

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 11 月 1 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350098

研究課題名(和文) 日常的な食品素材を用いた高フラボノイド食摂取と生体内抗酸化指標の関連に関する研究

研究課題名(英文) Research on the antioxidant biomarkers in human after consuming the flavonoid-enriched meals fixed by normal daily food.

研究代表者

市川 陽子 (ICHIKAWA, YOKO)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：50269495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)： エネルギー、PFC比等を整え、フラボノイドを豊富に含む高フラボノイド食を設計・調製し、健康学生7名を対象に食事由来フラボノイドの体内動態について検討した。また、本食および対照群として低フラボノイド食をBMI25以上の肥満者6名にクロスオーバーで1週間継続摂取させ、高フラボノイド食の短期継続摂取が炎症マーカーに与える影響を検証した。

高フラボノイド食摂取後は血中フラボノイド濃度の有意な上昇がみられ、摂取9時間後も血中に存在することが示された。また、BMI30以上の著しい肥満者において、高フラボノイド食摂取後に血球細胞中のTNF- α などの炎症性サイトカインの遺伝子発現量低下が確認された。

研究成果の概要(英文)： We fixed flavonoid-enriched test meals considering energy and PFC ratio, and we investigated disposition of dietary-derived flavonoids after consuming test meals in seven healthy subjects. Also, we verify the effects of short-term continual intakes for the flavonoid-enriched diet on inflammatory markers in six obese subjects (BMI 25) through comparison of a case for flavonoid-poor meals.

It was shown that the plasma flavonoid levels rose significantly and maintained at the high level for nine hours after consuming test meals. Moreover, it was confirmed that gene expression of inflammatory cytokines such as TNF- α in blood cells decreased after continually consuming the flavonoid-enriched meals in extremely obese subjects (BMI 30).

研究分野：実践栄養学

キーワード：フラボノイド 食事由来 高フラボノイド食 体内動態 炎症性サイトカイン 抗炎症 抗酸化 ヒト試験

1. 研究開始当初の背景

ポリフェノール類の一種であるフラボノイドは様々な機能性を有し、生理活性の1つである抗酸化作用は、生体内でDNAや細胞を傷害し、疾患を引き起こす活性酸素を消去することで疾病の誘発を防ぐと考えられている。また、野菜、果物などに幅広く含まれることから日常的な食事からの摂取が可能である。近年、健康食品の市場が拡大し、サプリメントや健康食品の消費が増大しているが、それらの長期間、高濃度摂取での安全性、有効性、他の栄養素との相互作用についての知見は不十分である。

2. 研究の目的

本研究では、安全性の高い食事による機能性成分の摂取のあり方について科学的根拠をもって提案するため、(1)調理が食材中の機能性成分に及ぼす影響の検討、(2)食事由来フラボノイドの生体内機能性評価ヒト試験のための高フラボノイド食の開発、(3)高フラボノイド食を用いた食事由来フラボノイドの体内動態(血中フラボノイド濃度の変化)の検証、(4)高フラボノイド食の短期継続摂取による疾病リスク低減効果(炎症性サイトカインの遺伝子発現量の減少効果)の検証を行うこととした。

3. 研究の方法

1)調理が食材中の機能性成分に及ぼす影響に関する検討

(1)食材の選定及び調理操作

フラボノイド含有量、1食あたりのポーションサイズ、日本人における摂取量、の3点より、豆腐、大豆、たまねぎ、オクラ、チンゲンサイ、小松菜の6種類の食材を試料に選定した(表1)。

調理操作は、異なる熱媒体による焼き、炒め、ゆで、煮、蒸し、および生の7種とした(表2)。

表1. 食材の産地、購入日および切り方

食材	産地	購入日	切り方
たまねぎ	兵庫県産	平成27年8月3日	3mm幅の薄切り
木綿豆腐	不明	平成27年8月19日	1.5cm角の立方体
オレンジ	オーストラリア産	平成27年9月7日	1cm幅の半月切り
大豆(乾)	北海道産	平成27年9月14日	
ほうれん草	群馬県産	平成27年9月16日	3~4cm幅のざく切り
オクラ	静岡県産	平成27年9月28日	3mm幅の輪切り
モロヘイヤ	静岡県産	平成27年10月27日	3~4cm幅のざく切り
チンゲンサイ	静岡県産	平成27年11月3日	3~4cm幅のざく切り
小松菜	静岡県産	平成27年11月10日	3~4cm幅のざく切り

表2. 調理操作の詳細

調理操作	内容
生	
焼き	フライパンで1分間、強火(4段階目の火力)で加熱した。
炒め	フライパンを強火(4段階目の火力)で30秒間加熱した後、弱火(2段階目の火力)とし、重量の8%の油をひいて15秒間加熱し、試料を加えて5分間加熱した。
ゆで	400 mLの水を沸騰させ、試料を加えて強火(4段階目の火力)で1分間加熱した。
煮	400 mLの水を沸騰させ、試料を加えて弱火(1段階目の火力)で10分間加熱した。
蒸し	ヘルシオ(AX-2000)の蒸し物(強)モードで10分間加熱した。
電子レンジ	ヘルシオ(AX-2000)を用いて、600 Wで2分間加熱した。

フライパンは、テフロン製の直径27.7 cmのものを用いた。
ガスコンロは、ガス消費量4.2 kW/hのものを使用し、火力は5段階中下から数えたものを示した。

(2)フラボノイド類、総ポリフェノール量、抗酸化活性の測定

調理後の試料を凍結乾燥し、粉碎した乾燥粉末をサンプルとした。フラボノイド類の測定は、乾燥粉末をβ-グルコシダーゼにて酵素加水分解処理後、メタノールにて抽出し、ケルセチン、ケンフェロール、アピゲニン、ルテオリン、ナリンゲニン、ダイゼイン、ゲニステインの7種類のフラボノイドアグリコンをHPLCにて測定した。総ポリフェノール量は、Folin-Ciocalteu法、抗酸化活性は、DPPHラジカル消去活性およびH-ORAC法により測定した。

2)食事由来フラボノイドの機能性評価のための高フラボノイド試験食・フラボノイド低減食の開発

(1)高フラボノイド試験食の開発

試験食は、日本人の食事摂取基準(2010年版)に基づいたエネルギー・各栄養素量、PFC比、榊原ら(2012)においてフラボノイド含有量の多い食材・調理法、主食・主菜・副菜・汁物から構成される典型的な日本型の食事の3点を充たす9献立を開発した。

(2)フラボノイド低減食の作製

食事由来フラボノイドの体内動態、疾病リスク低減効果検討のヒト試験での対照食として、既報(榊原ら, 2012)に基づき、さらに9献立を開発した。

(3)フラボノイド類、総ポリフェノール量、抗酸化活性の測定

1)-(2)と同様にフラボノイド類、総ポリフェノール量、抗酸化活性を測定した。

3)高フラボノイド食を用いた食事由来フラボノイドの体内動態の検討

(1)被験者および試験食

年齢18歳以上、薬剤やサプリメントの服用なし、BMI 25以下、の全てを満たす健康学生7名(男性4名、女性3名)で、年齢23.3 ± 1.8歳、BMI 21.3 ± 2.2 kg/m²である。2)-(1)で作製した献立を高フラボノイド試験食に用いた。

(2)研究デザイン

試験1日目、2日目にフラボノイド低減食を1日3食(合計6食)摂取し、ウォッシュアウト期間とした。3日目の朝食に高フラボノイド試験食を、昼食・夕食にはフラボノイド低減食を摂取した。試験3日目の朝食摂取前、朝食摂取後2、3、7、8、9時間に肘正中皮静脈より採血を行った。同時に、朝食摂取後から翌日の朝食摂取前(午前9時)まで、ユリンメートをを用いて24時間蓄尿を行った。試験期間中は試験食以外を絶食とし、水のみを自由摂取とした。採血した血液は、5 mlをヘパリン処理した採血管に回収した。

(3) 血液、尿サンプルの測定

血漿サンプル中のフラボノイドは、 β -グルクロニダーゼにて酵素加水分解処理後、酢酸エチルにて抽出した。尿サンプル中のフラボノイドは、 β -グルクロニダーゼにて酵素加水分解処理後、Sep-Pak C18を用いて抽出し、メタノールにて回収した。LC/MSにて7種類のフラボノイド濃度を測定した。

(4) 統計解析および研究倫理

結果は平均値 \pm SD で示した。統計解析には SPSS Version 22.0 for Windows (日本IBM) を用いた。血中フラボノイド濃度の比較には、一元配置分散分析の後、Tukey の多重比較を行った。統計的有意水準は 5% 以下で有意差ありとした。本研究は、静岡県立大学倫理審査委員会の承認を受けて推進した。

4) 高フラボノイド食摂取の短期継続摂取による生体内炎症マーカーに関する検討

(1) 被験者および試験食

年齢 18 歳 ~ 60 歳、薬剤やサプリメントの服用なし、BMI 25 以上、の全てを満たす健康男性 6 名で、年齢 36.3 ± 9.9 歳、BMI 26.3 ± 4.4 kg/m² である。上記 2) - (1) の高フラボノイド試験食 ~ 、フラボノイド低減食 ~ を 3 日のサイクルで提供した。

(2) 研究デザイン

試験1日目~3日目の朝食までフラボノイド低減食を1日3食(合計7食)摂取し、ウォッシュアウト期間とした。3日目の昼食より高フラボノイド試験食(高フラボノイド群)またはフラボノイド低減食(低フラボノイド群)を試験10日目の朝まで(7日間、合計21食)摂取した。試験3日目の昼食前および試験10日目の昼食前に肘正中皮静脈より採血を行った。同時に、試験2日目の昼食摂取後から試験3日目の昼食摂取前および試験9日目の昼食摂取後から試験10日目の昼食摂取前まで、ユリシメットを用いて24時間蓄尿を行った。試験期間中は試験食以外を絶食とし、水のみを自由摂取とした。採血量は5 mlとし、4 mlはヘパリン処理した採血管に、1 mlはRNA安定剤を添加した採血管のPAXgene®RNA採血管に回収した。高フラボノイド群、低フラボノイド群を1サイクルずつクロスオーバーで、合計2サイクルを実施した。

(3) 被験者の日常的な摂取栄養量の推定

被験者の日常的な摂取栄養量について、エクセル栄養君®食物摂取頻度調査(FFQg) Ver. 4.0(建帛社)調査票を被験者に配布・回収し、専用ソフトを用いて解析した。

(4) 血液、尿サンプルの測定

血中および尿中フラボノイド濃度の測定は、3) - (4)と同様に行った。さらに、血球細胞中のIL-1、IL-6、IL-8、IL-18、TNF- α の5種類の炎症性サイトカインの遺伝子発現量を、RT-PCRで測定した。

(5) 統計解析および研究倫理

3) - (5)に準じる。

4. 研究成果

1) 調理が食材中の機能性成分に及ぼす影響に関する検討

試料の生の状態のフラボノイド含有量を100%とし、これに対する調理後試料のフラボノイド含有量「保持率(%)」とした。食材中のフラボノイド保持率を表3に示す。なお、オレンジとほうれん草からは、今回標品として用いた7種のフラボノイドは検出されなかった。

表3. 食材別フラボノイド含有量の保持率

食材名	調理操作	フラボノイド含有量の保持率(%)							平均値	食材別平均値	調理操作別平均値	
		ダイゼイン	ガネステイン	ケルセチン	フェロール	アピゲニン	ナリンゲニン	ルテオリン				
豆腐	焼き	87.6	87.0	-	-	-	-	-	87.3	77.6	焼き	72.3
	炒め	84.3	86.7	-	-	-	-	-	85.5		炒め	84.0
	ゆで	69.9	73.0	-	-	-	-	-	71.5		ゆで	61.5
	煮	56.3	61.5	-	-	-	-	-	58.9		煮	40.6
	蒸し	86.7	88.6	-	-	-	-	-	87.8		蒸し	58.0
	電子レンジ	72.6	76.5	-	-	-	-	-	74.5		電子レンジ	58.0
フラボノイド群平均値		78.2	78.9	-	-	-	-	-	-			
大豆(乾)	焼き	81.3	83.7	-	-	-	-	-	82.5	88.5		
	炒め	100.2	112.3	-	-	-	-	-	106.2			
	ゆで	106.3	94.5	-	-	-	-	-	100.4			
	煮	91.1	78.8	-	-	-	-	-	85.0			
	蒸し	73.5	65.3	-	-	-	-	-	69.4			
	電子レンジ	81.3	94.1	-	-	-	-	-	87.7			
フラボノイド群平均値		88.0	88.1	-	-	-	-	-	-			
たまねぎ	焼き	-	-	67.1	-	-	-	-	67.1	61.1		
	炒め	-	-	64.9	-	-	-	-	64.9			
	ゆで	-	-	93.4	-	-	-	-	93.4			
	煮	-	-	50.9	-	-	-	-	50.9			
	蒸し	-	-	40.0	-	-	-	-	40.0			
	電子レンジ	-	-	50.5	-	-	-	-	50.5			
フラボノイド群平均値		-	-	61.1	-	-	-	-	-			
オクラ	焼き	-	-	188.2	-	-	-	-	188.2	248.4		
	炒め	-	-	420.7	-	-	-	-	420.7			
	ゆで	-	-	142.6	-	-	-	-	142.6			
	煮	-	-	166.0	-	-	-	-	166.0			
	蒸し	-	-	236.4	-	-	-	-	236.4			
	電子レンジ	-	-	326.7	-	-	-	-	326.7			
フラボノイド群平均値		-	-	248.4	-	-	-	-	-			
チンゲンサイ	焼き	-	-	81.6	62.9	-	-	-	72.2	54.8		
	炒め	-	-	83.0	-	-	-	-	83.0			
	ゆで	-	-	62.4	29.9	-	-	-	46.1			
	煮	-	-	25.7	-	-	-	-	25.7			
	蒸し	-	-	58.1	32.5	-	-	-	45.3			
	電子レンジ	-	-	72.3	40.6	-	-	-	56.4			
フラボノイド群平均値		-	-	63.8	41.5	-	-	-	-			
小松菜	焼き	-	-	75.9	49.2	-	-	-	62.5	54.7		
	炒め	-	-	122.1	83.3	-	-	-	102.7			
	ゆで	-	-	36.8	34.0	-	-	-	34.9			
	煮	-	-	28.3	24.2	-	-	-	26.8			
	蒸し	-	-	71.5	46.2	-	-	-	58.8			
	電子レンジ	-	-	50.1	35.0	-	-	-	42.5			
フラボノイド群平均値		-	-	64.1	45.3	-	-	-	-			

大豆(乾)、オクラは参考値であり、調理操作別平均値には含まない。

フラボノイド含有量、総ポリフェノール含有量および抗酸化活性のすべての項目において、生と比較して値が大きく減少した調理操作は、「煮」であり、次いで、「ゆで」調理であった。加熱による抗酸化物質の分解に加えて、煮汁やゆで水への溶出が考えられる。また、煮よりもゆで調理において保持率が高いことから、弱火での長時間加熱よりも強火での短時間加熱の方がフラボノイドおよび抗酸化物質の溶出が防げることが示された。焼き、蒸し、電子レンジの調理操作は、ゆでや煮よりも比較的保持率が高く、フラボノイドの摂取を意識した食事を調理する際は、これらの調理を積極的に取り入れることが推奨される。また、食材とともに煮汁も摂取できる汁物やスープであれば、献立に取り入れても問題はないと考える。

2) 食事由来フラボノイドの機能性評価のための高フラボノイド試験食の開発

今回開発した高フラボノイド試験食1食当たりのフラボノイド含有量の平均値は、生の食材による推定値で82.6 mg / meal、調理後

の実測値においても 48.2 mg / meal と、先行研究における日本人の日常的なフラボノイド摂取量よりも推定値で約 4 倍、実測値でも約 2 倍高い値であった。これらの結果より、今回の試験食を高フラボノイド試験食として妥当であると判断した。

3) 高フラボノイド食を用いた食事由来フラボノイドの体内動態の検討

血漿サンプルのフラボノイド濃度を表 4 に示した。血中ケルセチンは、空腹時の 0 時間において検出限界以下だったが、それ以降の食後 2 時間～9 時間までのサンプルにおいて検出が確認された。また、血中濃度は食後 8 時間で $4.29 \pm 1.46 \mu\text{M}$ と最も高い値を示した。ダイゼイン、ゲニステインは、全ての血液サンプルより検出されたが、どのサンプル間においても有意な差は確認されなかった。また、食後 8 時間において最も高い血中濃度 ($0.51 \pm 0.41 \mu\text{M}$, $0.91 \pm 0.73 \mu\text{M}$) を示したが、個人差が大きかった。

尿中に排泄されたフラボノイドは一度生体内に吸収されたものと仮定し、高フラボノイド試験食中のフラボノイド量に対する尿中排泄量の割合を吸収率として算出し、表 5 に示した。ケルセチン、ダイゼイン、ゲニステインの吸収率の平均値はそれぞれ、 $1.06 \pm 0.89\%$ 、 $11.24 \pm 5.79\%$ 、 $20.46 \pm 15.12\%$ であった。

	血中フラボノイド濃度 (μM)					
	空腹時(0分)	食後2時間	食後3時間	食後7時間	食後8時間	食後9時間
ケルセチン	ud	3.41 ± 0.80	3.86 ± 0.64	3.52 ± 0.91	4.29 ± 1.46	3.62 ± 0.70
ケンフェロール	ud	2.44 ± 0.51	2.61 ± 0.47	2.50 ± 0.76	3.15 ± 1.33	2.62 ± 0.54
アピゲニン	ud	ud	ud	ud	ud	ud
ルテオリン	ud	ud	ud	ud	ud	ud
ナリンゲニン	ud	ud	ud	ud	ud	ud
ダイゼイン	0.12 ± 0.00	0.21 ± 0.14	0.29 ± 0.14	0.35 ± 0.21	0.51 ± 0.41	0.33 ± 0.20
ゲニステイン	0.25 ± 0.00	0.44 ± 0.16	0.55 ± 0.22	0.72 ± 0.40	0.91 ± 0.73	0.67 ± 0.38

n=7. ud: under the detected. 値は平均値 \pm SD (μM)

	フラボノイド吸収率(%)							
	ケルセチン	ケンフェロール	アピゲニン	ルテオリン	ナリンゲニン	ダイゼイン	ゲニステイン	合計
No. 1	0.65	6.82	ud	ud	ud	11.75	15.65	7.56
No. 2	0.24	2.05	ud	ud	ud	4.39	7.66	3.21
No. 3	0.14	0.81	ud	ud	ud	5.56	6.29	3.13
No. 4	1.53	3.75	ud	ud	ud	19.99	47.04	17.28
No. 5	1.45	5.69	ud	ud	ud	11.12	18.82	8.39
No. 6	2.34	4.99	ud	ud	ud	14.62	27.28	11.67
平均	1.06 ± 0.89	4.02 ± 2.27	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	11.24 ± 5.79	20.46 ± 15.12	8.54 ± 5.38

n=6. 被験者をNo.1~No.6で示す. ud: under the detected. 値は平均のみ \pm SD (mg) で示す.

フラボノイドの体内動態に関するメタアナリシス (Manach C. *et al*, 2005) によると、ドイツ人においてたまねぎからケルセチンを摂取した時の T_{max} は 0.68~1.9 時間であった。また、韓国人女性において豆乳からイソフラボン類を摂取した場合の T_{max} は、ダイゼインで 3.71 時間、ゲニステインで 4.86 時間と報告されている (Chang, Y. *et al*, 2013)。本研究におけるフラボノイドの摂取源は複

合食の食事である。その結果、食事摂取 9 時間経過後も血中にケルセチン、ケンフェロール、ダイゼイン、ゲニステインの存在が確認され、8 時間後に血中濃度が最も高くなっていた。これは、これまでの報告と比較してケルセチンで 6 時間以上、ダイゼインで 4 時間以上、ゲニステインで 3 時間以上のピークの遅延であった。Nakamura ら (2014) は、日本人を対象に、たまねぎと豆腐を同時に摂取すると、それぞれを単体で摂取した場合より血中フラボノイド濃度のピークが遅延することを明らかにし、この吸収遅延は、同時摂取により食物繊維量や脂質量が増加し、吸収を阻害したと推察している。食物繊維は管腔での食物成分の拡散を阻害し、脂質の存在は腸管腔内の胃内容物の移送を遅らせることが知られている。本研究では、さらに複雑系の食事を用いており、前述した先行研究の食材と比較しても食物繊維や脂質の量が多い (脂質 13.5 g、食物繊維 6.2 g) ため、血中のケルセチン、ダイゼイン、ゲニステイン濃度のピークが単純な食品素材の場合と比べて遅くなったと推察される。

4) 高フラボノイド食摂取の短期継続摂取による生体内炎症マーカーに関する検討

(1) 血中および尿中フラボノイド濃度

高フラボノイド群における介入前後の血中フラボノイド濃度は図 1 より、ケルセチン、ケンフェロール、ダイゼイン、ゲニステインのいずれも、介入前後でそれぞれ $3.96 \pm 0.95 \mu\text{M}$ から $6.85 \pm 1.39 \mu\text{M}$ 、 $2.95 \pm 0.70 \mu\text{M}$ から $5.12 \pm 1.39 \mu\text{M}$ 、検出限界以下から $0.40 \pm 0.29 \mu\text{M}$ 、 $0.07 \pm 0.08 \mu\text{M}$ から $1.49 \pm 0.74 \mu\text{M}$ と有意な上昇が確認された。

介入前後の尿中フラボノイド濃度は図 2 より、いずれのフラボノイドも介入により有意な上昇がみられた。特に、イソフラボン類であるダイゼイン、ゲニステインの尿中濃度は、それぞれ $0.05 \pm 0.13 \text{ mM} / \text{M of Cre}$ から $11.36 \pm 8.12 \text{ mM} / \text{M of Cre}$ 、 $0.33 \pm 0.61 \text{ mM} / \text{M of Cre}$ から $18.41 \pm 12.63 \text{ mM} / \text{M of Cre}$ と急激な上昇が確認された。

なお、低フラボノイド群における介入前後の血中および尿中フラボノイド濃度は、いずれのフラボノイドについても介入前後で有意な変化は確認されなかった。

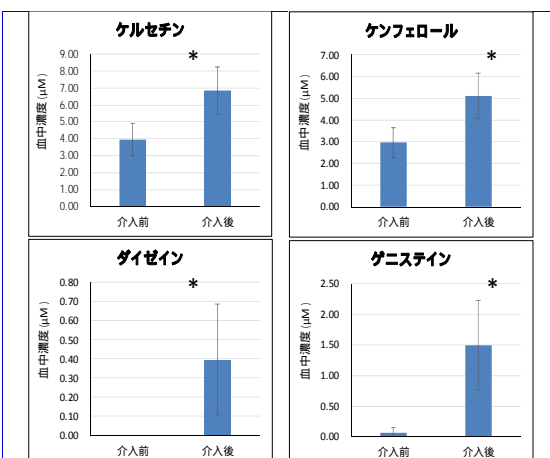


図1. 高フラボノイド群における介入前後の血中フラボノイド濃度

n=6. 値はすべて平均値 \pm SD (μM)

* : Tukeyの多重比較において介入の前後で血中濃度を比較した場合に $p < 0.05$ で有意差あり

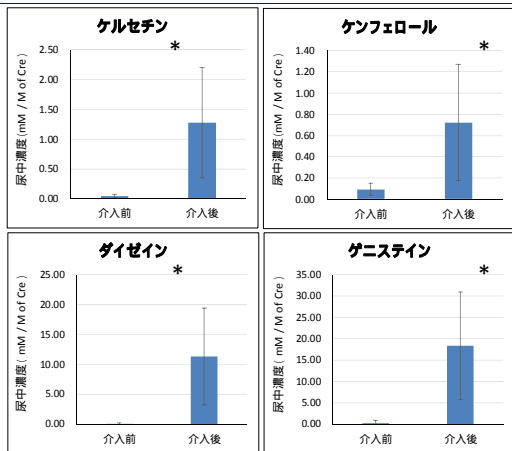


図2. 高フラボノイド群における介入前後の尿中フラボノイド濃度
 n = 6. 値はすべて平均値 ± SD (mM / M of Cre)
 * : Tukeyの多重比較において、介入の前後で尿中濃度を比較した場合にp < 0.05で有意差あり

(2) 血液中の遺伝子発現量の測定

FFQg による被験者の日常の摂取栄養量は、抗酸化能を有するレチノール、ビタミンB₂、ビタミンC等が日本人の食事摂取基準よりもわずかに低値であると推定され、エネルギー摂取量当たりで考えると、被験者間のバラつきはほとんどなく、日常の食事からの抗酸化作用に対する影響に差はないと判断した。

はじめに各被験者の介入前の遺伝子発現量を1としたときの、介入後の遺伝子発現量を相対値で算出し、介入前後の遺伝子発現量を比較した。今回の遺伝子発現量の算出には相対定量法を用いているため、絶対値を求めることはできない。それゆえ、高フラボノイド群、低フラボノイド群のどちらの炎症性サイトカインの遺伝子発現量が低値であるかについては不明である。そこで、高フラボノイド食群で5種類の炎症性サイトカインの遺伝子発現量がすべて低下した被験者 No. 5、No. 6 に着目し、低フラボノイド群の介入前と高フラボノイド群の介入前、および低フラボノイド群の介入後と高フラボノイド群の介入後の遺伝子発現量を比較し、各試験食介入による炎症性サイトカインのレベルの差と介入効果について検証した。その結果、図3より、No. 5において、IL-1 は介入前後のいずれも高フラボノイド群で低い発現量であり、IL-6、IL-8は、介入前後どちらにおいても高フラボノイド群の方が高い、または同等の遺伝子発現を示した。また、IL-18、TNF- α は、介入前において高フラボノイド群の方が高かったが、介入後は低くなっていた。さらに、図4のNo. 6では、IL-1 が介入前、後いずれにおいても高フラボノイド群で高い値を示しており、その他4種類の炎症性サイトカインにおいては、いずれも高フラボノイド群の方が低い値を示していた。以上より、炎症性サイトカインの遺伝子発現量は、高フラボノイド食での介入後に、フラボノイド低減食のそれよりも低くなること示された。

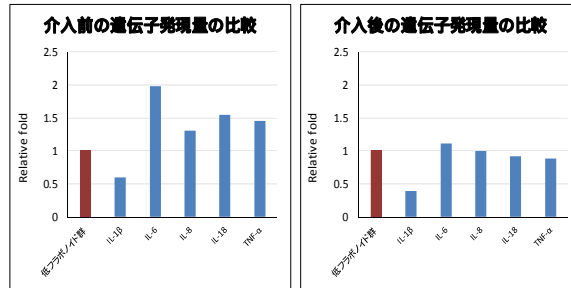


図3. No.5の介入前、介入後における低フラボノイド群の遺伝子発現量に対する高フラボノイド群の遺伝子発現量

No.5の低フラボノイド群における各遺伝子の発現量(左端)を1としたときの、高フラボノイド群における各遺伝子発現量を相対値で示す。

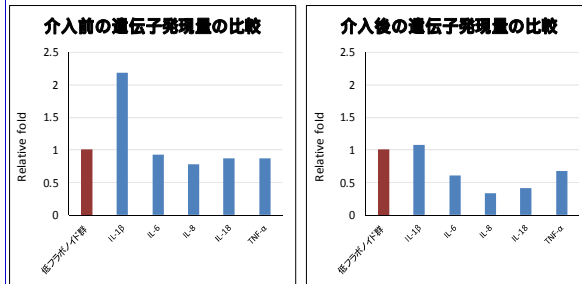


図4. No.6の介入前、介入後における低フラボノイド群の遺伝子発現量に対する高フラボノイド群の遺伝子発現量

No.5の低フラボノイド群における各遺伝子の発現量(左端)を1としたときの、高フラボノイド群における各遺伝子発現量を相対値で示す。

高フラボノイド食、フラボノイド低減食を短期間継続摂取した本試験の結果では、高フラボノイド食、フラボノイド低減食のいずれも介入後の炎症性サイトカインの遺伝子発現量の個人差が大きく、両群間に有意差は確認されなかった。しかしながら、介入による個人内の遺伝子発現量の変化に着目したところ、No. 5、No. 6 では、高フラボノイド食での介入後に、フラボノイド低減食の時よりも低くなっていた。これは、この2名がBMI30以上の著しい肥満者であったことが影響していると考えられる。肥満者では、生体内において慢性的な炎症が起こっていることが報告されており (Zahedi M. et al, 2013)、炎症性サイトカインの発現量が高まっている可能性が高い。それゆえ、BMI 30以上の被験者2名の体内で、フラボノイドの抗酸化作用が効きやすい状態であったと考えられる。

一方、その他4名はBMIが25以下(21.0~24.9)であったことから、炎症性サイトカインの発現量が低く、フラボノイドの作用が効きにくかったと推察される。

また、No. 5、No. 6はフラボノイド低減食の介入によっても、一部の炎症性サイトカインの遺伝子発現量の低下がみられた。これは、フラボノイド低減食のエネルギー、栄養素量や栄養バランスが、被験者が日常的に摂取している食事よりも整っていたことが影響している可能性がある。すなわち、フラボノイド低減食での介入によっても栄養状態が是正され、炎症性サイトカインの遺伝子発現量

が通常よりも低下したと推察される。

本試験では、被験者の年齢や BMI など身体状況に差が大きく、さらに、被験者数も 6 名と少なかったことにより、介入による有意な変化はみられなかった。しかしながら、**慢性的な炎症状態にあると考えられる BMI 30 以上の肥満者では、日常的な食品素材を用いた食事由来のフラボノイド摂取による抗炎症作用が示された。これは新しい知見である。**今後は、疾病リスクの高い肥満者を被験者として人数を増やし、高フラボノイド食の疾病リスク低減効果について、さらに検証を進めていく予定である。

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)

Sakakibara, H., Ichikawa, Y., Tajima, S., Makino, Y., Wakasugi, Y., Shimoi, K., Koabayashi, S., Kuamazawa, S. and Goda, T.: Evaluation of absorption and exclusion of bilberry anthocyanins in human subjects consuming flavonoid-poor menus. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 査読有 78, 1748-1752 (2014)

Yamazaki S., Miyoshi N., Kawabata K., Yasuda M., Shimoi K.: Quercetin-3-O-glucuronide inhibits noradrenaline-promoted invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cells by blocking β_2 -adrenergic signaling. *Arch. Biochem. Biophys.*, 査読有 557, 18-27 (2014)

Yamazaki S., Sakakibara H., Takemura H., Yasuda M., Shimoi K.: Quercetin-3-O-glucuronide inhibits noradrenaline binding to α_2 -adrenergic receptor, thus suppressing DNA damage induced by treatment with 4-hydroxyestradiol and noradrenaline in MCF-10A cells. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 査読有 143, 122-9 (2014)

Takemura H., Sakakibara H., Yamazaki S. and Shimoi K.: Breast cancer and flavonoids - a role in prevention. *Curr. Pharm. Des.*, 査読有 19(34), 6125-32 (2013)

[学会発表](計 7 件)

萬年遼, 佐野文美, 市川陽子: 日常的な食品素材を用いた高フラボノイド食の開発と検証. 第 63 回日本栄養改善学会学術総会(青森)講演要旨集 p.308, 2016 年 9 月
萬年遼, 保田倫子, 細谷孝博, 佐野文美, 熊澤茂則, 合田敏尚, 下位香代子, 市川陽子: ヒトにおける日常的な食品素材を用いた高フラボノイド食摂取後のフラボノイド類の体内動態の検討. 第 70 回日本栄養・食

糧学会学術大会(兵庫)講演要旨集, p.321, 2016 年 5 月

隈本美佳子, 保田倫子, 細谷孝博, 萬年遼, 佐野文美, 下位香代子, 市川陽子: 食材のフラボノイド・総ポリフェノール含有量および抗酸化活性に調理が及ぼす影響についての検討. 第 70 回日本栄養・食糧学会学術大会(兵庫)講演要旨集, p.321, 2016 年 5 月

Ryo Mannen, Michiko Yasuda, Takahiro Hosoya, Ayami Sano, Shigenori Kumazawa, Toshinao Goda, Kayoko Shimoi, Yoko Ichikawa: The disposition of dietary-derived flavonoids after consuming the flavonoid-enriched meals in humans. 12th Asian Congress of Nutrition (ACN 2015) (Yokohama) p476, May. 2015

萬年遼, 保田倫子, 佐野文美, 熊澤茂則, 合田敏尚, 下位香代子, 市川陽子: 食事由来のフラボノイドの機能性評価を目的とした高フラボノイド食の開発と検討, 日本ポリフェノール学会第 8 回学術大会(東京)講演要旨集 p.48, 2014 年 8 月

萬年遼, 保田倫子, 佐野文美, 熊澤茂則, 合田敏尚, 下位香代子, 市川陽子: 食事由来フラボノイドの機能性評価を目的とした高フラボノイド試験食の開発と検討, 第 3 回日本栄養改善学会東海支部学術総会(鈴鹿)講演要旨集 p.41, 2014 年 6 月

萬年遼, 保田倫子, 佐野文美, 熊澤茂則, 合田敏尚, 下位香代子, 市川陽子: 典型的な日本型の食事をベースにした高フラボノイド食の立案と検討, 第 68 回日本栄養・食糧学会大会(札幌)講演要旨集 p.238, 2014 年 5 月

6. 研究組織

(1)研究代表者

市川 陽子 (ICHIKAWA YOKO)
静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授
研究者番号: 50269495

(2)研究分担者

下位 香代子 (SHIMOI KAYOKO)
静岡県立大学・食品栄養科学部・教授
研究者番号: 10162728

合田 敏尚 (GODA TOSHINAO)
静岡県立大学・食品栄養科学部・教授
研究者番号: 70195923

(3)連携研究者

佐野 文美 (SANO AYAMI)
静岡県立大学・食品栄養科学部・助教
研究者番号: 20563399