

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：34605

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11638

研究課題名（和文）干し柿由来タンニンの腸内細菌による健康増進効果発現機構の解明

研究課題名（英文）Expression mechanism of health promotion effect between tannin derived from dried persimmon and intestinal bacteria.

研究代表者

栢野 新市（Kayano, Shin-ichi）

畿央大学・健康科学部・教授

研究者番号：40412150

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：Bacteroidetes門に属する菌株の1種が、干し柿抽出残渣中のタンニンを分解し、低分子の抗酸化性物質を生成させる可能性を見いだした。また、抽出残渣を投与した1型糖尿病ラットにおいて、肝臓ORACの有意な上昇、肝臓の抗酸化酵素であるSODの活性、カタラーゼの活性、グルタチオンペルオキシダーゼ活性の正常化、酸化による長指伸筋細胞の収縮に対する抑制効果が認められた。これらの結果より、抽出残渣に含まれるタンニンは腸内細菌によって低分子化するとともに、1型糖尿病の病態を改善する機能を有することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究において、植物性食品の機能性成分は主として可溶性画分に焦点が当てられてきた。本研究では干し柿の不溶性画分に含まれるタンニンに着目し、機能性の発現に腸内細菌が関与する可能性を見いだすとともに、1型糖尿病の病態を改善する効果を示す有益なデータを得た。これまでタンニンは防水剤、防腐剤、清酒製造の清澄剤などに利用されているが、食品成分として健康増進効果を評価した研究は極めて少ない。本研究の成果より、タンニンの機能性により注目が集まり研究が広がることによって、国民の健康増進に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, it was speculated that a species bacteria belonging to the phylum Bacteroidetes degrades tannins in the non-extractable fraction of dried persimmons (NEP) to produce low-molecular-weight antioxidants. Furthermore, administration of NEP to type I diabetic rats showed a significant increase in hepatic oxygen radical absorptive capacity (ORAC) and improvement of hepatic antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. A significant suppression of cross-sectional area reduction of extensor digitorum longus (EDL) muscle fibers was also observed. These results presume that the tannins contained in NEP ameliorate type I diabetic status.

研究分野：食品生化学

キーワード：干し柿 タンニン 抗酸化性 腸内細菌 1型糖尿病

1. 研究開始当初の背景

- (1) 干し柿は、高い抗酸化性と強い渋みを有するタンニンを多量に含む渋柿を原料としている。渋柿を干柿に加工する際にタンニンは不溶化し、渋みを呈さなくなる。このことより、干し柿の抽出液ではなく、不溶性の抽出残渣にタンニンが多量に残存すると考えられる。
- (2) ラットに干し柿の抽出残渣を含有する試験食を投与し、ORAC 値 (抗酸化性の指標) に与える影響を検討した。その結果、投与一週間後において血漿 ORAC 値は普通食を投与したラットの約 1.5 倍となる顕著な上昇を示した。すなわち干し柿の抽出残渣は生体の抗酸化性を上昇させる効果を有することが明らかとなった (引用文献)。
- (3) 抽出残渣は不溶性であり、生体に投与してもそのままでは吸収されないと考えられる。そこで人工消化モデル実験において抽出残渣の処理を行い、各段階における抗酸化性について評価を行った。その結果、口腔～胃～小腸モデルでは変化は認められなかったが、大腸モデル後において抽出残渣の ORAC 値の顕著な上昇が認められた。この結果より、抽出残渣に含まれるタンニンは大腸での腸内細菌の働きによって分解し、生成した低分子の抗酸化物質が吸収され生体に対して抗酸化性を発現する可能性が示唆された (引用文献)。

2. 研究の目的

- (1) 干し柿の抽出残渣に含まれるタンニンの分解に関与する腸内細菌を探索する。
- (2) 腸内細菌の働きによって生成するタンニン分解物の化学構造を明らかにする。
- (3) 干し柿の抽出残渣が 型糖尿病ラットの病態を改善する効果を検証する。

3. 研究の方法

- (1) 予備検討より、抽出残渣を投与したマウスの腸内細菌叢において *Bacteroidetes* 門の割合が増加するとの結果を得ている (未発表データ)。本研究では入手可能な *Bacteroidetes* 門の 12 種類の菌株を用い、それぞれを抽出残渣とともに培養し、培地の ORAC 値を指標としてタンニンを分解し抗酸化性を上昇させる菌株を特定する。また HPLC (分析機器の一種) によって培地中のタンニン分解物の存在を確認する。
- (2) 上記の検討において見いだされた菌株を用い、スケールアップした培養実験によって抽出残渣を含む大量の培地を培養する。培養液を種々の手法によって精製し、菌株の働きによって生成するタンニンの分解物を単離する。単離した化合物については、NMR 等の種々の分析手法によって化学構造を明らかにする (数種類の分解物の存在が予想される)。
- (3) 抽出残渣を 型糖尿病ラットに投与し、血漿や肝臓の抗酸化性に与える影響を検証する。また酸化によって状態が悪化する筋肉に対する影響についても評価し、抽出残渣の投与が型糖尿病の病態を改善する効果を明らかにする。

4. 研究成果

- (1) 干し柿の抽出残渣を加えた培地を用いて 12 種類の菌株をそれぞれ培養した。その結果、1 種類の菌株において培地の ORAC 値の上昇が確認され、タンニンの分解が示唆された。現在、再現性を検討するとともに、HPLC によるタンニン分解物の分析を行っている。
- (2) 上記の検討で見いだされた菌株を用い、抽出残渣を添加した培地による大量培養実験の実施を準備中である。
- (3) 薬品投与によって発症させた 型糖尿病マウスに抽出残渣を含む試験食を投与し、その影響について検討した。結果は以下の通りである (引用文献)。糖尿病の発症により血漿 ORAC 値は低下したが、抽出残渣の投与による回復は認められな

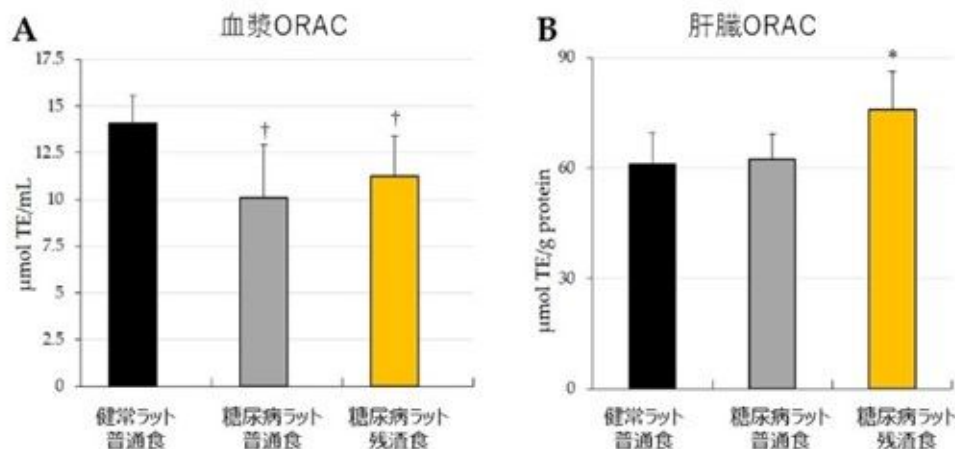


図1 ラット血漿およびORAC値の比較

かった(図 1A)。一方、糖尿病の発症による肝臓 ORAC 値の低下は認められなかったが、抽出残渣の投与により優位な上昇が認められた(図 1B)。

抽出残渣の投与により、糖尿病ラットにおいて肝臓の SOD 活性(活性酸素の一種であるスーパーオキシドを消去する酵素の活性)が顕著に増加した(図 2A)。また糖尿病の発症によって低下するカタラーゼ活性(活性酸素の一種である過酸化水素を消去する酵素の活性)を回復させる傾向を示した(図 2B)。さらに発症によって上昇するグルタチオンペルオキシダーゼ活性(過酸化水素を消去する酵素の活性)を健常ラットと同程度まで低下させることより(図 3C)、抽出残渣はこの酵素に置き換わって過酸化水素を消去している可能性が示唆された。

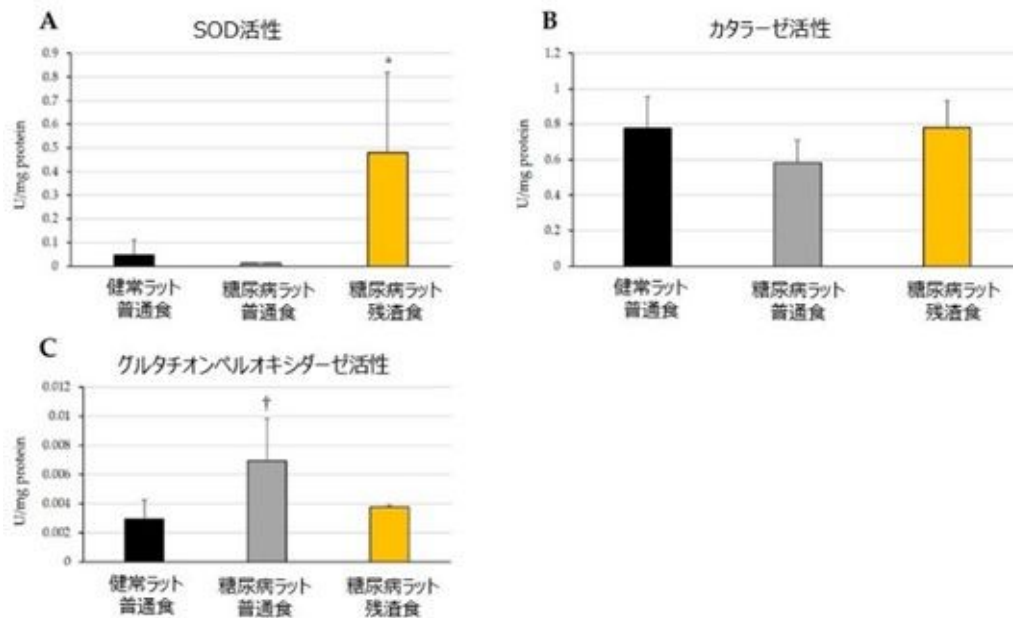


図2 ラット肝臓の酵素活性の比較

糖尿病の発症に伴う酸化的損傷によってラットの長指伸筋(下肢の筋肉の一種)の細胞は収縮するが、抽出残渣の投与によって健常ラットと同程度まで収縮を抑制する効果が認められた(図 3)。

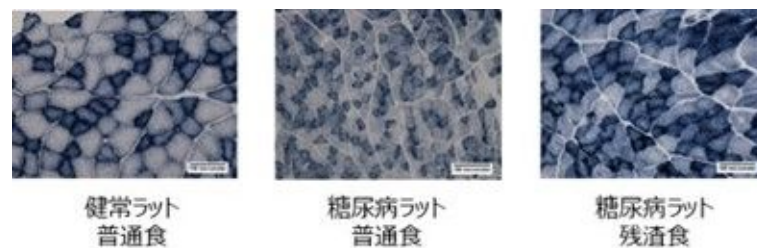


図3 ラット大腿筋の状態の比較

以上の結果より、抽出残渣の投与は糖尿病ラットにおいて肝臓の抗酸化機能を改善するとともに、筋肉の酸化的損傷を予防する効果が認められた。すなわち抽出残渣に含まれるタンニンは、糖尿病の病態を改善する機能を有することが示唆された。

<引用文献>

Matsumura Y. et al., Antioxidant potential in non-extractable fraction of dried persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.), *Food Chem.*, **202**, 99 - 103, (2016).

Mochida N. et al., Antioxidant potential of non-extractable fractions of dried persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) in streptozotocin-induced diabetic rats, *Antioxidants*, **11**, 1555 (2022).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mochida Naoko, Matsumura Yoko, Kitabatake Masahiro, Ito Toshihiro, Kayano Shin-ichi, Kikuzaki Hiroe	4. 巻 11
2. 論文標題 Antioxidant Potential of Non-Extractable Fractions of Dried Persimmon (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 1555 ~ 1555
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antiox11081555	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 餅田尚子、松村羊子、栢野新市、菊崎泰枝
2. 発表標題 ストレプトゾトシン投与ラットの酸化ストレスに対する干柿抽出残渣の影響
3. 学会等名 第69回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2022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
研究分担者	菊崎 泰枝 (Kikuzaki Hiroe) (60291598)	奈良女子大学・生活環境科学系・教授 (14602)	
研究分担者	松村 羊子 (Matsumura Yoko) (80412154)	畿央大学・健康科学部・教授 (34605)	

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
---------	---------