

論文の内容の要旨

論文題目 ポリフェノールの生体利用性および生理活性に関する研究

氏名 狩野 光芳

近年多くの疫学調査で野菜や果物など植物の摂取と生活習慣病予防の関連性が明らかになってきたことから、植物に含まれる成分の有効性に関する研究が盛んになってきている。その中でも注目されているのが、ポリフェノールである。ポリフェノールは分子内に複数のフェノール性水酸基を有する芳香族化合物の総称であり、植物全般に含まれている。その中でもフラボノイドは植物の葉、茎、果実、種実、花弁などに約 4000 種類以上の存在が報告されており、日常摂取する食品の中にも様々な形態で含まれている。そのためヒトでは食品成分として 1 日に数十 mg から数百 mg といった量を摂取しているの見積もられている。これまでの研究から、抗酸化活性、LDL 酸化抑制作用、抗変異原活性、血圧上昇抑制作用、抗アレルギー作用などがあることが明らかとなっている。このようにフラボノイドの研究は盛んに行われており、すでに様々な有効性が明らかとなっているなか、我々が注目したのが、アントシアニンと大豆イソフラボンである。アントシアニンは、食用色素として古くから利用されているものの、特異的な化学構造を有することから他のフラボノイドに比べ生理機能に関する研究が遅れている。特にアントシアニンの中でも安定性にすぐれている紫サツマイモ（アヤマラサキ）アントシアニンに関しては、アントシアニンの中でも複雑な構造をしていることから、その生理機能に関する研究はほと

んど進んでいない。一方で大豆イソフラボンは有効性、体内動態ともに研究が進んでいるものの、イソフラボン配糖体とイソフラボンアグリコンのバイオアベイラビリティについては様々な見解がなされており、いまだはっきりとした結論はでていない。

そこで本研究においては、まず第 1 章において、アヤムラサキアントシアニンの体内動態について、ラットおよびヒトについて調べた。その結果、アヤムラサキに含まれる 8 種のアントシアニン分子種のうち、2 種が特異的に吸収されることがわかった。また血液および尿においても、検出されたアントシアニンは摂取したのと同じ配糖体であり、これまでアントシアニンの特徴とされていた、配糖体のまま吸収され、体内で代謝を受けず配糖体のまま排出されるということが確認された。吸収に関しては、ラット、ヒトともに非常に速やかに行われ、主な吸収部位は上部消化管であることが予測された。また排出についても、尿中のアントシアニンがラットでは投与 4 時間後、ヒトでは 12 時間後でほとんど検出されなくなることから、速やかに排出されていることがわかる。また尿での回収率はラットで約 0.1%、ヒトでは約 0.01%であり他のアントシアニン同様低かった。最近になって、ヒトの尿中にアントシアニンの代謝物が存在したという報告がされている。他のアントシアニンより複雑な構造を有するアヤムラサキアントシアニンが同じように代謝を受けるとは考えにくいだが、それでも今後代謝について調べることは非常に重要であると思われる。

第 2 章では、アヤムラサキアントシアニンの有効性について、*in vitro* の実験系で DPPH ラジカル捕捉活性および LDL 酸化抑制活性を、*in vivo* の実験系では飲用後の尿中 DPPH ラジカル捕捉活性、四塩化炭素肝障害モデルラットを用い肝障害抑制効果について調べた。その結果、*in vitro* においては、ブドウやベリー類、赤キャベツなど比較的研究が進んでいるアントシアニンと比べ、ラジカル捕捉活性が高いことが示された。またその活性はアヤムラサキに含まれる 8 種のアントシアニン分子種のいずれも大きな差がないことが確認された。そのほか、LDL 酸化抑制活性に関しても生理濃度で抑制活性が認められた。一方 *in vivo* 試験系においてはヒトおよびラットでアントシアニン摂取後の尿において、摂取前に比べラジカル捕捉活性が上昇していることが確認された。そのときの尿中の成分 A,D の濃度と *in vitro* での A,D の活性とを比較すると、尿でのラジカル捕捉活性の上昇には吸収された 2 成分以外の関与が考えられた。その他に、四塩化炭素肝障害モデルラットを用いて試験を行ったところ、アヤムラサキアントシアニン投与群で GOT の有意な抑制が観察された。四塩化炭素が代謝されたときに生じるラジカルによって肝障害が惹起されることから、

*in vitro*および*in vivo*で認められたラジカル捕捉活性が関与していると推測された。またこれまでアントシアニンが腸内細菌による変換を受けないとされてきたが、最近になって、アントシアニンを開裂させる菌の存在に関する報告例がある。フラボノイドのなかには腸内細菌により加水分解や代謝を受け、吸収性や生理機能に変化するといったことも知られている。今後機能性を見ていくうえで、アントシアニンの腸内代謝について調べていく必要があるだろう。

第3章では、大豆イソフラボンの体内動態ならびに摂取形態の違いが体内動態に及ぼす影響について調べた。大豆イソフラボンについては、機能性や体内動態に関する研究が進んでいるものの、イソフラボン配糖体とアグリコンのバイオアベイラビリティに関してはこれまで意見が分かれていた。イソフラボンはアグリコンの状態で吸収されることから、アグリコンで摂取したほうが配糖体に比べ吸収性が高いと考えられるが、双方の吸収性には差が見られないとする報告例や、配糖体のほうが吸収性が高いとする報告例もある。我々はこのような見解の違いが生じる原因として、摂取物のイソフラボン組成（アグリコンの比率等）、摂取形態（抽出物、タブレット、飲料等）などに原因があると考えた。そこで試験材料として、イソフラボン配糖体については、存在するイソフラボンの99%以上が配糖体で存在する豆乳、イソフラボンアグリコンとしては、豆乳を酵素処理もしくは菌により発酵処理を行い、ともにアグリコンの割合を90%以上にした酵素処理豆乳および発酵豆乳を用いた。その結果、アグリコン摂取時のほうが配糖体摂取時よりも吸収速度が速く、最高血中濃度も高いことが示された。また、尿中へのイソフラボンの排出量もアグリコン摂取時のほうが多い傾向にあった。同じアグリコン化豆乳である酵素処理豆乳と発酵豆乳は、摂取時の血中および尿中のイソフラボン濃度に違いは見られなかったが、酵素処理豆乳摂取時の尿中へのエクオール排出量は発酵豆乳摂取時に比べ多い傾向が見られた。これらのことから、配糖体よりもアグリコンのほうがバイオアベイラビリティが高いことが明確となった。そしてプロバイオティクスがエクオール産生菌に影響を及ぼす可能性が考えられた。

第4章では、アルコールの吸収、代謝に及ぼす豆乳飲料の影響について調べた。様々な効果が調べられている大豆ではあるが、これまで大豆食品とエタノール摂取に関する報告例はほとんどない。イソフラボンに関してはクズ科植物である *Pueraria lotaba* のイソフラボンに酪酐抑制効果があることが報告されているものの、詳細については不明な点が多い。そこで、エタノールの吸収や代謝に及ぼす大豆製品の影響を見ることを目的とし、エタノールの吸収性に及ぼす影響について、単回エタノール投与系を、またエタノールにより引き起こ

される障害に対する影響を見るために、継続エタノール投与系を、さらに関与成分を調べる目的として、初代単離肝細胞培養系を用いて試験を行った。その結果、単回エタノール投与試験では、発酵豆乳が胃でのエタノール吸収を抑制する作用を有し、血中のエタノールおよびアセトアルデヒド濃度の上昇を抑える効果があることが明らかとなった。初代単離肝細胞培養系での試験では、ゲニステインにエタノール代謝促進ならびにアセトアルデヒド代謝促進効果があることが確認された。継続エタノール投与系においては、発酵豆乳摂取によりミクロソームエタノール酸化系の活性の上昇が抑えられ、またアセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性の低下抑制、ならびにグルタチオン S-トランスフェラーゼ活性の上昇が確認された。また肝臓中のチオバルビツール酸反応物質についても対照群にくらべ低下傾向を示した。これらのことより醗酵豆乳にはエタノール吸収の抑制効果ならびにエタノール代謝促進効果があることが示唆された。このことは、ホルモン依存性疾患予防などこれまで知られている大豆イソフラボン効果とは異なる新たな効果であることから、興味を持たれるところである。

今回我々が試験材料として選んだ、サツマイモや大豆は日本で古くから食されている食材である。世界最高といわれる日本人の長寿の原因は、日本の食生活にあるといわれている。現在日本食のよさは海外でも認められ、動物性脂肪中心の食生活であるアメリカにおいても、ヘルシーフードとして日本食が注目されている。しかしその一方で、当の日本においては近年食生活の欧米化が進み、生活習慣病が増加している。今後迎えるであろう少子超高齢化社会では、このような病気にならず健康で自立性を保つことが課題となってくる。そのためには病気になってからの治療ではなく、なる前の予防がますます重要になる。すなわち治療における薬に代わって「食」が予防の主役になると考えられる。

本研究ではアントシアニンとイソフラボンに関して機能性、体内動態について調べたが、今後さらに掘り下げていくとともに、食品中の他の有効成分についても研究を進めていくことにより、食を通じた健康維持、疾病予防に貢献することができると思われる。