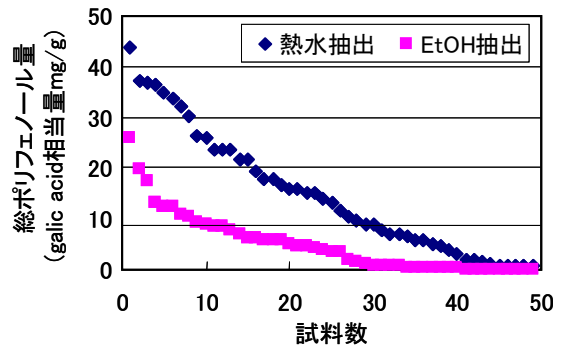


図1 総ポリフェノール含量分布

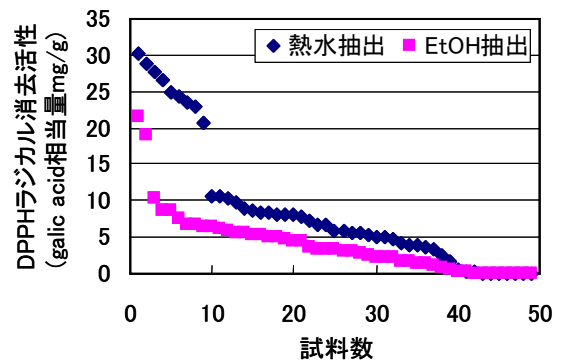


図2 DPPH ラジカル消去活性分布 (没食子酸相当)

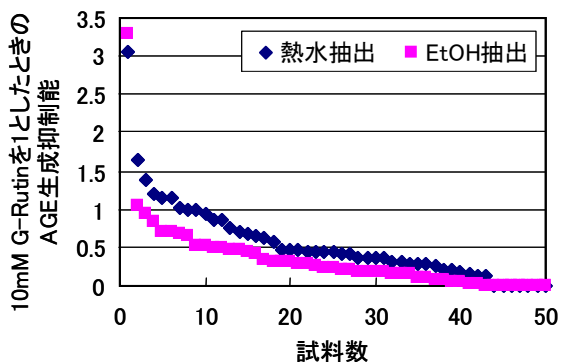


図3 糖化タンパク質 (AGE) 生成抑制機能分布

点で、活性の特に高い (10mg 没食子酸相当量/g 以上) 試料は、熱水抽出物で約10点 (アロニア、フサスグリ、カシス、カリン)、エタノール抽出物で3点 (カリン、アロニア) であった。これらは、前報でも高い活性を示しており、同様の傾向が認められた。また、ブルーベリー類については、アロニアなどよりは低い、熱水抽出物に関しては全体的に高い活性を示していた。総ポリフェノール量とラジカル消去活性は、相関関係にあることが知られており、今回も高い相関を示していた (データは示さない)。

3-3 糖化タンパク質 (AGE) 生成抑制活性

図3に、各試料のAGE生成抑制能の分布を示した。各試料は活性が高い順に並べてある。前報⁴⁾の結果とは異なり、全体的に熱水抽出物の方がエタノール抽出物よりも

やや高い活性を示した。これは、前報で供した 250 種類の農産物と今回の 48 種類では、品種の内訳が異なるためと考えられる。またデータは示していないが、前報⁴⁾同様総ポリフェノール量とAGE生成抑制能に相関は認められなかった。

対照として用いた抗酸化性を有するG-Rutinは糖尿病の病態として体内に蓄積する糖化タンパク質の生成をin vivoで抑制すると報告されている⁷⁾。10mM G-Rutinよりも高い抑制活性を示した試料は、熱水抽出物は 8 点 (カリン、ブルーチップ、アロニア、キャンベル、紅伊豆、グーズベリー)、エタノール抽出物ではカリンとアロニアであった。カリンについては産地別に数種類供したが、サンプル間でばらつきが大きかった。農作物の年度差、熟度なども影響しているのではないかと考えている。

3-4 アルドースレダクターゼ阻害活性

図 4 に、各試料のアルドースレダクターゼ阻害活性の分布を示した。各試料は活性が高い順に並べてある。今回の測定法はエタノール抽出物には適さない方法であったため、熱水抽出物のみを測定した。50%以上の高い阻害率を示した試料は約 15 サンプルで、アカモク、カシス、アロニア、ラズベリー、カリン、フサスグリ、藤稔などであった。

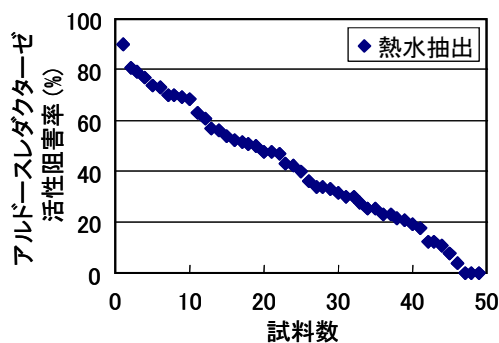


図 4 アルドースレダクターゼ阻害活性分布

表 1 AGE 生成抑制能とアルドースレダクターゼ阻害率 (熱水抽出物)

作物名	AGE 生成抑制能 (G-Rutin 10mM を 1 とした時の AGE 生成抑制能)	アルドースレダクターゼ阻害率 (%)
ブルーチップ	1.66	39.9
アロニア	1.40	74.0
紅伊豆	1.02	3.8
グーズベリー	1.00	12.1
フサスグリ	0.86	55.8
ラズベリー	0.75	70.2
UK	0.69	47.6
カシス	0.67	80.9
アカモク	0.20	90.2
藤稔	0.13	73.1
カリン(1)	0.46	50.8
カリン(2)	3.06	64.2

今後、優先的にブランド化を進める作物を決定するためには、AGE 生成抑制活性とアルドースレダクターゼ阻害活性の両方が高いものが望ましい。そこで表 1 に AGE 生成抑制能とアルドースレダクターゼ阻害活性の上位サンプルのデータを示した。どちらも比較的高い活性を示したのものとしては、アロニア、フサスグリ、ラズベリーなどであった。カリンは、試料間の差が激しいものの、一次スクリーニングと同傾向の活性が確認できた。これらの食材に加えて、アカモクのように突出したアルドースレダクターゼ阻害活性を示したものについても優先的に評価系に供したいと考えている。今後は、アルドースレダクターゼのプロモーター遺伝子を組み込んだ細胞での評価法を確立し、更に機能性評価を進める予定である。

4 結 言

岩手県産食材の高付加価値化のため、昨年度行った一次スクリーニングの結果、高い活性を示したものを中心に 48 種類の食品素材の機能性を評価した。DPPH ラジカル消去活性、糖化タンパク質生成抑制能について評価し、前回とほぼ同様の傾向が得られた。また、今回はアルドースレダクターゼ阻害活性についても評価を行い、高い機能性を持つ食品素材が見つかった。

今後は、これらのデータを基に、培養細胞を用いた評価系や動物実験による評価を行い、機能性に優れた食品開発を進めていく予定である。

本研究を行うにあたり、試料を提供して頂いた、岩手県農業研究センター、盛岡農業普及センター、独立行政法人果樹試験場、株式会社尾坪商店の皆様にご感謝いたします。

文 献

- 1) Takeda, M., Ku, Y., Suzuki, Y. and Kuroda, Y : Hepato-Gastroenterology, **49**, 928-931 (2002)
- 2) McLennan, S. V., Martell, S. K. Y. and Yue, D. K : DIABETES, **51**, 2612-2618 (2002)
- 3) Yagihashi, S et al : Brain, **124**, 2248-2458 (2002)
- 4) 山口 佑子、岸 敦、小浜 恵子 : 岩手県工業技術センター研究報告, **11**, 15-18 (2004)
- 4) Cao, G., Verdon, C. P., Wu, A. H. B., Wang, H. : Clin. Chem., **41**, 1738 (1995)
- 5) 小浜 恵子、岸 敦、米倉 裕一、大澤 純也、澤井 秀幸、長澤 孝志 : 岩手県工業技術センター研究報告, **10**, 77-80 (2003)
- 6) 進藤 昌ら : 「アルドースレダクターゼ阻害作用剤」特開 2003-226640
- 7) Nagasawa, T., Tabata, N., Ito, Y., Aiba, Y., Nishizawa, N. and Kitts, D. D : Mol. Cell. Biochem., **252**, 141-147 (2003)