

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：15301
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：21K11676
研究課題名（和文）生体利用性を考慮した植物性食品成分の機能性評価

研究課題名（英文）Functional evaluation of plant food components

研究代表者

中村 俊之（Nakamura, Toshiyuki）

岡山大学・環境生命自然科学学域・准教授

研究者番号：90706988

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、栄養成分との複数同時摂取がケルセチンの代謝変換に及ぼす影響を検討するとともに、ケルセチンの代謝変換物の機能性を評価した。栄養成分としてビタミンEとセルロースを用いた。その結果、血漿中のケルセチン抱合代謝物は、ケルセチン単独投与時に比べて、ビタミンEやセルロースとの同時投与により増減したものの、それらの代謝物パターンに大きな変化は見られなかった。次に、ケルセチン抱合代謝物の抗酸化能を評価した。その結果、一部のケルセチン抱合代謝物は抗酸化酵素遺伝子を誘導した。以上の結果から、ケルセチンは摂取後すみやかに抱合代謝されるが、その抱合代謝物が生体内で抗酸化作用を発揮してい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

機能性食品による有効性発現は、生体内に存在する代謝物が発揮していることが示唆されるが、代謝物の有効性に関する知見は非常に限られている。また、フラボノイド類の生体利用性にはいわゆる食べ合わせが重要なファクターであると考えられるが、複数同時摂取でのフラボノイド類の生体利用性の変化に関する報告も僅かである。本研究では、複数同時摂取時のケルセチンの生体利用性の変化を示しただけでなく、生体内での実質的な有効性を明らかにした。本研究成果は、食品成分の生体内での挙動の理解に繋がるとともに、副作用を伴わない安心安全な食による健康増進への寄与が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the effects of multiple simultaneous ingestions of food components on the metabolic conversion of quercetin, and evaluated the functionality of the metabolic converted products of quercetin. Vitamin E and cellulose were used as food components. As a result, quercetin conjugate metabolism in plasma was increased or decreased by simultaneous administration with vitamin E or cellulose compared to quercetin alone, but there was no significant change in their metabolite patterns. Next, the antioxidant capacity of quercetin conjugate metabolites was evaluated. The results showed that some quercetin-conjugated metabolites induced antioxidant enzyme genes. These results suggested that quercetin is rapidly conjugated and metabolized after ingestion, and that the conjugated metabolites exert antioxidant effects in vivo.

研究分野：食品機能学

キーワード：フラボノイド ケルセチン 生体利用性 ビタミンE 代謝

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

フラボノイドは、野菜や果物に含まれる化合物群であり、生体に有益な効果が期待される「機能性成分」であり、疾病を予防・改善する食品機能（食品の三次機能）が提唱されてから、数多くの臨床試験や動物実験によりそれらの生活習慣病予防・改善効果が示されている。

このようなフラボノイド類の機能性には生体利用率、すなわち、消化管からの吸収・代謝のプロセスが大きく影響すると考えられる。例えば、リンゴやタマネギに含まれる機能性食品成分：ケルセチンは、食品中では配糖体として存在しており、摂取したケルセチン配糖体は、小腸において小腸上皮細胞に局在する SGLT-1（ナトリウム依存性グルコーストランスポーター）を介して CBG（サイトソリック β -グルコシダーゼ）により、あるいは LPH（ラクターゼ・フロリジンヒドロラーゼ）により加水分解され非抱合体（アグリコン）に変換される。その後、小腸に発現する解毒酵素群（UGT や SULT）により抱合され門脈を介して肝臓に運ばれる（Day et al., Free Radic Res. 2001）。一方、小腸で吸収されなかったケルセチン配糖体は、大腸に到達し腸内細菌叢により分解され、吸収またはそのまま排泄されると考えられる（Mullen et al., J. Agric. Food Chem., 2008）。ケルセチン同様、多くのフラボノイド類は生体内で「代謝物」として存在しており、アグリコンは検出されない。これを考慮すると、機能性食品による有効性発現は、配糖体やアグリコンではなく生体内に存在する「抱合/分解代謝物」が発揮していることが示唆される。しかしながら、代謝物による機能性に関する知見は非常に限られており、ほとんどの代謝物の機能性は明らかではない。

上述したようにフラボノイド類の生体利用率はこれまでに数多く報告されており、吸収機構が示されている。しかしながら、その報告の多くは培養細胞や実験動物試験では、食品成分単独（化合物単独）投与、ヒト臨床試験では食品単独またはサプリメント摂取である。我々の日常生活では複数の食品を同時に摂取するため、これまでに示されているフラボノイド類の吸収・代謝がなされるかわからない。実際に、我々は以前に食品の単独摂取と複数同時摂取ではフラボノイド類の吸収量や代謝物比が異なることをヒト臨床試験において見出している（Nakamura et al., Mol. Nutr. Food Res. 2014）。このように、フラボノイド類の生体利用率にはいわゆる食べ合わせが重要なファクターであると考えられるが、複数同時摂取でのフラボノイド類の生体利用率の変化に関する検討は行われていない。

2. 研究の目的

本研究では、食事中フラボノイド類の「生体利用率」と「代謝物の機能性」を解明することを目指し、食品栄養成分との同時摂取がフラボノイド類の吸収量と代謝変換に及ぼす影響と、生体内に存在する代謝変換物の機能性とその発現機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 食品栄養成分との同時投与がケルセチンの吸収量や代謝変換に及ぼす影響

フラボノイドとして野菜や果物に遍在するケルセチンを用いた。ICR マウス胃内にケルセチンを単独投与後に採血を行い、血漿中の総ケルセチン量およびケルセチン抱合代謝物を LC-MS/MS (Xevo TQD, Waters) により分析を行なった。次に、栄養成分として、植物中に豊富に存在するビタミン E ならびにセルロースに着目し、これらの同時投与がケルセチンの吸収・代謝に及ぼす影響を検討した。ケルセチン単独投与時と同様、マウス胃内にケルセチンとビタミン E またはセルロースの混合物を胃内経口投与し、血漿中の総ケルセチン量およびケルセチン抱合代謝物を LC-MS/MS による分析を行なった。

(2) 生体内に存在するケルセチン抱合代謝物の抗酸化活性評価

ケルセチンは小腸から吸収される際に第二相薬物代謝酵素群により抱合代謝を受ける。そこで、ケルセチン抱合代謝物の抗酸化効果を *in vitro* 評価法である DPPH ラジカル消去活性法ならびに Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) 法を用いて評価した。DPPH ラジカル消去活性法では、8 種類のケルセチン抱合代謝物と DPPH ラジカルをよく混ぜ、30 分遮光条件下で静置後、520 nm の吸光度を測定した。ORAC 法では、8 種類のケルセチン抱合代謝物と fluorescein を混ぜ、蛍光強度 (Em/Ex=485/525 nm) を測定後、2,2-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride (AAPH) を加え、2 分間隔で 120 分間の蛍光強度 (Em/Ex=485/525 nm) を測定した。得られたグラフから曲線下面積 (AUC) を算出した。

(3) ケルセチン抱合代謝物の抗酸化酵素誘導能の評価

Hepalcl7 マウス肝がん細胞株を用い、ケルセチン抱合代謝物による薬物代謝酵素の発現誘導能を評価した。薬物代謝酵素として、強い抗酸化作用を有する Heme Oxygenase-1 (HO-1) の発現を確認した。8 種類のケルセチン抱合代謝物をそれぞれ Hepalcl7 細胞に処理し、TRizol で細胞を回収後、RT-PCR を行なった。HO-1 と β -アクチンのプライマーは以下のものを使用した (mHO-1, (F) 5' -ACATCGACAGCCCCACCAAGTCAA-3' and (R) 5' -CTGACGAAGTGACCCATCTGTGAG-3' ; β -actin, (F) 5' -GTACCCACACTGTGCCCATCTA-3' and (R) 5' -GCAATGCCAGGGTACATGGTGGT-3')。

4. 研究成果

(1) 食品栄養成分との同時投与がケルセチンの吸収量や代謝変換に及ぼす影響

ケルセチン投与後のマウス血漿中の総ケルセチン濃度を LC-MS/MS で測定したところ、これまでの報告どおり、投与後 0.5 時間で最大濃度に達し、その後速やかに減少した (図 1A)。ビタミン E またはセルロースとの同時投与においても同様に、投与後 0.5 時間で最大濃度に達し、その後速やかにケルセチンの血漿中濃度は減少した (図 1A)。一方、メチル化ケルセチンは投与後緩やかに上昇し、投与 6 時間後まで減少しなかった (図 1B)。ビタミン E との同時投与において、血漿中の総ケルセチン濃度は、ケルセチン単独投与時に比べて有意に増加した一方で、セルロースとの同時投与では有意に減少した。ケルセチン抱合代謝物においては、いずれの投与においても、グルクロン酸抱合体および硫酸抱合体の計 8 種類の抱合代謝物が検出され、ケルセチン-7-グルクロン酸およびケルセチン-3'-硫酸抱合体が主であった (図 1C)。抱合代謝物量は総ケルセチン量に比例しており、また、それらの存在パターンは、いずれの投与群においても、大きな変化は見られなかった。

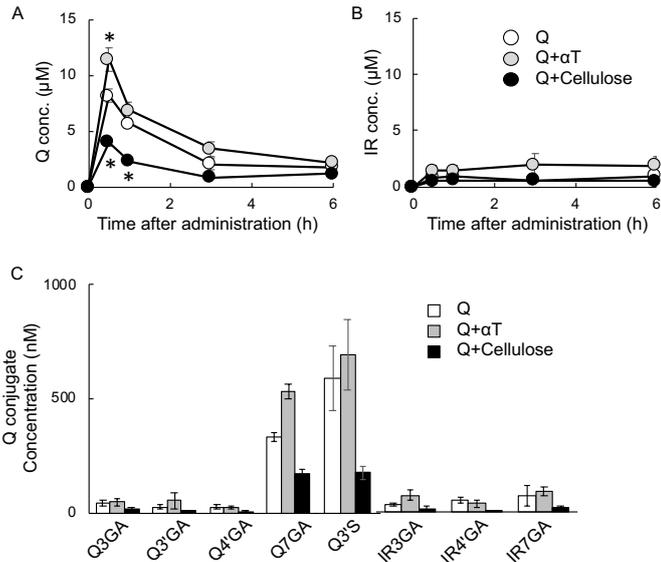


図 1: 食品栄養成分との同時投与がケルセチンの吸収量や代謝変換に及ぼす影響

(2) 生体内に存在するケルセチン抱合代謝物の抗酸化活性評価

8 種類のケルセチン抱合代謝物の DPPH ラジカル消去活性を評価したところ、ケルセチン-4'-グルクロン酸を除き、ケルセチングルクロン酸抱合体はケルセチンアグリコンに匹敵する抗酸化能を示した (図 2A)。しかしながら、ケルセチン硫酸抱合体およびメチル化ケルセチンのグルクロン酸抱合体は非常に弱いラジカル消去活性しか示さなかった。一方、ORAC 法では、ケルセチングルクロン酸抱合体がケルセチンアグリコンに匹敵する抗酸化能を示しただけでなく、メチル化ケルセチンのグルクロン酸抱合体も強い抗酸化活性を示した (図 2B)。ケルセチン硫酸抱合体は、ORAC 法での評価においても、強い抗酸化活性は示さなかった。

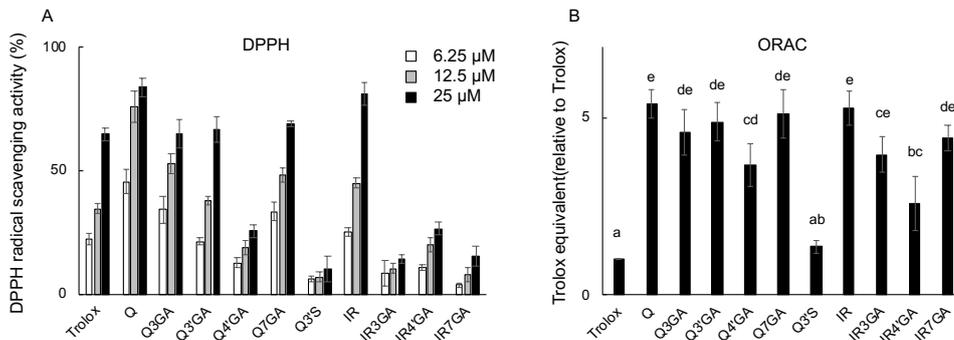


図 2: 生体内代謝物の抗酸化活性評価

(3) ケルセチン抱合代謝物の抗酸化酵素誘導能の評価

8 種類のケルセチン抱合代謝物が抗酸化酵素 HO-1 の遺伝子発現に及ぼす影響を評価したところ、いくつかの抱合代謝物は、アグリコンと比較すると弱いものの、HO-1 の遺伝子発現を有意に上昇させた (図 3)。ケルセチン抱合代謝物による HO-1 遺伝子発現誘導能は、ORAC 法で評価した抗酸化活性と同様の傾向を示した。

以上の結果から、ケルセチンは摂取後すみやかに抱合代謝されるが、その抱合代謝物が抗酸化酵素遺伝子を誘導することで生体内で抗酸化作用を発揮していることが示唆された。

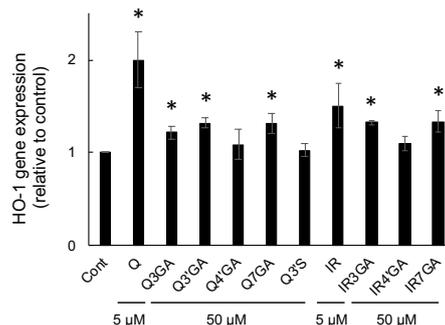


図 3: ケルセチン抱合代謝物の抗酸化酵素誘導能の評価

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tsunenaga Makoto, Xu Wensi, Myojin Takumi, Nakamura Toshiyuki, Kon Tatsuya, Nakamura Yoshimasa, Ueda Osamu	4. 巻 17
2. 論文標題 Modulating effects of oral administration of Lycii Fructus extracts on UVB-induced skin erythema: A Randomized, placebo-controlled study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedical Reports	6. 最初と最後の頁 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/br.2022.1545	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 該当する
1. 著者名 Nakamura Toshiyuki, Tsutsui Chiharu, Okuda Yu, Abe Kanoh Naomi, Okazawa Saori, Munemasa Shintaro, Murata Yoshiyuki, Kato Yoji, Nakamura Yoshimasa	4. 巻 36
2. 論文標題 Benzyl isothiocyanate and its metabolites inhibit cell proliferation through protein modification in mouse preosteoclast RAW264.7 cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biochemical and Molecular Toxicology	6. 最初と最後の頁 e23184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbt.23184	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 Li Kexin, Wu Hongyan, Kidawara Minori, Lin Yun, Satoh Ayano, Zhang Gongliang, Munemasa Shintaro, Murata Yoshiyuki, Nakamura Toshiyuki, Nakamura Yoshimasa	4. 巻 56
2. 論文標題 The microbiota catabolites of quercetin glycosides concertedly enhance the resistance against acetaldehyde-induced oxidative stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Free Radical Research	6. 最初と最後の頁 607 ~ 616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10715762.2022.2159820	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 該当する
1. 著者名 Wu Hongyan, Nakamura Toshiyuki, Guo Yingnan, Matsumoto Riho, Munemasa Shintaro, Murata Yoshiyuki, Nakamura Yoshimasa	4. 巻 24
2. 論文標題 Cycloartenyl Ferulate Is the Predominant Compound in Brown Rice Conferring Cytoprotective Potential against Oxidative Stress-Induced Cytotoxicity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 822 ~ 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24010822	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 該当する

1. 著者名 Liu Yujia, Myojin Takumi, Li Kexin, Kurita Ayuki, Seto Masayuki, Motoyama Ayano, Liu Xiaoyang, Satoh Ayano, Munemasa Shintaro, Murata Yoshiyuki, Nakamura Toshiyuki, Nakamura Yoshimasa	4. 巻 23
2. 論文標題 A Major Intestinal Catabolite of Quercetin Glycosides, 3-Hydroxyphenylacetic Acid, Protects the Hepatocytes from the Acetaldehyde-Induced Cytotoxicity through the Enhancement of the Total Aldehyde Dehydrogenase Activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1762 ~ 1762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23031762	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 該当する

1. 著者名 Wu Hongyan, Nakamura Toshiyuki, Guo Yingnan, Hirooka Miho, Zhang Gongliang, Munemasa Shintaro, Murata Yoshiyuki, Fujita Akiko, Nakamura Yoshimasa	4. 巻 85
2. 論文標題 White rice ethanol extract is qualitatively, but not quantitatively, equivalent to that of brown rice as an antioxidant source	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2161 ~ 2168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbab133	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 該当する

1. 著者名 Nakamura Toshiyuki	4. 巻 23
2. 論文標題 The stability and reactivity of isothiocyanates and the plausible behavior of their dithiocarbamate- and thiourea-conjugates	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biological Macromolecules	6. 最初と最後の頁 13 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14533/jbm.23.13	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 Mitsuzane Rikito, Okubo Reiko, Nishikawa Miyu, Ikushiro Shinichi, Munemasa Shintaro, Murata Yoshiyuki, Nakamura Yoshimasa, Nakamura Toshiyuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Enhancing effect of the coexisting alpha-tocopherol on quercetin absorption and metabolism	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Free Radical Research	6. 最初と最後の頁 88 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10715762.2024.2317206	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11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 郭穎楠, Wu Hongyan, 藤田明子, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
2. 発表標題 米の抗酸化活性に寄与する成分の評価
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第61回講演会(例会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀬戸将之, 中村俊之, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督
2. 発表標題 ベンジルイソチオシアネートの細胞増殖抑制作用におけるグルタチオン S-トランスフェラーゼの役割
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第61回講演会(例会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本莉歩, Wu Hongyan, 郭穎楠, 藤田明子 ¹ , 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村俊之, 中村宜督
2. 発表標題 玄米抽出物の細胞保護作用へのフェルラ酸の寄与
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第61回講演会(例会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大久保礼子, 光實利貴人, 生城真一, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之
2. 発表標題 ケルセチングルクロン酸抱合体は位置異性体によって抗酸化活性が異なる
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第64回講演会(例会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢野愛奈、宗正晋太郎、村田芳行、中村俊之、中村宜督
2. 発表標題 グルタチオン S-トランスフェラーゼ阻害剤がイソチオシアネートの抗がん作用に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第64回講演会(例会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石倉亜季、中村俊之、佐藤あやの、宗政晋太郎、村田芳行、中村宜督
2. 発表標題 クロロゲン酸とカフェ酸のアセトアルデヒドに対する細胞保護効果
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第64回講演会(例会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 青山翔祐、宗正晋太郎、村田芳行、中村宜督、中村俊之
2. 発表標題 -tocopherol代謝物はheme oxygenase-1の発現を誘導する
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第64回講演会(例会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永富稜汰、宗正晋太郎、村田芳行、中村俊之、中村宜督
2. 発表標題 アルデヒドの定量を基盤としたアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性評価法の確立
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第67回講演会(例会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 西尾友花, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之
2. 発表標題 - トコフェロール代謝物による生体内抗酸化作用の増強効果
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第67回講演会(例会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 森田凌世, 宗正晋太郎, 村田芳行, 中村宜督, 中村俊之
2. 発表標題 フラボノイド類の培地中での安定性評価
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第67回講演会(例会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 中村宜督, 本山綾乃, Liu Tiansihan, 石倉亜希, Li Kexin, 村田芳行, 宗正晋太郎, 中村俊之
2. 発表標題 フェノールカルボン酸の細胞保護作用における構造と活性の相関
3. 学会等名 日本農芸化学会中四国支部 第67回講演会(例会)
4. 発表年 2024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			
中国	Dalian Polytechnic University			