

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	Ying Qiao
論文題目	Studies on inhibition of $\alpha$ -amylase and $\alpha$ -glucosidase by components of <i>Morus australis</i> (シマグワの成分による $\alpha$ -アミラーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼの阻害に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>アミラーゼは、デンプンやグリコーゲンの <math>\alpha</math>-1,4 結合あるいは <math>\alpha</math>-1,6 結合を切断する酵素の総称で、<math>\alpha</math>-アミラーゼ、<math>\beta</math>-アミラーゼが含まれる。<math>\alpha</math>-グルコシダーゼは、二糖類や三糖類の <math>\alpha</math>-結合を切断する酵素の総称で、マルターゼ、スクラーゼ、イソマルターゼ、グルコアミラーゼが含まれる。<math>\alpha</math>-グルコシダーゼは、哺乳動物ではマルターゼ・グルコアミラーゼ複合体 (MG) およびスクラーゼ・イソマルターゼ (SI) 複合体として存在する。糖尿病患者の特徴である食後の急激な血糖値の上昇は、糖尿病の合併症を引き起こす。従って、食後の血糖値を適切に管理することが重要視されている。今日、糖の分解を抑えることで食後血糖値の上昇を緩やかにするために、<math>\alpha</math>-グルコシダーゼ阻害剤が糖尿病の薬として使われている。</p> <p>クワ (英名: Mulberry) は、クワ科クワ属 (Moraceae, <i>Morus</i>) に属する植物の総称である。近年注目されているのは、クワ葉に含まれるイミノ糖により <math>\alpha</math>-グルコシダーゼを阻害することによる食後の血糖値上昇抑制作用である。シマグワ (学名: <i>Morus australis</i>) は南西諸島に広く自生するクワである。分布域は、国内では南西諸島に加えて九州南部、国外では台湾、東南アジア等である。シマグワは年中落葉しない点で、日本本土のクワと異なる。近年、シマグワの葉は日本本土および中国産のクワよりも多くのイミノ糖を含んでいることが報告された。</p> <p>本論文では、シマグワ葉および実の抽出物の <math>\alpha</math>-アミラーゼおよび <math>\alpha</math>-グルコシダーゼ阻害活性の速度論的解析を行った。さらに、その阻害成分について、シマグワの葉および実の含有量を調べるとともに、阻害活性の速度論的解析を行った。本論文は以下のように要約される。</p> <p>第一章では、シマグワ葉のイミノ糖の含有量を順相クロマトグラフィーと質量分析を組み合わせた LC-MS/MS で定量した。1-デオキシノジリマイシン (1-DNJ)、ファゴミン、2-O-<math>\alpha</math>-D-ガラクトピラノシル-1-DNJ (GAL-DNJ) のシマグワ葉 1 g あたりの含有量は、焙煎処理を行っていない葉 (A) ではそれぞれ 4.0, 0.46, 2.5 mg/g であるのに対して、焙煎処理を行った葉 (B) ではそれぞれ 1.0, 0.24, 0.73 mg/g であった。このことから、焙煎処理によりイミノ糖が分解されることが示唆された。</p> <p>第二章では、A の抽出物、B の抽出物、1-DNJ、ファゴミン、GAL-DNJ の <math>\alpha</math>-アミラーゼおよび <math>\alpha</math>-グルコシダーゼに対する阻害を調べた。A の抽出物と B の抽出物とともに、マルターゼ、グルコアミラーゼ、スクラーゼ、イソマルターゼを阻害したが、<math>\alpha</math>-アミラーゼを阻害しなかった。1-DNJ とファゴミンは <math>\alpha</math>-アミラーゼを弱く阻害したが、GAL-DNJ は阻害しなかった。1-DNJ はマルターゼ、グルコアミラーゼ、スクラーゼ、イソマルターゼを強く阻害し、pH 6.0、37°Cでの IC<sub>50</sub> 値は、<math>1.4 \times 10^{-4} \sim 0.011</math></p>			

mg/mL であり、その阻害効果はファゴミンの 18~500 倍、GAL-DNJ の 1500~3000 倍であった。抽出物とイミノ糖の阻害様式はいずれも競合阻害であった。A の抽出物のマルターゼに対する阻害定数の pH 依存性と温度依存性は、1-DNJ のそれらと似たプロファイルを示した。以上のことから、シマグワ葉の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害の主成分は 1-DNJ であると考えられた。さらに、難消化性デキストリンが  $\alpha$ -アミラーゼをイミノ糖よりも強く阻害し、食品に応用する際にこれを添加することにより、有用性が高まると考えられた。A の抽出物に難消化性デキストリンを混合すると、 $\alpha$ -アミラーゼ、マルターゼ、グルコアミラーゼ、スクラーゼ、イソマルターゼをすべて阻害し、IC<sub>50</sub> 値は  $\alpha$ -アミラーゼが 23 mg/mL で、 $\alpha$ -グルコシダーゼである他の 4 酵素が 0.42~16 mg/mL であった。

第三章では、沖縄県の宮古島で栽培された 4 倍体と 2 倍体および池間島で栽培された 4 倍体と 2 倍体のシマグワ実 1 g あたりのイミノ糖の含有量を LC-MS/MS で、アントシアニンの含有量を逆相クロマトグラフィーで、グルコースの含有量をムタロターゼ・GOD 法で定量した。1-DNJ、ファゴミン、GAL-DNJ の含有量はそれぞれ、0.04~0.29、0.10~0.37、0.49~0.78 mg/g であり、シマグワ葉の値の 1.0~7.3% であった。代表的なアントシアニンである cyanidin-3-glucoside (C3G) の含有量は 0~12 mg/g、cyanidin-3-rutinoside (C3R) の含有量は 0~3.9 mg/g であり、品種により大きく異なっていた。グルコースの含有量は 123~262 mg/g であった。

第四章では、シマグワ実抽出物、C3G、C3R、グルコースの  $\alpha$ -アミラーゼおよび  $\alpha$ -グルコシダーゼに対する阻害活性を調べた。上記 4 種類のシマグワ実抽出物の IC<sub>50</sub> 値は、 $\alpha$ -アミラーゼが 10 mg/mL 以上、マルターゼが 1.1~1.7 mg/mL、グルコアミラーゼが 6.9~8.6 mg/mL、スクラーゼが 0.13~1.0 mg/mL、イソマルターゼが 0.46~1.4 mg/mL であった。C3G と C3R は、マルターゼ、スクラーゼ、イソマルターゼに対する IC<sub>50</sub> 値が 0.14~0.32 mg/mL であったが、 $\alpha$ -アミラーゼとグルコアミラーゼを阻害しなかった。グルコースは、 $\alpha$ -アミラーゼに対する IC<sub>50</sub> 値が 5.8 mg/mL、マルターゼ、スクラーゼ、イソマルターゼに対する IC<sub>50</sub> 値が 0.55~1.1 mg/mL であり、グルコアミラーゼを阻害しなかった。以上の結果から、シマグワ実抽出物の  $\alpha$ -アミラーゼ阻害を担う主な成分はグルコースであり、マルターゼ、スクラーゼ、イソマルターゼ阻害を担う主な成分は 1-DNJ とグルコースであると考えられた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 38 字×36 行で作成し、合わせて、3,000 字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400~1,100 words で作成し  
審査結果の要旨は日本語 500~2,000 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

糖尿病患者の特徴である食後の急激な血糖値の上昇は、糖尿病の合併症を引き起こす。従って、食後の血糖値を適切に管理することが重要視されている。近年、クワ葉に含まれるイミノ糖の $\alpha$ -グルコシダーゼを阻害効果が注目され、クワ葉や実を原材料とする食品の開発が期待されている。本論文は、クワの中でもイミノ糖を多く含むシマグワの葉と実に含まれるイミノ糖、アントシアニン、グルコースの定量ならびにこれらの $\alpha$ -アミラーゼおよび $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性についての一連の研究をまとめたものである。評価すべき主要な点は以下の四つに要約される。

1. シマグワ葉中のイミノ糖を LC-MS/MS で定量した。焙煎処理を行っていない葉と行った葉の比較により、焙煎処理によりイミノ糖が分解されることを示唆した。
2. シマグワ葉抽出物は $\alpha$ -グルコシダーゼを阻害するが、 $\alpha$ -アミラーゼを阻害しないことを見出した。シマグワ葉抽出物の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害を担う主な成分は 1-デオキシノジリマイシン (1-DNJ) と考えられることを示した。さらに、シマグワ葉抽出物に難消化性デキストリンを混合すると、 $\alpha$ -アミラーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼをとともに阻害したことから、本混合物が食後血糖値上昇の抑制に効果的であることを示唆した。
3. シマグワ実 4 品種に対して、イミノ糖、アントシアニン、グルコースを定量した。アントシアニンの含有量は、イミノ糖とグルコースの含有量と異なり、品種間で大きく異なった。
4. シマグワ実抽出物の $\alpha$ -アミラーゼ阻害を担う主な成分はグルコースであり、マルターゼ、スクラーゼ、イソマルターゼ阻害を担う主な成分は 1-DNJ とグルコースであると考えられることを示すとともに、シマグワ実が健康的な甘味料であることを示唆した。

以上のように、本論文は、シマグワ葉と実のイミノ糖、アントシアニン、グルコースの含有量を明らかにするとともに、これらの $\alpha$ -アミラーゼと $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の速度論的解析を行ったものであり、酵素化学、食品生理機能学、農産製造学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和 4 年 7 月 21 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から 3 ヶ月以内）