

Difructose anhydride III の栄養学的特性と イソフラボン生体利用性への影響の検証

学位論文内容の要旨

di-D-fructofuranose-1,2',2,3'-dianhydride (DFAIII) は、近年工業的大量生産が可能となった二糖類である。DFAIII は腸管からのカルシウム (Ca) 吸収を促進することが示されており、DFAIII を配合し、Ca 吸収率を増加させることで骨粗鬆症を予防することを目的とした栄養機能食品が上市されている。DFAIII はラット消化酵素で分解されず、DFAIII を摂取したラットの盲腸内短鎖脂肪酸 (SCFA) が上昇することから非消化、非吸収、発酵性糖類であると考えられているが、その栄養学的特性はほとんどわかっていない。本研究ではまず、DFAIII の糖類としての栄養学的特性を、ヒト、およびラットを用いて検証した。また、大豆イソフラボン (IF) は骨粗鬆症の予防に役立つことが知られている。IF 配糖体は経口摂取後、糖が脱離されたアグリコン、もしくはその腸内細菌の代謝物の形で吸収される。近年、ダイゼインの腸内細菌代謝物であるエクオール産生を増強させることで、IF の生理機能を高める試みが検討されている。一方で、小腸ラクターゼが IF を糖とアグリコンに分解する作用を有することが *in vitro* 試験で明らかとなってきたが、IF の吸収と生体利用性に対する小腸、大腸の寄与の大きさはわかっていない。本研究では、特徴ある大腸発酵性を有する DFAIII が IF の生体利用性と生理効果に与える影響を検証し、そのヒトへの応用に先立ち、小腸、大腸が IF 吸収、生体利用性に与える寄与を検証した。

1. ヒト単回摂取呼気水素試験による DFAIII の消化、吸収、発酵性の検証

健康成人 8 名に対して DFAIII、スクロース、ラクチュロース 10 g 投与後の血糖、血清フラクトース、インスリンを 2 h まで、呼気水素 (H_2) 濃度を 8 h まで測定した。その結果、スクロースでは血糖、血清フラクトース、インスリンの、ラクチュロースでは呼気 H_2 の上昇が観察されたが、DFAIII ではいずれのパラメータも変化しなかった。このことにより、DFAIII はヒトにおいて非消化、非吸収、難または遅発酵性の糖である事が示唆された。

2. ヒト反復摂取による DFAIII の発酵性の変動の検証

非消化、非吸収性糖類の大腸での発酵性は、その糖の反復摂取によって変化することが知られている。このため、健康成人 13 名に DFAIII とプラセボ 5 g/day を 2 週間反復摂取させた後、DFAIII 10 g を投与して呼気 H_2 を 9 h まで測定して発酵性の変化を検証した。その結果、DFAIII 反復摂取後に DFAIII を投与した 7、8h で反復摂取前、プラセボ反復摂取後

に同様の試験を行った場合より呼気 H_2 が若干高い値を示したが、依然として一般的な発酵性糖類と比較して呼気 H_2 は非常に低い値であった。このことより、DFAIII を反復摂取した後でも、DFAIII の低、あるいは遅発酵性は維持されることが示された。

3. ラット体組成分析による DFAIII 利用可能エネルギーの検証

非消化性糖類が大腸で発酵されて産生される SCFA は、宿主のエネルギー源として使用される。本試験では DFAIII のラットにおける利用可能なエネルギー量を検証した。ラットを糖質、脂質に由来するエネルギー以外を十分に含んだ飼料 7g に DFAIII またはスクロースを 0, 0.5, 1.0, 1.5 g/day 加えた飼料で 20 day 飼育した後の体脂肪、体タンパク蓄積を測定した。その結果、DFAIII を摂取した後にラットの体脂肪、体タンパク質として蓄積するエネルギーがスクロースの約 1/15 であることが明らかとなった。

4. ヒトラクターゼがイソフラボンの生体利用性に与える影響

小腸ラクターゼ活性が低下しているラクトース低消化者 (LM) と正常者 (LA) の IF 吸収を比較することで、ヒト生体においてラクターゼが IF 吸収に与える影響を検証した。ラクトース呼気水素試験で LM を判定し、ラクチュロース小腸通過 (OCTT) 試験により OCTT を測定した後、豆乳を投与して 8 h まで血中 IF を測定した。その結果、OCTT より前では LM の血中ゲニステイン、ダイゼインが LA と比較して低い値もしくは低い傾向を示したが、OCTT 以降には差は消失した。従って、ヒト小腸ラクターゼ活性低下は IF の吸収を一過性に低下させるが、大腸によってその低下は補償される可能性があることが示された。

5. DFAIII がエクオール産生に与える影響とその生理的効果のラットにおける検証

DFAIII による大腸環境の修飾が、IF の腸内細菌による代謝を変化させ、IF の生体利用性と生理機能を向上させるか否かを検証した。ラットをカゼイン基本飼料 (コントロール)、DFAIII またはフラクトオリゴ糖 (FOS) 1.5% を含有した飼料で 20 日間飼育し、12, 19 day の血漿 IF 濃度と 20 day の血漿総コレステロール (TC) を測定した。その結果、DFAIII 群では血漿エクオール濃度がコントロール群と比較して常に高い値を示し、TC が他の 2 群と比較して低い値を示した。血漿エクオール濃度と TC は負の相関を示した。このことから、DFAIII が血漿エクオールを上昇させ、これが TC を低下させることが示唆された。

6. DFAIII 摂取によるラット盲腸内フローラへの影響

5 で示した DFAIII と FOS の IF 生理効果への影響の違いは、DFAIII と FOS が大腸環境へ違った影響を与えるためと推測されることから、DFAIII と構造の違うフラクタンである FOS、イヌリンが盲腸内環境に与える影響の違いを検証した。その結果、FOS とイヌリンはラット盲腸フローラ、SCFA に対して同様の影響を与えたが、DFAIII はこれらとは違う影響を与えることが明らかとなった。

総括すると、DFAIII は栄養学的には非消化、非吸収性糖類であり、利用可能なエネルギーが非常に低いため、ショ糖の代替品として肥満防止用食品等へ有効に利用できることが示された。また、既に Ca 吸収促進作用を持つ食品として利用されている DFAIII の新たな

機能性として、IF 摂取時に生理活性の強いダイゼイン代謝物であるエクオールの血中濃度上昇促進作用が提案され、DFAIII の更なる保健用途が見出された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 原 博

副 査 教 授 浅 野 行 蔵

副 査 教 授 横 田 篤

学 位 論 文 題 名

Difructose anhydride III の栄養学的特性と イソフラボン生体利用性への影響の検証

本論文は、86 頁からなる和論文であり、図 11 と表 22 を含み、参考論文 5 編が添えられている。

di-D-fructofuranose-1,2',2,3' -dianhydride (DFAIII) は、近年工業的大量生産が可能となり、既にカルシウム吸収促進食品として上市されている二糖類である。本研究では DFAIII の栄養学的特性をヒト、およびラットを用いて検証した。また、大豆イソフラボン (IF) は骨粗鬆症や冠動脈疾患の予防に役立つことが知られている。近年、ダイゼインの腸内細菌代謝物であるエクオール産生を増強させることで、IF の生理機能を高める試みが検討されている。一方で、IF の吸収と生体利用性に対する小腸、大腸の寄与の大きさはわかっていない。本研究では、DFAIII が大腸環境の修飾を通じて IF の生体利用性と生理効果に与える影響を検証し、そのヒトへの応用に先立ち、小腸、大腸が IF 吸収、生体利用性に与える寄与を検証した。

1. ヒト単回摂取呼気水素試験による DFAIII の消化、吸収、発酵性の検証
2. ヒト反復摂取による DFAIII の発酵性の変動の検証

健常成人 8 名に対して DFAIII、スクロース、ラクチュロース 10 g 投与後の血糖、血清フラクトース、インスリンを 2 h まで、呼気水素 (H_2) 濃度を 8 h まで測定した。その結果、スクロースでは血糖、血清フラクトース、インスリンの、ラクチュロースでは呼気 H_2 の上昇が観察されたが、DFAIII ではいずれのパラメータも変化しなかった。このことにより、DFAIII はヒトにおいて非消化、非吸収、難または遅発酵性の糖である事が示唆された。また、健常成人 13 名に DFAIII とプラセボ 5 g/day を 2 週間反復摂取させた後、同様の呼気試験を行った。その結果、DFAIII を反復摂取した後でも、DFAIII の低、あるいは遅発酵性は維持されることが示された。

3. ラット体組成分析による DFAIII 利用可能エネルギーの検証

ラットを糖質、脂質に由来するエネルギー以外を十分に含んだ飼料 7g に DFAIII またはスクロースを 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 g/day 加えた飼料で 20 day 飼育した後の体脂肪、体タンパク蓄積を測定した。その結果、DFAIII を摂取した後にラットの体脂肪、体タンパク質として蓄積するエネルギーがスクロースの約 1/15 であることが明らかとなった。

4. ヒトラクターゼがイソフラボンの生体利用性に与える影響

ラクトース呼気水素試験で乳糖低消化者 (LM) を判定し、ラクチュロース小腸通過 (OCTT) 試験により OCTT を測定した後、豆乳を投与して 8 h まで血中 IF を測定した。その結果、OCTT より前では LM の血中ゲニステイン、ダイゼインが正常者と比較して低い値もしくは低い傾向を示したが、OCTT 以降には差は消失した。従って、ヒト小腸ラクターゼ活性低下は IF の吸収を一過性に低下させるが、大腸によってその低下は補償される可能性があることが示された。

5. DFAIII がエクオール産生に与える影響とその生理的効果のラットにおける検証

ラットをカゼイン基本飼料 (コントロール)、DFAIII またはフラクトオリゴ糖 (FOS) 1.5% を含有した飼料で 20 日間飼育し、12, 19 day の血漿 IF 濃度と 20 day の血漿総コレステロール (TC) を測定した。その結果、DFAIII 群では血漿エクオール濃度がコントロール群と比較して常に高い値を示し、TC が他の 2 群と比較して低い値を示した。血漿エクオール濃度と TC は負の相関を示した。このことから、DFAIII が血漿エクオールを上昇させ、これが TC を低下させることが示唆された。

6. DFAIII 摂取によるラット盲腸内フローラへの影響

DFAIII と短鎖および長鎖フラクタンである FOS、イヌリンが盲腸内環境に与える影響の違いを検証した。その結果、FOS とイヌリンはラット盲腸フローラ、SCFA に対して同様の影響を与えたが、DFAIII はこれらとは違う影響を与えることが明らかとなった。

本論文は、DFAIII が消化、吸収されず、非常に低エネルギーであることを明らかにした。さらに小腸でのイソフラボンの吸収低下が大腸で補償され、DFAIII が大腸環境修飾によってイソフラボンの生体利用性を高める可能性があることを明らかにした。これらの結果は、低エネルギーで骨粗鬆症、冠動脈疾患予防効果を有する食品の開発につながり、非常に高く評価できる。

よって、審査員一同は、田村亜紀子が博士 (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。