

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：32676

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15777

研究課題名(和文)食品成分の相互作用によって生じた活性酸素種の腸管内における生理的役割

研究課題名(英文) Role of reactive oxygen species in the intestinal tract caused by the interaction of food ingredients

研究代表者

岩崎 雄介 (Iwasaki, Yusuke)

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：10409360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ポリフェノールと金属イオンとの相互作用によって、引き起こされる可能性について、活性酸素種に注目した検証を行った。さまざまなポリフェノールと金属イオンをそれぞれ人工腸液で反応させたところ、カフェイン酸、シナピン酸は銅イオンと反応することで、新たな化合物が生成されることが明らかとなった。一方、エピガロカテキンガレートと金属イオンの相互作用によって生じる生体影響を評価するために、ガスクロマトグラフ/タンデム質量分析計を用いたメタボロミクス解析を実施した。本条件下では生体内の低分子化合物に対して、影響は少ないと考えられたが、長期間による摂取や他の成分への影響など評価していく必要があると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸管内における食品成分の相互作用によって慢性的に生じた活性酸素種(ROS)が、腸内細菌や腸管基質に対してどのような生理的役割を与え、生体内の恒常性や疾患発症に寄与しているかについては、不明な点が多かった。本研究の結果から、食品成分の相互作用によってROSが産生されることが示され、その過程で新しい化合物が生成されることが明らかとなった。本研究で得られた結果から、腸管内をターゲットとしたROSのバランスを調節する新薬の開発や予防のための機能性食品を提案する上で、重要な知見になり得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Active ingredients may be ingested through foods, and they can cause several interactions in the human body. In this study, we examined the chemical reactions between hydroxycinnamic acids, a group of polyphenols, and metal ions in artificial intestinal fluid. Caffeic acid (CaA) and sinapic acid (SA) reacted with copper ions under artificial intestinal fluid conditions and produced new compounds. Relative to the initial compounds, CaA and SA derivatives produced by condensation exhibited an increased antioxidant and a decreased prooxidant activity. On the other hand, to evaluate the biological effects caused by the interaction between epigallocatechin gallate and metal ions, metabolomics analysis using GC/MS/MS was performed. This study revealed a new food ingredient interaction pattern in which new compounds are produced under biological conditions.

研究分野：分析化学

キーワード：食品成分 相互作用 酸化ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体の恒常性維持のため、生体内に存在する酸化物質と抗酸化物質の活性は、一定のバランスで維持されている。そして、活性酸素種 (ROS) などの酸化物質が過剰に生成し、生体内バランスが崩れることによって、ROS が反応性の高いヒドロキシルラジカルなどに変化し、生体内成分を損傷すると考えられてきた。しかし、一部のフリーラジカルは、生理活性物質として作用するなど、「反応性が高いこと = 生体に対して有害である」と断定することはできなくなっている。そのため、生体内で生じる ROS がさまざまな疾患の発症に係わるとされていたが、バランスの取れた ROS の産生が生体内外でどのような役割を担っているかについては、未だ不明な点が多かった。

2. 研究の目的

食品中のヒドロキシ基を持つ化合物と金属イオンとの相互作用によって、ROS が産生されることが明らかとなっている。一方、腸管に存在するパイエル板が生体の免疫系に強く関与し、腸内細菌叢によって支配されていることが注目されている。腸管は生体外とみなすことができ、常に摂取する食事から ROS が産生されれば直接、腸内細菌叢に変化を与えることで、免疫系を介した生体への影響が考えられる。

本研究では、食品成分の組合せの一つとしてポリフェノール(ヒドロキシケイ皮酸類とカテキン類)と金属イオンの相互作用によって生じる可能性がある ROS が、消化管内における酸化ストレスと生体の恒常性に与える因果関係を明らかにし、生体内生理活性物質の変化に与える影響について解明する。

3. 研究の方法

(1) ポリフェノール類と金属イオンの相互作用による ROS の生成

それぞれのポリフェノールは金属イオンと共存の下、FaSSGF (人工胃液) または FaSSIF (人工腸液) 溶液で反応させた。また、反応溶液は、高速液体クロマトグラフ/フォトダイオードアレイ検出器 (LC/PDA) で測定し、ポリフェノールの安定性を評価した。新たに生成された化合物は、核磁気共鳴装置 (NMR) で解析した。抗酸化作用の評価には、DPPH 法、CUPRIC 法、FRAP 法で比較した。プロオキシダント作用の評価には、電子スピン共鳴装置 (ESR) によって解析した。

(2) エピガロカテキンガレート (EGCG) と金属イオンの相互作用による生体成分への影響

ICR マウスを購入し、コントロール群、EGCG 群、鉄イオン群、銅イオン群、EGCG と鉄イオン併用群、EGCG と銅イオン併用群の計 6 群に設定した。EGCG および金属イオンは、混餌投与による自由摂取により 1 週間実施した。その後、得られた生体試料は、GC/MS/MS によるメタボロミクス解析に供した。

4. 研究成果

(1) ポリフェノール類と金属イオンの相互作用による ROS の生成

ROS は、抗酸化物質と金属イオンの反応によって、生じることが知られている¹⁾。ポリフェノール類と金属イオンの相互作用によって生じる ROS を ESR で評価したところ、EGC や CaA などが銅イオンと反応することで、多くの ROS が産生されることが明らかになった (図 1)。また、それぞれの反応溶液を LC/PDA で分析したところ、金属イオンの組合せによってポリフェノール類の濃度に変化が認められた。特に、カフェイン酸 (CaA) およびシナピン酸 (SA) は、FaSSIF 中において銅イオンと反応し、新たな化合物が生成されることを LC/PDA で確認した (図 2, 3)。

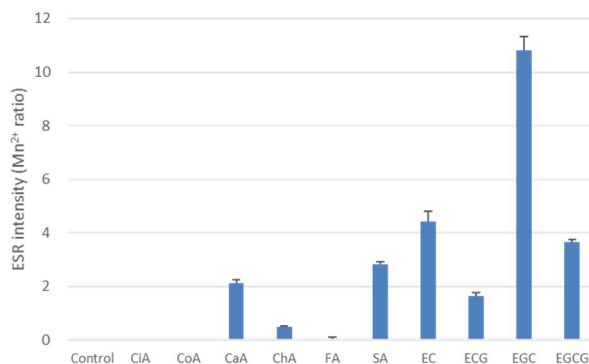


図 1. ポリフェノールと銅イオンの反応による ROS の生成

そこで、新たに生成された化合物を同定するために、各成分の分画を回収し、NMR で解析し

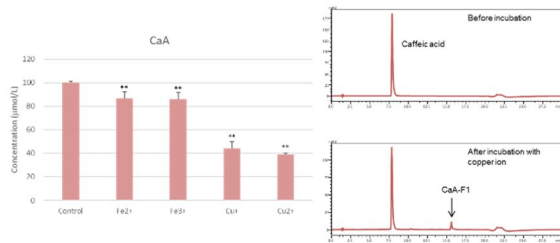


図 2. カフェイン酸と金属イオンの反応

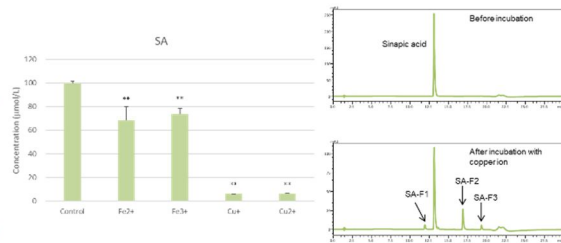


図 3. シナピン酸と金属イオンの反応

たところ、図 4 に示す化合物であることを確認した。金属イオンとの反応によって新たに生じた新たな化合物は、元のポリフェノールが 2 分子縮合した化合物であった。また、新たに生じた化合物は、EDTA などのキレート剤によって阻害できたことから、金属イオンが生成の起点となっている可能性が考えられた。

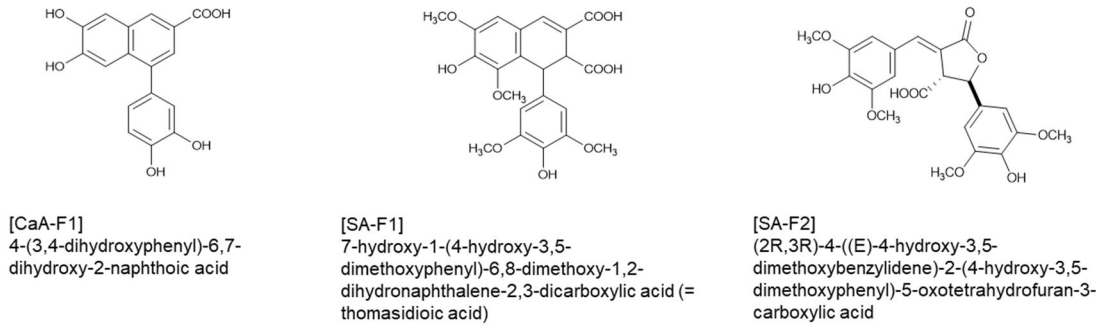


図 4. 新たに生成された化合物の構造式

生成した新たな化合物の特性を評価するために、抗酸化作用とプロオキシダント作用の両方を評価したところ、新たに生成された化合物は抗酸化作用が増強し、プロオキシダント作用が减弱していることが明らかとなった（図 5）。これらの結果から、一部のポリフェノールは銅イオンと生理的条件下で反応し ROS が産生され、さらに特定の化合物は、ROS の作用によって別の化合物が生成されることが明らかとなった。一部のポリフェノールは、亜硝酸ナトリウムなど食品添加物によっても、別の化合物が生成されることが報告 2)されている。本研究においては、相互作用によって生じた ROS が、新たな化合物の生成に寄与していることを明らかにした。しかし、生じた化合物の抗酸化作用とプロオキシダント作用に限定した解析の実施に留まったため、今後はさまざまな視点からの評価が必要となると考えられる。

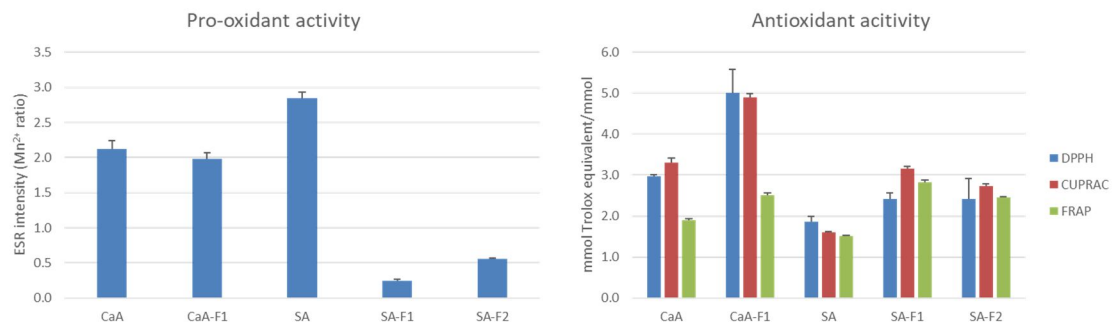


図 5. プロオキシダント作用と抗酸化作用の比較

(2) EGCG と金属イオンの相互作用による生体成分への影響

前述した結果から、ポリフェノール類は金属イオンと生理的条件下で反応し、ROS が生成されることが示された。そこで、ROS の産生が認められ、茶飲料に多く含まれる EGCG に注目し、金属イオンの相互作用によって生じる生体成分の変化を検討した。実験動物に各成分を自由に 1 週間摂取させ、得られた生体試料（血漿）に含まれる生理活性物質を GC/MS/MS で解析した。その結果、アミノ酸や TCA 回路に関与する一部の成分について、増加または低下する傾向が認められたものの、各成分を投与した群間において有意な差は認められなかった（図 6）。並行して相互作用によって脳内神経伝達物質に与える影響を評価するために、分析法を開発した。

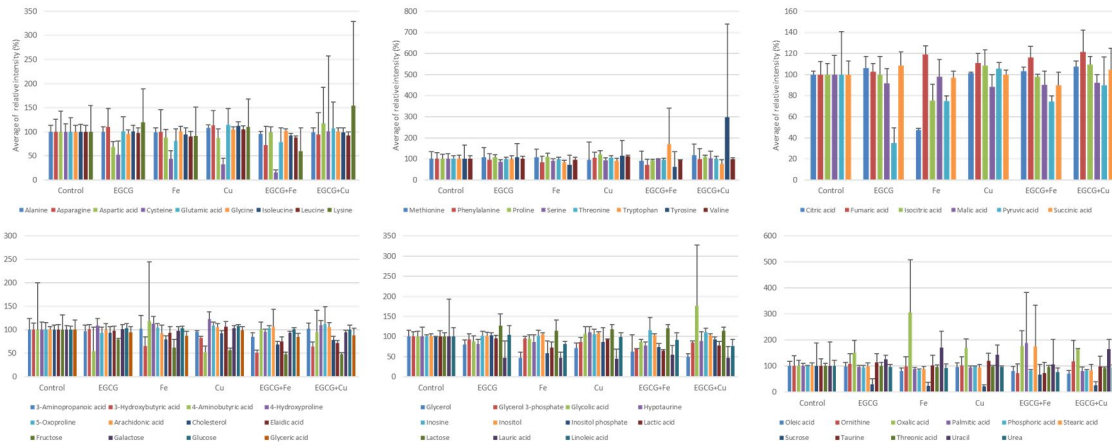


図 6. 各成分を投与した実験動物から得られた血漿のメタボロミクス解析

本研究で解析した血漿中の低分子化合物においては、有意な差は認められなかったが、長期投与による影響や、タンパク質や遺伝子レベルでどのような変化が起きているのかを明らかにすることは重要であると考えられる。

<引用文献>

- 1) Iwasaki Y., Hirasawa T., Maruyama Y., Ishii Y., Ito R., Saito K., Umemura T., Nishikawa A., Nakazawa H., *Toxicol. In Vitro*, 25(7), 2011, 1320-1327.
- 2) Iwasaki Y., Nomoto M., Oda M., Mochizuki K., Nakano Y., Ishii Y., Ito R., Saito K., Umemura T., Nishikawa A., Nakazawa H., *Arch. Biochem. Biophys.*, 513(1), 2011, 10-18.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iwasaki Yusuke, Okumura Mami, Matsumoto Hitomi, Ando Chinatsu, Kamei Junzo	4. 巻 70
2. 論文標題 Generation of Reactive Oxygen and Nitrogen Species by Interaction of Food Ingredients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BUNSEKI KAGAKU	6. 最初と最後の頁 573 ~ 581
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.70.573	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwasaki Yusuke, Matsumoto Hitomi, Okumura Mami, Inoue Hikaru, Kaji Yumiko, Ando Chinatsu, Kamei Junzo	4. 巻 217
2. 論文標題 Determination of neurotransmitters in mouse brain using miniaturized and tableted QuEChERS for the sample preparation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 114809 ~ 114809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2022.114809	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 眞鍋理恵、木本美佳、岩崎雄介、亀井淳三
2. 発表標題 ケイ皮酸類線化合物と金属イオンの相互作用による新規化合物の生成
3. 学会等名 第63回 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 眞鍋理恵、阿部遥那、松本有紀、岩崎雄介、亀井淳三
2. 発表標題 抗酸化物質と金属イオンの相互作用によって生成された化合物の特性
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------