

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月1日現在

機関番号：33939

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500782

研究課題名（和文）ビタミンEの吸収機構と食品成分によるその調節

研究課題名（英文）Vitamin E absorption and effect of food factor on the absorption

## 研究代表者

池田 彩子（IKEDA SAIKO）

名古屋学芸大学・管理栄養学部・教授

研究者番号：80308808

研究成果の概要（和文）：本研究は、ビタミンEが吸収時に小腸で異化される可能性を明らかにすることを目的とした。ラットを用いてビタミンE代謝産物の体内分布を調べたところ、肝臓や腎臓以外に小腸にもビタミンE代謝産物が存在していた。ヒト結腸がん由来の培養細胞において、ビタミンE代謝産物の生成が確認できた。ビタミンE異化の阻害活性を有するセサミンは、小腸におけるビタミンE吸収を促進した。以上の結果から、経口摂取したビタミンEの一部は、吸収の際に小腸内で異化されることが推測された。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to evaluate vitamin E catabolism in small intestine and its impact on the tissue distribution of vitamin E metabolites. CEHC was in small intestine of rats after oral administration of vitamin E isoform. We found the catabolic conversion of vitamin E isoform to its metabolite in human intestinal Caco-2 cells. Sesamin, an inhibitor of cytochrome P450-dependent catabolism of vitamin E, increased vitamin E concentration in rat small intestine. Therefore, some dietary vitamin E is likely to be catabolized to CEHC in the small intestine during absorption.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学

キーワード：食と栄養

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、本研究の開始以前に、ビタミンE同族体のカルボキシエチルヒドロキシクロマン(CEHC)への代謝を阻害することによって、体内のビタミンE同族体濃度が著しく上昇することを見出し、ビタミンE代謝がその体内濃度を調節していることを明らかに

した(Abeら *Lipids* 2007)。さらに、リポタンパク質リパーゼによるキロミクロンからキロミクロンレムナントの生成が、 $\alpha$ -トコフェロールをはじめとするビタミンE同族体の肝臓への輸送とその後の組織への輸送に不可欠であることも明らかにした(Abeら *J Nutr* 2007)。

## 2. 研究の目的

前述のように、申請者らは本研究開始以前より、主にラットを用いた動物実験を通して、ビタミンE代謝の詳細を個体レベルで検討してきた。本研究では、ビタミンEを経口摂取後の吸収の特徴と、それに及ぼす食品成分の影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

- (1) ビタミンE同族体経口摂取後の血中への移行量の比較  
リポタンパク質リパーゼ活性の阻害剤であるチロキサポールを用いて、ビタミンE同族体の経口摂取後の腸管から血中への吸収量を調べた。ビタミンE無添加飼料で飼育したWistar系雄性ラットの尾静脈にチロキサポールを投与し、続いて $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、またはトコトリエノールを経口投与した。6時間後の血中のビタミンE同族体濃度を、HPLC法により測定した。
- (2) ビタミンE代謝産物の体内分布と代謝臓器の特定  
ビタミンE無添加飼料で飼育したWistar系雄性ラットに $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、またはトコトリエノールを経口投与し、24時間後に屠殺した。主要臓器のビタミンE同族体およびその代謝産物の濃度を、蛍光検出器および電気化学検出器を用いたHPLC法によって測定した。
- (3) 小腸マイクロソームにおけるビタミンE代謝の検討  
Wistar系雄性ラットの小腸マイクロソームを調製し、*in vitro*におけるビタミンE異化について検討した。既報(Sontagら *J Biol Chem* 2002)に従い、小腸マイクロソーム画分に $\gamma$ -トコフェロールまたはトコトリエノールと補酵素等を加えてインキュベーションし、電気化学検出器を用いたHPLC法によってビタミンE代謝産物の産生量を調べた。
- (4) ヒト結腸がん由来細胞におけるビタミンE代謝の検討  
小腸吸収モデルとして用いられるヒト結腸がん由来のCaco-2細胞を用いて、腸細胞のCEHC産生能を調べた。分化したCaco-2細胞の培地に $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、 $\alpha$ -トコトリエノール、または $\gamma$ -トコトリエノールをそれぞれ添加し、24時間培養後の培地と細胞抽出物におけるCEHCの検出を試みた。
- (5) ビタミンEの腸肝循環についての検討  
リポタンパク質リパーゼを阻害したときの

小腸のビタミンE濃度の低下を調べることによって、ビタミンEの腸肝循環の有無を調べた。Wistar系雄性ラットにチロキサポールを尾静脈から投与し、さらに $\gamma$ -トコフェロールを経口投与した。

## (6) ビタミンEの腸管吸収に対するLXR関与の可能性

ビタミンEの細胞からの排出に関与しているATP結合カセットトランスポーターA1の主要調節因子Liver X receptor (LXR)が、ビタミンE代謝を調節する可能性について検討した。Wistar系雄性ラットにLXRアゴニストであるGW3965を経口投与し、さらに3時間後に $\alpha$ -トコフェロールまたは $\gamma$ -トコフェロールを経口投与した。

## (7) ビタミンEの腸管吸収に対するゴマ摂取の影響

ラットにリポタンパク質リパーゼ阻害剤であるチロキサポールを尾静脈投与することによって、経口摂取したビタミンEの血中から肝臓への移行が阻害されることを、平成23年度の研究で明らかにした。そこで、この手法を用いて、ゴマリグナンであるセサミンがビタミンEの腸管吸収を促進するかどうかを調べた。チロキサポールを投与したWistar系雄性ラットに、 $\gamma$ -トコフェロールまたは $\gamma$ -トコフェロールとセサミンを経口投与した。

## 4. 研究成果

- (1) ビタミンE同族体経口摂取後の血中への移行量の比較  
ラットに $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、またはトコトリエノールを経口投与して6時間後の血中の各同族体濃度を比較したところ、トコトリエノール濃度に比べて、 $\alpha$ -トコフェロール濃度と $\gamma$ -トコフェロール濃度の方が高かった。したがって、トコフェロールは、トコトリエノールに比べて吸収されやすいことが示唆された。
- (2) ビタミンE代謝産物の体内分布と代謝臓器の特定  
ラットに $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、またはトコトリエノールを経口投与したところ、ビタミンE同族体はほとんどすべての臓器に存在したが、これらの代謝産物は主に肝臓、小腸、腎臓、血清に存在した。 $\alpha$ -トコフェロールと $\alpha$ -トコトリエノールの代謝産物である $\alpha$ -CEHCは、小腸と肝臓に多く蓄積していた。一方、 $\gamma$ -トコフェロールと $\gamma$ -トコトリエノールの代謝産物である $\gamma$ -CEHCは、肝臓と腎臓に多く蓄積していた。さらに、 $\gamma$ -トコフェロール投与

後の小腸の $\gamma$ -CEHC濃度は、 $\alpha$ -トコフェロールの同時投与によって有意に上昇したことから、 $\alpha$ -トコフェロールは $\gamma$ -トコフェロールの異化に関与する可能性が示された。

### (3) 小腸マイクロソームにおけるビタミンE代謝の検討

ラットの小腸マイクロソームに $\gamma$ -トコフェロールやトコトリエノールを添加したところ、代謝産物が検出された。しかし、その量はばらつきが大きく、残念ながら定量的に信頼できる測定系を構築することはできなかった。

### (4) ヒト結腸がん由来細胞におけるビタミンE代謝の検討

Caco-2細胞の培地に $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、 $\alpha$ -トコトリエノール、または $\gamma$ -トコトリエノールをそれぞれ添加し培養したところ、培地にはいずれの代謝産物も検出することができ、Caco-2細胞におけるCEHCの産生が確認できた。4種のビタミンE同族体の中では、 $\gamma$ -トコトリエノールが最も異化されやすいことが明らかになった。

(5) ビタミンEの腸肝循環についての検討  
チロキサポール投与ラットに $\gamma$ -トコフェロールを経口投与したところ、小腸の $\gamma$ -トコフェロール濃度の低下が観察された。したがって、摂取した $\gamma$ -トコフェロールの一部は、肝臓から胆汁に分泌され、再度小腸から吸収されることが示唆された。

### (6) ビタミンEの腸管吸収に対するLXR関与の可能性

GW3965投与ラットに $\alpha$ -トコフェロールまたは $\gamma$ -トコフェロールを経口投与したところ、主要臓器の $\alpha$ -トコフェロール濃度にはGW3965の有無による変化が見られなかったのに対し、 $\gamma$ -トコフェロール濃度には、GW3965によって増加あるいは増加傾向が見られた。しかし、LXR活性化による $\gamma$ -トコフェロール濃度の上昇のメカニズムについては、現在のところ不明である。

### (7) ビタミンEの腸管吸収に対するゴマ摂取の影響

チロキサポール投与ラットの血清 $\gamma$ -トコフェロール濃度は、セサミン投与によってさらに上昇した。したがって、セサミンは $\gamma$ -トコフェロールの腸管吸収を促進させる可能性が示された。

### (8) 結果のまとめ

以上の結果から、ビタミンEの中でも特に $\gamma$

-トコフェロールや $\gamma$ -トコトリエノールは、経口摂取して小腸から吸収されるときに、その一部が小腸細胞内でCEHCに代謝されることが示唆された。また、ゴマに含まれるセサミンは、ビタミンEの吸収を促進させることが明らかになった。セサミンは、小腸内におけるビタミンEの異化を阻害することによって、ビタミンEの吸収を促進させる野ではないかと推測された。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Uchida T, Abe C, Nomura S, Ichikawa T, Ikeda S. Tissue distribution of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocotrienol and  $\gamma$ -tocopherol in rats and interference with their accumulation by  $\alpha$ -tocopherol. *Lipids* **47**: 129–139 (2012) 査読あり  
DOI: 10.1007/s11745-011-3620-7
- ② Uchida T, Nomura S, Ichikawa T, Abe C, Ikeda S. Tissue distribution of vitamin E metabolites in rats after oral administration of tocopherol or tocotrienol. *J Nutr Sci Vitaminol* **57**: 326–332 (2011) 査読あり
- ③ Ikeda S, Uchida T, Ichikawa T, Watanabe T, Uekaji Y, Nakata D, Terao K, Yano T. Complexation of tocotrienol with  $\gamma$ -cyclodextrin enhances intestinal absorption of tocotrienol in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* **74**: 1452–1457 (2010) 査読あり

[学会発表] (計3件)

- ① 池田彩子「ビタミンE代謝とその調節」日本植物油協会第20回植物油栄養懇話会、2012年11月9日、如水会館(東京都)
- ② 池田彩子「米油に含まれるビタミンE群の特性と機能性」日本畜産学会第115回大会、2012年3月29日、名古屋大学(愛知県)
- ③ 池田彩子「トコトリエノールの体内動態と代謝調節」第7回日本トコトリエノール研究会、2010年10月5日、仙台市民会館(宮城県)

[図書] (計2件)

- ① Ikeda S, Uchida T, Abe C. Bioavailability of tocotrienols and interference of their bioavailability by  $\alpha$ -tocopherol supplementation. In: *Tocotrienols: Vitamin E Beyond Tocopherols*, 2nd Ed. (Tan B, Watson

RR, Preedy VR, eds). American Oil Chemists Society and Taylor & Francis, CRC Press, 総頁数 377 のうち担当 53-60, 2012 年

- ② 日本ビタミン学会編 (分担執筆)「ビタミン総合事典」朝倉書店, 総頁数 624 のうち担当 89-92, 2010 年

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

池田 彩子 (IKEDA SAIKO)

名古屋学芸大学・管理栄養学部・教授

研究者番号： 80308808

### (2)研究分担者

内田 友乃 (UCHIDA TOMONO)

名古屋学芸大学・管理栄養学部・助手

(現 愛知学泉大学・家政学部・講師)

研究者番号： 50440821

野村 早 (NOMURA SAKI)

名古屋学芸大学・管理栄養学部・助手

研究者番号： 90588956