

# 水溶性フラボノイド配糖体の生体内抗酸化性と 吸収動態に関する研究

## 学位論文内容の要旨

食品中には、生体の防御機能を向上させて疾病の防止や回復、老化抑制などの作用をもつ成分があることが明らかになってきた。ポリフェノール化合物は活性酸素やフリーラジカルに対するラジカルスカベンジャーとしての機能性について多数、報告されている。なかでも、カテキン類やアントシニン類はサプリメントや特定保健用食品として用いられるようになってきた。しかし、これらのフラボノイド化合物の生体内における吸収動態に関しては未だ不明な点が多い。

本研究では、水溶性フラボノイド配糖体の一種であるアントシアニンが多く含まれているアロニア果実 (*Aronia melanocarpa* Elliot, Black chokeberry) と、フラボノイド化合物の一種である Quercetin、その配糖体の Rutin および、Rutin にグルコースを一分子付加することによって溶解性を改善した易水溶性の  $\alpha$ -G-rutin を用いて、ラットのアルコール性胃粘膜障害に対する酸化障害抑制効果を調べ、生体内における抗酸化活性を明らかにした。また、 $\alpha$ -G-rutin を用いて、水溶性フラボノイド配糖体の消化管における吸収と代謝を *in vivo*、*in vitro* の両面から調べた。*in vivo* の試験では、ラットに門脈カテーテルを留置する手術を施し、 $\alpha$ -G-rutin を投与した後、経時的にカテーテルから無麻酔、無拘束下で採血する方法を用いた。*in vitro* の試験では、ラット腸管の剥離粘膜標本作製し、ユッシングチャンバーを用いて、 $\alpha$ -G-rutin の腸管粘膜の輸送を詳細に観察した。さらに、 $\alpha$ -G-rutin の吸収経路を詳細に調べるために、タイトジャンクションを開く作用があることが明らかになっている機能性オリゴ糖の DFAIII を用いて、ユッシングチャンバーで  $\alpha$ -G-rutin の吸収に及ぼす影響について調べた。いずれの試験においても、 $\alpha$ -G-rutin とその関連化合物は Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC / MS) を用いて分析し、 $\alpha$ -G-rutin が吸収された後の経時的な吸収量の変化を定量し、また、構造の変化について検討した。

### 1. アロニア果実赤色色素とフラボノイド化合物のアルコール性胃粘膜障害抑制効果

アロニア果実赤色色素は強い胃粘膜障害抑制効果を示した。その活性物質はアントシアニンの一種である Cyanidine をアグリコンとする Cyanidine 配糖体であることが確認された。

アグリコンと配糖体では、ほぼ同程度の抑制効果が見られた。また、Quercetin と  $\alpha$  G-rutin には胃粘膜障害に対する抑制効果が確認されたが、Rutin にはその効果が見られなかった。これらの結果から、胃粘膜障害抑制メカニズムにはアグリコンと配糖体という構造の違いよりも、溶解性や粘膜との相互作用が大きく関係していることが示唆された。

## 2. 門脈カテーテルを留置したラットにおける $\alpha$ G-rutin の吸収動態

$\alpha$  G-rutin (150  $\mu$ mol) を投与した後の門脈血中には、インタクトな  $\alpha$  G-rutin、Quercetin、Rutin と Quercetin の抱合体が検出された。 $\alpha$  G-rutin を投与した後 150 分の小腸内容物中には  $\alpha$  G-rutin の他に、 $\alpha$  G-rutin が分解されて生じた Rutin が多く検出された。腸管に残存していた  $\alpha$  G-rutin とその代謝産物の総量は  $88.6 \pm 9.58 \mu\text{mol}$  であり、投与した  $\alpha$  G-rutin は 41% が吸収された。これらの結果から、 $\alpha$  G-rutin は配糖体のまま腸管から吸収され、速やかにアグリコンに分解、抱合化されることが示唆された。

## 3. 小腸粘膜酵素による $\alpha$ G-rutin のルチンへの分解活性

$\alpha$  G-rutin は小腸粘膜ホモジネートによって Rutin と Quercetin に分解された。盲腸ホモジネートでは分解されなかった。また、小腸粘膜粗酵素では  $\alpha$  G-rutin から Rutin への分解は見られたが、Quercetin には分解されなかった。このため、 $\alpha$  G-rutin をアグリコンの Quercetin へ分解する作用は、小腸粘膜細胞内に存在することが確認された。

## 4. $\alpha$ G-rutin の腸管剥離粘膜における輸送

ユッシングチャンバーを用いて、胃底部、胃体部、空腸、回腸、盲腸、結腸の各部位の  $\alpha$  G-rutin の透過性を調べた結果、どの部位においてもインタクトな  $\alpha$  G-rutin の透過が見られた。 $\alpha$  G-rutin の輸送量を部位別に比較して、空腸、回腸、盲腸の輸送量が高く、粘膜側へ添加した  $\alpha$  G-rutin の濃度に依存して漿膜側への輸送が直線的に増加した。胃底部では他の部位よりも  $\alpha$  G-rutin の輸送量が非常に少なかった。また、空腸と回腸において  $\alpha$  G-rutin から分解されて生じた Rutin の透過が見られた。Quercetin への分解や、その他の代謝物はどの部位においても検出されなかった。

## 5. DFAIII の $\alpha$ G-rutin の腸管吸収に及ぼす影響

ユッシングチャンバーを用いて、空腸、回腸、盲腸における  $\alpha$  G-rutin の吸収に及ぼす、DFAIII の影響を調べた結果、空腸と回腸で DFAIII によって  $\alpha$  G-rutin の輸送量が増加する傾向が見られ、盲腸では有意に増加した。このことから、 $\alpha$  G-rutin は細胞間経路(タイトジャンクション)を介して輸送されることが示唆された。Rutin の輸送量は DFAIII の影響は大きく見られなかった。

以上の結果から、生体内抗酸化性をもつ、水溶性フラボノイド配糖体の  $\alpha$  G-rutin は胃を含む消化管からタイトジャンクションを介して、配糖体のまま吸収されることを初めて明らかにした。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 原 博  
副 査 教 授 川 端 潤  
副 査 教 授 松 井 博 和

## 学 位 論 文 題 名

### 水溶性フラボノイド配糖体の生体内抗酸化性と 吸収動態に関する研究

本論文は、80 頁からなる和論文であり、図 21 と表 6 を含み、参考論文 2 編が添えられている。

ポリフェノール化合物は活性酸素やフリーラジカルに対するラジカルスカベンジャーとしての機能性について多数、報告されている。なかでも、カテキン類やアントシニン類はサプリメントや特定保健用食品として用いられるようになってきた。しかし、これらのフラボノイド化合物の生体内における吸収動態に関しては未だ不明な点が多い。本研究では、水溶性フラボノイド配糖体の一種であるアントシアニンが多く含まれているアロニア果実 (*Aronia melanocarpa* Elliot, Black chokeberry) と、フラボノイド化合物の一種である Quercetin、その配糖体の Rutin および、Rutin にグルコースを一分子付加することによって溶解性を改善した易水溶性の  $\alpha$  G-rutin を用いて、ラットのアルコール性胃粘膜障害に対する酸化障害抑制効果を調べ、生体内における抗酸化活性を明らかにした。また、 $\alpha$  G-rutin を用いて、水溶性フラボノイド配糖体の消化管における吸収と代謝を *in vivo*、*in vitro* の両面から調べ、以下のような結果を得ている。

#### 1. アロニア果実赤色色素とフラボノイド化合物のアルコール性胃粘膜障害抑制効果

アロニア果実赤色色素は強い胃粘膜障害抑制効果を示した。その活性物質はアントシアニンの一種である Cyanidine をアグリコンとする Cyanidine 配糖体であることが確認された。アグリコンと配糖体では、ほぼ同程度の抑制効果が見られた。また、Quercetin と  $\alpha$  G-rutin には胃粘膜障害に対する抑制効果が確認されたが、Rutin にはその効果が見られなかった。これらの結果から、胃粘膜障害抑制メカニズムにはアグリコンと配糖体という構造の違いよりも、溶解性や粘膜との相互作用が大きく関係していると考えられた。

## 2. 門脈カテーテルを留置したラットにおける $\alpha$ G-rutin の吸収動態

$\alpha$  G-rutin (150  $\mu$ mol) を投与した後の門脈血中には、インタクトな  $\alpha$  G-rutin、Quercetin、Rutin と Quercetin の抱合体が検出されることを確認した。 $\alpha$  G-rutin を投与した後 150 分の小腸内容物中には  $\alpha$  G-rutin の他に、 $\alpha$  G-rutin が分解されて生じた Rutin が多く検出された。これらの結果から、 $\alpha$  G-rutin は配糖体のまま腸管から吸収され、速やかにアグリコンに分解、抱合化されることを明らかにした。

## 3. 小腸粘膜酵素による $\alpha$ G-rutin のルチンへの分解活性

$\alpha$  G-rutin は小腸粘膜ホモジネートによって Rutin と Quercetin に分解された。盲腸ホモジネートでは分解されなかった。また、小腸粘膜粗酵素では  $\alpha$  G-rutin から Rutin への分解は見られたが、Quercetin には分解されなかった。このため、 $\alpha$  G-rutin をアグリコンの Quercetin へ分解する作用は、小腸粘膜細胞内に存在することを確認した。

## 4. $\alpha$ G-rutin の腸管剥離粘膜における輸送

ユッシングチャンバーを用いて、胃と消化管の各部位の  $\alpha$  G-rutin の透過性を調べた結果、どの部位においてもインタクトな  $\alpha$  G-rutin が輸送されることを確認した。 $\alpha$  G-rutin の輸送量を部位別に比較して、空腸、回腸、盲腸の輸送量が高く、粘膜側へ添加した  $\alpha$  G-rutin の濃度に依存して漿膜側への輸送が増加した。また、空腸と回腸において  $\alpha$  G-rutin から分解されて生じた Rutin の透過を確認した。分解されて生じた Quercetin や、その他の代謝物はどの部位においても検出されなかった。

## 5. DFAIII の $\alpha$ G-rutin の腸管吸収に及ぼす影響

ユッシングチャンバーを用いて、空腸、回腸、盲腸における  $\alpha$  G-rutin の吸収に及ぼす、DFAIII の影響を調べた結果、空腸と回腸で DFAIII によって  $\alpha$  G-rutin の輸送量が増加する傾向が見られ、盲腸では有意に増加した。このことから、 $\alpha$  G-rutin は細胞間経路(タイトジャンクション)を介して輸送されることを明らかにした。Rutin の輸送量は DFAIII の影響は大きく見られなかった。

本論文は、以上の結果から、生体内抗酸化性をもつ、水溶性フラボノイド配糖体の  $\alpha$  G-rutin は胃を含む消化管からタイトジャンクションを介して、配糖体のまま吸収され、その後、消化管以外の組織においてアグリコンの Quercetin に分解、抱合化されることを初めて明らかにした。これらの結果は、水溶性フラボノイド配糖体の新しい生理作用と、そのメカニズムを明らかにしたものであり、高く評価できる。

よって、審査員一同は、松本恵が博士(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。