

Caco-2 細胞をモデルとした消化管 α -グルコシダーゼ量低下成分の 探索と機能評価

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品機能化学 野田耕太

1. はじめに

消化管 α -グルコシダーゼは糖質の消化吸收過程において、二糖から単糖への分解を担う小腸上皮細胞上の酵素である。この酵素の阻害剤は糖の体内への吸収を緩やかにし、食後の急激な血糖値上昇を抑えることができるため、糖尿病の予防や治療に利用されている。 α -グルコシダーゼ阻害剤は、その機能上食前もしくは食中の摂取が必須であり、定められた利用方法を守らなければ十分な効果が発揮されない。一方で、 α -グルコシダーゼの『量』を減少させることでも同様の効果が期待でき、かつ阻害剤よりも効果が持続的であるため摂取回数が減り、摂取タイミングも摂取者の任意となる。そこで本研究では消化管 α -グルコシダーゼの『量』に着目し、その発現量を低下させる生物活性の測定法を構築し、 α -グルコシダーゼ量低下活性成分を天然より探索した。

2. 方法

α -グルコシダーゼ量低下活性試験には腸管上皮細胞モデルである Caco-2 細胞を用いた。被験物質存在下で分化した Caco-2 細胞を 2 日間培養した。被験物質を洗浄除去後、蛍光基質を加えて酵素反応を行った。酵素量と酵素反応速度は比例することから、蛍光量の増加速度を酵素量の指標とし、簡便に α -グルコシダーゼ量低下活性を測定した。

3. 結果と考察

簡易評価系を構築し、食品素材に対してスクリーニングを行うことで、ヘザーフラワー及びアカジソに α -グルコシダーゼ量低下活性を見出した。この 2 種の素材の添加により mRNA 及びタンパク質レベルにおいてもグルコシダーゼ量の低下が確認されたことから、構築した簡易評価系が活性成分探索に有効であると判断した。

簡易評価系を指標とした分画によりヘザーフラワーの活性成分がプロアントシアニジン (CV-P) であることを明らかにした。CV-P は Caco-2 細胞に対して 50 μ g/mL で 29% の α -グルコシダーゼ量低下活性を示した。また、CV-P はグルコシダーゼの一つであるスクラーゼーイソマルターゼ (SI) の mRNA 発現量とタンパク質量を有意に低下させた。また、単量体であるフラバン-3-オールについても試験を行い、ガレート型カテキンに同様の活性を見出した。

α -グルコシダーゼ量低下活性成分の SI 以外の遺伝子への影響を調べるため他の糖消化吸收関連遺伝子の mRNA 発現量を解析した。CV-P 添加により GLUT5, SGLT1, LPH の mRNA 発現量の低下が確認された。そこで、LPH と SI 遺伝子に共通の転写活性化因子である HNF-1 と CDX-2 の mRNA を測定したところ、HNF-1 は発現量が低下し、CDX-2 では増加していた。HNF-1 と CDX-2 は協調して働くことから、CV-P 添加による HNF-1 の減少が SI 遺伝子の転写を抑制し、 α -グルコシダーゼ量を低下させていると推測した。

4. まとめ

本研究においてプロアントシアニジンと EGCG, ECG の摂取により消化管の α -グルコシダーゼ量が低下することが示唆され、新たな機能をもつ抗糖尿病食品の開発につながる可能性が拓けた。