

学 位 論 文 題 名

Kaempferol 配糖体のインスリン様作用と
構造活性相関研究

学位論文内容の要旨

インスリンは、膵臓ランゲルハンス島β細胞から分泌されるペプチドホルモンで、体内で唯一血糖降下作用を示すホルモンである。インスリンは血糖値の恒常性維持に重要な役割を担っており、その分泌量や感受性の低下は、近年増加が深刻な問題となっている糖尿病の発症に直結している。糖尿病の治療には血糖値のコントロールを目的に、インスリン製剤を含めて各種薬剤が利用されている。またこうした薬剤とは別に、近年フラボノイド類が血糖値の低下に有用な素材として注目を集めている。これらのほとんどは糖尿病治療にも用いられている PPAR アゴニストと同様の働きにより血糖値低下効果を示している。一方で、ヘゴ科植物 *Cyathia phalerata* Mart. の茎から単離された kaempferol 3-*O*-neohesperidoside (1) は、ラット筋切片に対してインスリンと同様に働きかけ、糖の取り込みを開始させる効果(インスリン様活性)をナノモルレベルで示すことが報告されている。近年では、このような活性を示す化合物が、血糖値調節の主役となりうる素材として期待されている。この 1 が細胞に対して本当にインスリンと同様の作用を示すのであれば、糖尿病の予防・改善に有用な素材となる可能性がある。フラボノイド配糖体のような低分子化合物が、どのようにして高分子化合物であるインスリンと同様の作用を示すのかは大変興味深い、これまでのところ 1 の作用機序に関する知見はない。そこで本研究では 1 のインスリン様活性に注目し、上述したような素材としての可能性や、作用機構の詳細を調べることを目的とした。

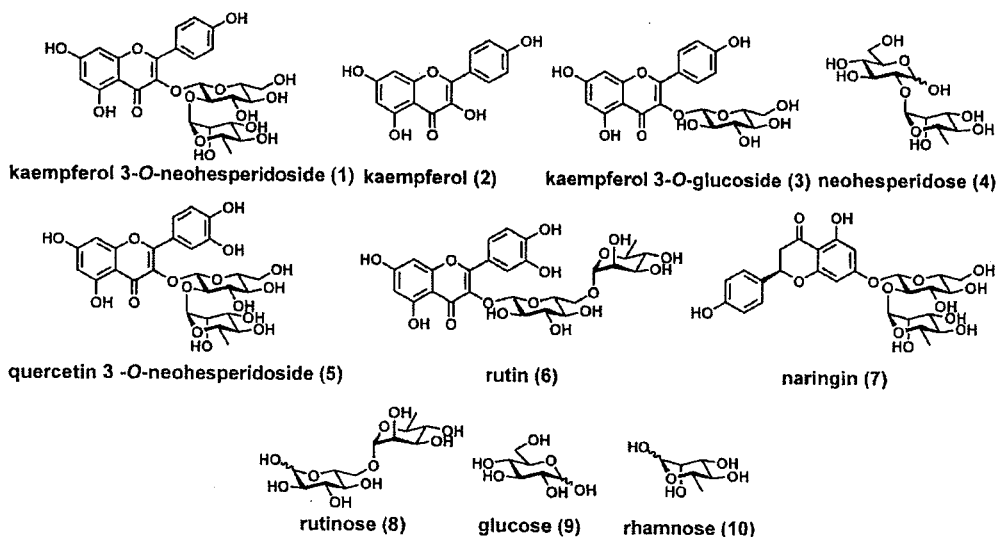
まず基本的な構造と機能の関係を検討するにあたって、1 は市販されておらず、天然からの供給量も限られていたため、全合成を行うことで各種類縁体と共にサンプルを確保した。また、1 のインスリン様活性についてはラット筋切片を用いた報告しかされていないが、本研究ではより扱いやすく、筋細胞モデルとして汎用される L6 細胞による試験系を用いた。さらにインスリン様活性の指標である糖取り込み量については、2-deoxyglucose (2-DG) の選択的な定量法を用いることで、簡便な評価系の構築に成功した。合成した 1 を用いて各濃度域におけるインスリン様活性の評価を行った結果、ラット筋切片を用いた報告と同様に、L6 細胞を用いた評価系においても低濃度で有意に高いインスリン様活性がみられた。

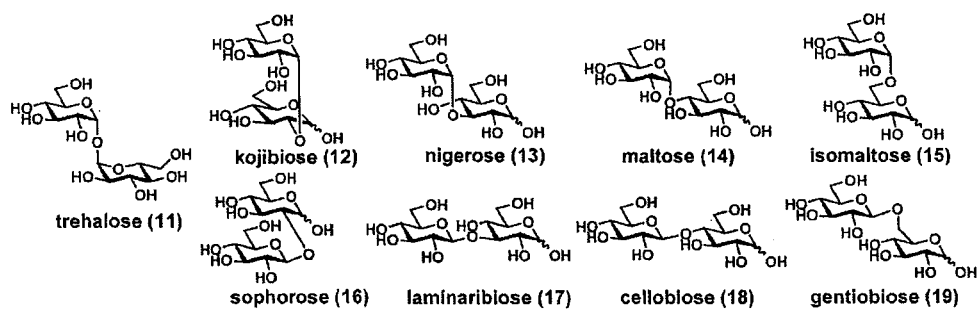
次いで、この活性の発現にはどの構造単位が重要であるかを検討するために、部分構造単位である kaempferol (2)、kaempferol 3-*O*-glucoside (3)、neohesperidose (4) を合成し、インスリン様活性の比較を行った。その結果、kaempferol (2)、kaempferol 3-*O*-glucoside

(3)では活性が消失し、インスリン様活性は neohesperidose (4)のみでみられた。次に、1 のフラボノイド骨格の 3' 位に水酸基が付加した quercetin 3-*O*-neohesperidoside (5)、およびその糖部分の異性体である rutin (6)、1 と同じく部分構造単位として neohesperidose (4)を含むフラバノン配糖体 naringin (7)について、インスリン様活性の評価を行った結果、quercetin 3-*O*-neohesperidoside (5)では 1 と同等の活性がみられた一方で rutin (6)、naringin (7)については活性を確認することはできなかった。さらに、neohesperidose (4)の異性体である rutinose (8)、およびこれらの構成単糖である、glucose (9)、rhamnose (10)の比較では、neohesperidose (4)には及ばないものの rutinose (8)にも若干の活性がみられ、glucose (9)、rhamnose (10)には活性は全くみられなかった。これらの結果から、1 のインスリン様活性の発現には糖部分が重要であるが、アグリコン部も何らかの寄与をしていることが示唆された。

次に、rutinose (8)に弱いながらインスリン様活性が確認できたことから、二糖類には他にも活性を示す化合物が存在する可能性があり、さらに糖間の結合様式が活性に関わっていることが考えられた。そこで、二糖の有するインスリン様活性と結合様式との関係について知見を得るために、グルコース 2 分子によって構成されている各種二糖類(11~19)について評価を行った。その結果、neohesperidose (4)を上回る活性を示す二糖はみられなかったものの、一部の二糖にインスリン様活性が見られた。なかでも最も強い活性が見られたのは α,α -1,1 結合を有する trehalose (11)であった。また α , β -1, 6 結合を有する isomaltose (15)、gentiobiose (19)にもインスリン様活性が確認された。

以上のように、フラボノイド配糖体のインスリン様活性に関する研究から、数種の二糖がインスリン様活性を有することを発見した。この活性について、現在のところその詳細は明らかにできていない。しかしながら、比較的シンプルな低分子化合物である二糖は経口投与でも有効なインスリン代替となる可能性を秘めており、今後画期的な糖尿病予防・治療薬の開発へと繋がることが期待される。





学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 端 潤

副 査 教 授 原 博

副 査 助 教 加 藤 英 介

学 位 論 文 題 名

Kaempferol 配糖体のインスリン様作用と 構造活性相関研究

本論文は和文 125 頁、図 29、スキーム 7、チャート 58、引用文献 38 からなり、参考文献 1 編が付されている。

インスリンは血糖値の恒常性維持に重要な役割を担っており、その分泌量や感受性の低下は、近年増加が深刻な問題となっている糖尿病の発症に直結している。ヘゴ科植物 *Cyathea phalerata* Mart. の茎から単離された kaempferol 3-*O*-neohesperidoside (1) は、ラット筋切片に対してインスリンと同様に働きかけ、糖の取り込みを開始させる効果 (インスリン様活性) をナノモルレベルで示すことが報告されている。近年では、このような活性を示す化合物が、血糖値調節の主役となりうる素材として期待されている。本研究では 1 のインスリン様活性に注目し、糖尿病病態改善素材としての可能性や、作用機構の詳細を調べることを目的とした。

まず基本的な構造と機能の関係を検討するにあたって、1 は市販されておらず、天然からの供給量も限られていたため、全合成を行うことで各種類縁体と共にサンプルを確保した。また、1 のインスリン様活性についてはラット筋切片を用いた報告しかされていないが、本研究ではより扱いやすく、筋細胞モデルとして汎用される L6 細胞による試験系を用いた。さらにインスリン様活性の指標である糖取り込み量については、2-deoxyglucose (2-DG) の選択的な定量法を用いることで、簡便な評価系の構築に成功した。合成した 1 を用いて各濃度域におけるインスリン様活性の評価を行った結果、ラット筋切片を用いた報告と同様に、L6 細胞を用いた評価系においても低濃度で有意に高いインスリン様活性がみられた。

次いで、この活性の発現にはどの構造単位が重要であるかを検討するために、部分構造単位である kaempferol (2)、kaempferol 3-*O*-glucoside (3)、neohesperidose (4) を合成し、インスリン様活性の比較を行った。その結果、2、3 では活性が消失し、インス

リン様活性は 4 のみでみられた。次に、1 のフラボノイド骨格の 3' 位に水酸基が付加した quercetin 3-*O*-neohesperidoside (5)、およびその糖部分の異性体である rutin (6)、1 と同じく部分構造単位として 4 を含むフラバノン配糖体 naringin (7) について、インスリン様活性の評価を行った結果、5 では 1 と同等の活性がみられた一方で 6、7 については活性を確認することはできなかった。さらに、4 の異性体である rutinose (8)、およびこれらの構成単糖である、glucose (9)、rhamnose (10) の比較では、4 には及ばないものの 8 にも若干の活性がみられ、9、10 には活性は全くみられなかった。これらの結果から、1 のインスリン様活性の発現には糖部分が重要であるが、アグリコン部も何らかの寄与をしていることが示唆された。

次に、8 に弱いながらインスリン様活性が確認できたことから、二糖類には他にも活性を示す化合物が存在する可能性があり、さらに糖間の結合様式が活性に関わっていることが考えられた。そこで、二糖の有するインスリン様活性と結合様式との関係について知見を得るために、グルコース 2 分子によって構成されている 9 種の二糖類について評価を行った。その結果、4 を上回る活性を示す二糖はみられなかったものの、一部の二糖にインスリン様活性が見られた。なかでも最も強い活性が見られたのは α,α -1,1 結合を有する trehalose であった。また α,β -1, 6 結合を有する isomaltose、gentiobiose にもインスリン様活性が確認された。

以上のように、フラボノイド配糖体のインスリン様活性に関する研究から、数種の二糖がインスリン様活性を有することを発見した。この活性について、現在のところその詳細は明らかにできていないが、比較的シンプルな低分子化合物である二糖は経口投与でも有効なインスリン代替となる可能性を秘めており、今後画期的な糖尿病予防・治療薬の開発へと繋がることが期待される特筆すべき成果である。

よって審査員一同は、山崎一諒が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。