

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25252025

研究課題名(和文)食品メイラード反応産物の抗肥満・抗炎症など新規生理機能の解明

研究課題名(英文)Elucidation of new physiological functions such as anti-obesity and anti-inflammation of food Maillard reaction products

研究代表者

宮澤 陽夫 (Miyazawa, Teruo)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：20157639

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,200,000円

研究成果の概要(和文)：食品メイラード産物を含む日本食食材である醤油に高血圧症や生体内酸化ストレスを緩和する効果があることを動物試験により明らかにし、食品メイラード産物がメタボリック症候群に有用である可能性を示唆した。加えてこれらの機能発現を理解するうえで重要な食品メイラード産物の吸収代謝を評価した。食品メイラード産物であるAmadori-PEをマーカーとし、Amadori-PEが確かに腸管吸収を経て体内に移行することを明らかにした。さらに、新たな視点として食品メイラード産物をナノ粒子(リポソーム)の基材に活用し、高い安定性と細胞への優れた取り込み能を有する新規リポソームを開発した。

研究成果の概要(英文)：In this study, the in vivo physiological effects (i.e. alleviation of hypertension and oxidative stress) of soy sauce, a Japanese food containing food Maillard reaction products, was examined in an animal study. Additionally, the absorption mechanism of food Maillard reaction products were evaluated, since understanding such mechanisms are important to identify how such physiological functions are expressed in vivo. Using Amadori-PE as a marker of food Maillard reaction products, it was revealed that Amadori-PE surely move into the body via intestinal absorption. Moreover, as a new perspective, we developed a novel liposome that utilizes food Maillard reaction products as a base material for nanoparticles (liposomes); such liposomes demonstrated high stability and excellent uptake ability into cells.

研究分野：食品科学

キーワード：食品科学 糖化脂質 Amadori-PE メイラード産物 ナノ粒子 質量分析

1. 研究開始当初の背景

我が国の成人の5人に1人は糖尿病と推定され、その年間医療費は1兆円を超える。そのため、糖尿病とその予備軍であるメタボリック症候群の一次予防に関しては高い社会的ニーズがある。糖尿病においては、生体でのメイラード反応(グリケーション)が進み、酸化ストレスを誘発することが増悪化の一因と想定されている。他方、我が国は世界的長寿国のひとつであり、日本食・和食には醤油や味噌を代表とし、多様な食品メイラード産物が含まれている。この他にも、ビールやコーヒー、クッキーといった世界的に広く食されている食品にもメイラード産物が含まれている(図1)。



図1. メイラード産物は様々な食品に含まれている

食品の加工や調理、貯蔵の過程で生じる食品メイラード産物は、食品に特有の色調と香りを付与し、嗜好性を高める。これらに加え我々は、糖尿病を含むメタボリック症候群における慢性炎症やインスリン抵抗性の原因となる脂肪細胞の分化成熟が、メイラード産物の摂取によって抑制されることをラット実験で発見した。例えば、食品メイラード産物を含むココアの摂取により高脂肪食で誘導される脂肪肝形成や内臓脂肪蓄積を抑制することを見出した。また、メイラード産物の摂取が生体内の酸化ストレスを誘発しないことも確認した。これらの知見から、生体でのカルボニルストレスは糖尿病を悪化させるといわれるが、食品として摂取したメイラード産物は、むしろ生体にとって良い働きをする場合もあると考えられた。

2. 研究の目的

我々は、経口的に食品から摂取した食品メイラード産物と、生体内において高血糖下で生じるカルボニル化合物(メイラード産物)では生理機能が根本的に異なると発想した。このことを解明するために、5年間の研究期間で、①食品メイラード産物の抗メタボリック症候群の分子機構の解明を目指した。また、研究の過程で食品メイラード産物の好ましい機能性が示唆されたことに加え、我々は様々な食品から食品メイラード産物を摂取していると考えられたため、②食品メイラード産物の吸収代謝の評価も実施した。加えて、新たな視点として、近年では生物学的利用能

の向上を目的にナノ粒子(リポソーム)の活用が注目されていることから、③リポソームの新規基材としての食品メイラード産物(Amadori-PE)の活用の可能性を検討した。

3. 研究の方法

①食品メイラード産物の抗メタボリック症候群の分子機構の解明

食品メイラード産物を含む代表的な日本食である醤油に着目し、醤油の摂取がメタボリック症候群に与える影響(特に高血圧症)を動物実験により検討した。醤油を用いた動物試験では、醤油に含まれる塩分の影響が懸念されることから、醤油として塩分を摂取させた場合と、食塩単独で摂取させた場合(醤油および食塩の添加量は、飼料乾燥重量中のナトリウム含量が食塩相当量として4.0%、2.2%、1.3%となるよう調製)を比較した。実験動物には食塩感受性高血圧ラット Dahl S を用い、食品メイラード産物を含む醤油の摂取が血圧に与える影響やその分子機構を、生体内酸化ストレスを中心に検証した。

②食品メイラード産物の吸収代謝の評価

食品に含まれる食品メイラード産物の吸収代謝に関しては統一した見解が得られていないため、本研究では、食品メイラード産物の中でも比較的分子量のために解析が可能な糖とアミノリン脂質(ホスファチジルエタノールアミン(PE))のメイラード産物“Amadori-PE”に着目した(図2)。

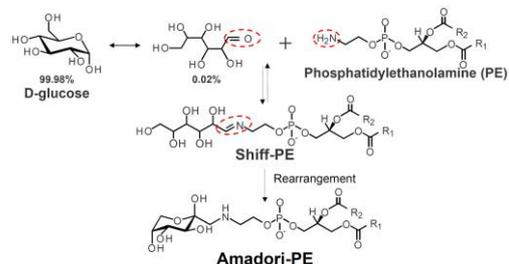


図2. Amadori-PEは糖とアミノリン脂質の反応生成物である

Amadori-PEは粉乳をはじめとした様々な食品に含まれることが知られていることから、食品メイラード産物のマーカーとして用いることでその腸管吸収を評価した。評価にあたり、食品中や生体でのAmadori-PEを解析するためのLC-MS/MS法を検討した。その後、脂質の吸収代謝評価に有効な手法である胸管リンパカニューレーション試験により、Amadori-PEの腸管吸収を評価した。

③リポソームの新規基材としての食品メイラード産物(Amadori-PE)の活用

新たな視点として、食品メイラード産物であるAmadori-PEをナノ粒子(リポソーム)の基材として活用することを着想した。リポソームの内包物としてクルクミン(CUR)を選択し、一般的にリポソームの素材として用

いられるリン脂質であるホスファチジルコリン (PC) と未糖化 PE に加え、今回新たにグルコース型の Amadori-PE (GPE)、ラクトース型の Amadori-PE (LPE) を基材としてリポソームを調製し、物性や細胞への取り込み能を評価した。

4. 研究成果

①食品メイラード産物の抗肥満・抗メタボリック症候群の分子機構の解明

醤油の摂取と、食塩の単独摂取を比較すると、醤油摂取によって血圧の上昇が緩和された (図 3)。このことから、食品メイラード産物を含む食品である醤油は血圧の上昇を抑制する可能性が示唆された。

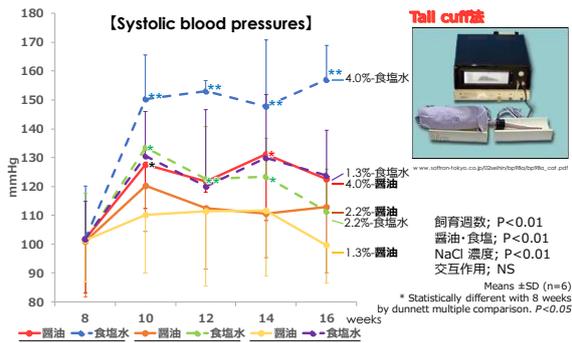


図 3. 醤油摂取は血圧の上昇を緩和した

また、メタボリック症候群の増悪化と密接に関与すると考えられる生体内の酸化ストレスを評価した。酸化ストレスの指標として生体中の過酸化脂質 (過酸化リン脂質 (PCOOH)) 濃度を測定した。その結果、醤油の摂取により肝臓や腎臓の PCOOH 濃度が低下した (図 4)。このことから、醤油は生体の酸化ストレスを抑制することで血圧の上昇を抑制することが示唆された。

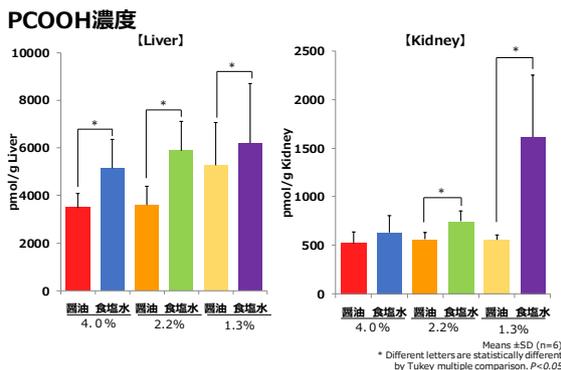


図 4. 醤油摂取は酸化ストレスマーカーである PCOOH 濃度を減少させた

酸化ストレスは高血圧症以外にも、様々なメタボリック症候群と密接に関わると考えられているため、食品メイラード産物を含む醤油の摂取はメタボリック症候群の改善に役立つと示唆された。今後の食品メイラード産物のさらなる機能解明が期待されるとともに、食品メイラード産物が機能を発揮する

うえで重要な、食品メイラード産物の吸収代謝について興味を持たれた。

②食品メイラード産物の吸収代謝の評価

LC-MS/MS を用いて食品や生体に含まれる Amadori-PE の分析法を構築した。本法は、Amadori-PE を構成する脂肪酸や結合する糖の違い (グルコース・スクロース) により生じる分子種レベルで解析できる方法である。実際に、Amadori-PE を多く含む食品である粉乳を解析し、粉乳に含まれる Amadori-PE を分子種レベルで解析することができた (図 5)。

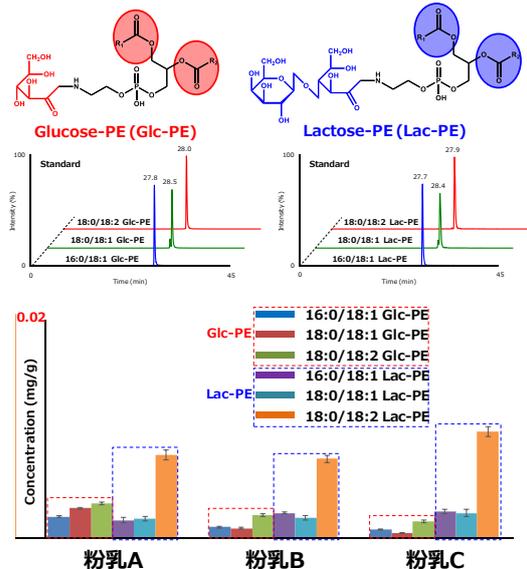


図 5. LC-MS/MS 法を構築し、食品 (粉乳) に含まれる Amadori-PE を分子種レベルで解析した

続いて、Amadori-PE を食品メイラード産物のマーカーとし、ラットを用いて腸管吸収を評価した。Amadori-PE を含むエマルジョンサンプルをラット胃内に投与した後、リンパ液を定量的に経時的に採取した。その結果、サンプル投与前にはリンパ液中から Amadori-PE は検出されなかったが、投与後にはわずかながら Amadori-PE が検出された (図 6)。このことから、食品メイラード産物である Amadori-PE が腸管吸収を経て生体に取り込まれることを本研究によって世界で初めて明らかにした。

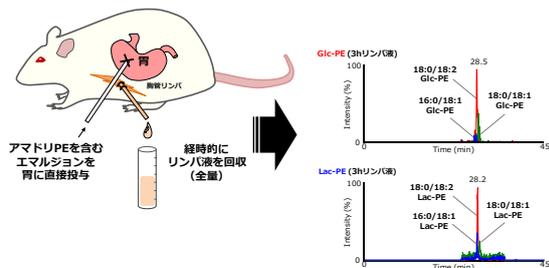


図 6. Amadori-PE が腸管吸収を経て生体に取り込まれることが確認できた

③リポソームの新規素材としての食品メイラード産物 (Amadori-PE) の活用

リポソームの基材として Amadori-PE を用いた場合でも、未糖化 PE と同様に、リポソームの粒径は約 200 nm であり、CUR の封入率は約 10% だった。一方で、Amadori-PE を用いたリポソームは、未糖化 PE から調製したリポソームに比べて、ゼータ電位の負電荷が顕著に増加した (図 7)。したがって、Amadori-PE を基材とすることで、分散液中におけるリポソーム安定性が向上し、新たな性質を持つリポソームを調製できることが示唆された。

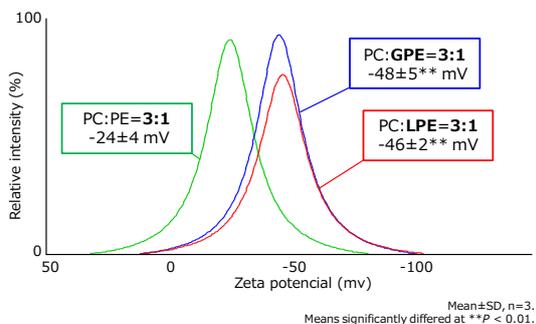


図 7. Amadori-PE (GPE, LPE) を基材としたリポソームはゼータ電位が増加し、安定性が向上した

上記の結果は、リポソームに含有される成分 (CUR) の細胞への取り込み量に影響を与えると考えたため、調製したリポソームを用いて細胞への取り込み試験を実施した。その結果、Amadori-PE を基材としたリポソームでは CUR の細胞内取り込みが増加した (図 8)。以上より、Amadori-PE を基材とすることで安定性が高く、内包物をより効果的に細胞へ移行できる新たな物性をもつリポソームを開発できた。Amadori-PE は食品メイラード産物であり、粉乳などの食品にも含まれることから、安全性にも優れていると予想される。加えて、Amadori-PE の基材への活用を検討し、安定性と細胞内取り込み能が高い新たなナノ粒子の開発が期待された。

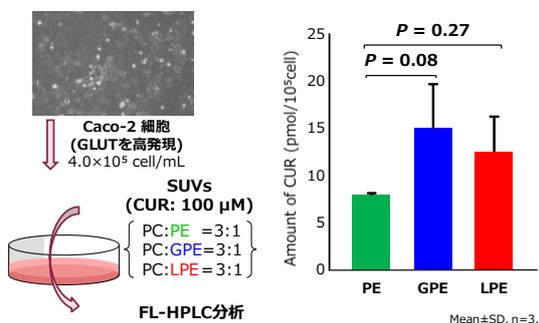


図 8. Amadori-PE (GPE, LPE) を基材としたリポソームは、内包する CUR の細胞への取り込みを向上させた

本研究により、食品メイラード産物を含む日本食食材である醤油に高血圧症や生体内酸化ストレスを緩和する効果があることを動物試験により明らかにし、食品メイラード産物がメタボリック症候群に有用である可

能性を示唆した。加えてこれらの機能発現を理解するうえで重要な食品メイラード産物の吸収代謝を評価した。食品メイラード産物である Amadori-PE をマーカーとして用いることを着想し、胸管リンパカニューレーション試験により、Amadori-PE が確かに腸管吸収を経て体内に移行することを明らかにした。本知見は食品メイラード産物の吸収代謝を解明するうえで重要であり、今後、他の食品メイラード産物についても吸収代謝を評価する必要性が示唆された。さらに、新たな視点として食品メイラード産物をナノ粒子 (リポソーム) の基材に活用できないかと考え、高い安定性と細胞への優れた取り込み能を有する新規リポソームを開発できた。以上より、食品メイラード産物はそのままの摂取に加えドラッグデリバリーのキャリアーや加工食品として応用展開できることが期待される。

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 4 件)

- 1) Miyazawa, T., Kamiyoshihara, R., Shimizu, N., Harigae, T., Otoki, Y., Ito, J., Kato, S., Miyazawa, T., Nakagawa, K. Amadori-glycated phosphatidylethanolamine enhances the physical stability and selective targeting ability of liposomes. R. Soc. Open Sci., 5, 171249. (2018) 査読有り.
Doi: 10.1098/rsos.171249.
- 2) Suzuki, K., Nakagawa, K., Miyazawa, T. Augmentation of blood lipid glycation and lipid oxidation in diabetic patients. Clin. Chem. Lab. Med., 52, 47-52. (2013) 査読有り.
Doi: 10.1515/cclm-2012-0886.
- 3) Gregor, C. B., Nakagawa, K., Watanabe, A., Kimura, F., Miyazawa, T. γ -Tocotrienol attenuates triglyceride through effect on lipogenic gene expressions in mouse hepatocellular carcinoma Hepa 1-6. J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo), 59, 148-151. (2013) 査読有り.
Doi: 10.3177/jnsv.59.148
- 4) 本間 太郎, 北野 泰奈, 木島 遼, 治部 祐里, 川上 祐生, 都築 毅, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. 脂質・糖質代謝系に焦点を当てた年代別日本食の健康有益性の比較. 日本食品科学工学会誌, 60, 541-553. (2013) 査読有り.
Doi: 10.3136/nskkk.60.541

[学会発表] (計 24 件)

- 1) 宮澤 大樹, 上吉原 怜奈, 宮澤 陽夫, 仲川 清隆. Preparation and cellular uptake of Amadori-PE containing liposomes. 日本化学会 第 98 春季年会 (2018 年)
- 2) 伊藤 隼哉, 小舘 愛, 梅津 直生, 乙木 百合香, 加藤 俊治, 池田 郁男, 永塚 貴弘, 宮澤 陽夫, 仲川 清隆. 粉乳に含まれる脂質糖化産物の分析法の構築と腸管吸収の評価. 第 27 回日本メイラード学会年会 (2017 年)
- 3) 伊藤 隼哉, 小舘 愛, 乙木 百合香, 加藤 俊治, 池田 郁男, 宮澤 陽夫, 仲川 清隆. 質量分析を用いた粉乳に含まれる脂質糖化産物の分析法の構築. 日本農芸化学会 2017 年度大会 (2017 年)
- 4) 仲川 清隆. ナトリウムイオンの付加を利用した脂質メイラード産物の LC-MS/MS 分析と展開. 応用糖質科学会 中部支部 総会・講演会 (招待講演) (2017 年)
- 5) 小舘 愛, 乙木 百合香, 伊藤 隼哉, 加藤 俊治, 宮澤 陽夫, 仲川 清隆. 粉乳に含まれる脂質糖化産物の分析法の構築. 2016 年度日本農芸化学会東北支部大会 (2016 年)
- 6) 小舘 愛, 仲川 清隆, 乙木 百合香, 伊藤 隼哉, 加藤 俊治, 水落 俊介, 木村 ふみ子, 宮澤 陽夫. 粉乳に特徴的に含まれる脂質糖化産物の定量的考察. 第 70 回日本栄養・食糧学会大会 (2016 年)
- 7) 上吉原 怜奈, 仲川 清隆, 張替 敬裕, 宮澤 大樹, 木村 ふみ子, 宮澤 陽夫. 糖化リン脂質を基材とする新規リポソームの調製. 日本農芸化学会 2016 年度 (平成 28 年度) 大会 (2016 年)
- 8) 仲川 清隆, 小舘 愛, 乙木 百合香, 伊藤 隼哉, 加藤 俊治, 木村 ふみ子, 宮澤 陽夫. ナトリウムイオンの付加を利用した糖化脂質の新しい質量分析. 日本油化学会第 54 回年会 (2015 年)
- 9) 仲川 清隆. ナトリウムイオンの付加を利用した糖化脂質の新しい LC-MS/MS 分析. 第 349 回脂溶性ビタミン総合研究委員会 (2015 年)
- 10) Teruo Miyazawa. Why is the discrepancy between healthy “WASHOKU” and mystic “AGE/RAGE axis”? 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015 (招待講演) (国際学会) (2015 年)
- 11) Ai Kodate, Kiyotaka Nakagawa, Yurika Otoki, Junya Ito, Shunji Kato, Fumiko Kimura, Teruo Miyazawa. Analysis of a glycated lipids present in milk powder. 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015 (国際学会) (2015 年)
- 12) Reina Kamiyoshihara, Kiyotaka Nakagawa, Takahiro Harigae, Taiki Miyazawa, Fumiko Kimura, Teruo Miyazawa. Preparation of liposomes using glycated lipids for the rapetic purposes. 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015 (国際学会) (2015 年)
- 13) Megumi Kato, Saki Hayasaka, Fumiko Kimura, Kiyotaka Nakagawa, Shunji Kato, Teruo Miyazawa. Anti-hypertensive effect of soy sauce in salt-sensitive hypersensitive rats. 12th International Symposium on the Maillard Reaction 2015 (国際学会) (2015 年)
- 14) 加藤 恵, 早坂 咲, 木村 ふみ子, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. 食塩感受性高血圧ラットでの醤油の抗高血圧作用に関する研究. 第 24 日本メイラード学会年会 (2014 年)
- 15) 加藤 恵, 早坂 咲, 木村 ふみ子, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. 食塩感受性ラットにおける醤油の抗高血圧作用に関する研究. 日本食品科学工学会平成 26 年度東北支部大会 (2014 年)
- 16) Teruo Miyazawa. Oxidized Lipids and Inflammation. Annual Meeting of the Korean Nutrition Society (Seoul) (招待講演) (2013 年)
- 17) 鈴木 優里, 加藤 俊治, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. 過酸化リン脂質 (PCOOH) の細胞内代謝と還元酵素との関連性. 日本農芸化学会東北支部 第 148 回大会 (2013 年)
- 18) 永塚 貴弘, 仲川 清隆, 西田 浩志, 倉田 忠男, 宮澤 陽夫. 糖化リン脂質によるテロメラーゼの活性化. 日本油化学会第 52 回年会 (2013 年)
- 19) 鈴木 晃一郎, 仲川 清隆, 木村 ふみ子, 宮澤 陽夫. カカオポリフェノールは四塩化炭素投与によるラット腎臓の酸化

障害を抑制する。日本油化学会第 52 回
年会 (2013 年)

- 20) 澤根 健人, 加藤 俊治, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. ヒト血漿に含まれるリン脂質酸化二次生成物の LC-MS/MS 分析. 日本油化学会第 52 回年会 (2013 年)
- 21) 宮澤 陽夫. 生体酸化脂質の分析と生理機能. 日本脂質生化学会 (2013 年)
- 22) 澤根 健人, 加藤 俊治, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. ヒト血漿に存在するリン脂質酸化二次生成物の LC-MS/MS 分析. 第 67 回栄養・食糧学会 (2013 年)
- 23) 鈴木 優里, 加藤 俊治, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. ヒト肝癌細胞 HepG2 における酸化リン脂質 (PCOOH) の代謝. 第 67 回栄養・食糧学会 (2013 年)

[図書] (計 3 件)

- 1) Miyazawa Taiki, Kamiyoshihara Reina, Miyazawa Teruo, Nakagawa Kiyotaka. International Symposium on the Maillard Reaction, IMARS Highlights, 2018, 5-10
- 2) 仲川 清隆. 建帛社、栄養・食糧学用語辞典、2015、308-308
- 3) 木村 ふみ子, 仲川 清隆, 宮澤 陽夫. メディカルレビュー社、アンチエイジングのための 100 の質問、2014、32-33

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

特になし

○取得状況 (計 0 件)

特になし

[その他]

ホームページ等

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/kinoubunshi/index-j.html>

著書等

- 1) Nakagawa, K., Kimura, F., Miyazawa, T. Biological roles of Amadori-glycated phosphatidylethanolamine: involvement of lipid glycation in the development of diabetic complications (short review). IMARS Highlights. 9, 5-8. (2014) 査読無し.
- 2) 宮澤 陽夫. 特別解説: 遺伝子解析からみた日本食の栄養特性. 食品と容器, 4, 244-248. (2013) 査読無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮澤 陽夫 (MIYAZAWA Teruo)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号: 20157639

(2) 研究分担者

仲川 清隆 (NAKAGAWA Kiyotaka)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号: 80361145

都築 毅 (TSUDUKI Tsuyoshi)

東北大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号: 00404848

木村 ふみ子 (KIMURA Fumiko)

尚絅学院大学・健康栄養学科・准教授

研究者番号: 50321980

井上 奈穂 (INOUE Nao)

山形大学・農学部・准教授

研究者番号: 90510529

(3) 連携研究者

特になし

(4) 研究協力者

特になし