

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 26 日現在

機関番号：37103

研究種目：基盤研究 C

研究期間：平成 22 年度～平成 24 年度

課題番号：22500790

研究課題名（和文） 食事による胃腔の一酸化窒素生成と唾液分泌の促進

研究課題名（英文） Promotion of nitric oxide generation of the stomach, and salivary secretion by a meal.

研究代表者

廣田幸子（HIROTA SACHIOK）

九州女子大学 家政学部 栄養学科・准教授

研究者番号：00312140

研究成果の概要（和文）：この研究は胃の機能向上に胃腔で生成した一酸化窒素が関与している事を明らかにすることを目的としている。食品に含まれるポリフェノール類は、唾液中に含まれる亜硝酸塩と胃腔で反応することによって一酸化窒素生成を促進した。この反応は、唾液中に含まれる有害な亜硝酸塩をポリフェノール類が胃腔内で一酸化窒素へ還元できることを示唆している。また、水溶性のカロテノイドであるクロッシンも胃腔で亜硝酸を一酸化窒素に還元できることが示唆されたが、その還元は澱粉で抑制されることも分かった。

他方、ポリフェノールは、澱粉と複合体を形成していた。この複合体形成は、ポリフェノールが澱粉のらせん構造によるものであると予想し、また、この複合体形成によって、 $\alpha$ -アミラーゼによる澱粉消化は、抑制されることが分かった。クロッシンは、澱粉消化を促進したが、その促進は澱粉の消化を大きく促進する 100 mM 塩化ナトリウム存在下では見られなかった。

研究成果の概要（英文）：This research aims to show that nitric oxide generated in the stomach can participate in improvement of the function of the stomach. Polyphenols contained in food were suggested to be able to promote nitric oxide generation by reducing salivary nitrite in the stomach. This redox reaction also suggested that polyphenols could be able to remove harmful salivary nitrite in the stomach. Moreover, it was suggested that crocin, which is a water-soluble carotenoid, could also reduce nitrous acid to nitric oxide in the stomach, and the reduction by crocin was suppressed significantly by starch.

On the other hand, polyphenol formed complexes with starch by binding to the helical structure, and the binding resulted in the suppression of  $\alpha$ -amylase-catalyzed digestion of starch. Crocin/starch complexes can be transferred into the intestine because of slow oxidation of crocin bound to starch in the stomach. Crocin enhanced  $\alpha$ -amylase-catalyzed digestion of starch in the absence of sodium nitrite, but did not affect the starch digestion in the presence of 100 mM sodium chloride.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 22 年度	2,600,000	780,000	3,380,000

平成 23 年度	500,000	150,000	650,000
平成 24 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総 計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：ポリフェノール、一酸化窒素、クロッシン、澱粉消化

## 1. 研究開始当初の背景

### 1-1. 唾液亜硝酸塩による胃腔の一酸化窒素の生成

食品に含まれる硝酸塩は体内に吸収された後、その一部は唾液成分として口腔に分泌される。分泌された硝酸塩は、口腔内細菌によって亜硝酸塩に還元され、その亜硝酸塩は唾液とともに飲み込まれ、胃腔で胃酸と混ざると不安定な亜硝酸に変化する。この亜硝酸は、第2級アミン化合物と反応して発がん性のN-ニトロソ化合物を生成する有害な物質であると考えられていた。しかし現在では、亜硝酸は胃腔で生理的に有用な一酸化窒素へ変化できることが知られている。胃腔での一酸化窒素の機能として、胃粘膜の血液循環の増大、胃粘膜の肥厚、胃運動性の亢進などがある。そのため、硝酸塩/亜硝酸塩摂取の有用性が指摘されてきている。また、胃腔で生成した一酸化窒素は、抗炎症剤による胃潰瘍を予防できることも報告されている。

### 1-2. ヒト唾液での一酸化窒素の生成とポリフェノールの影響

野菜の機能性成分であるポリフェノール類は、抗酸化作用を持っている。我々は、一部のポリフェノールが、試験管内で亜硝酸を一酸化窒素へ還元できることを示してきた。ポリフェノールが亜硝酸依存の一酸化窒素生成に有効であることは他の研究者からも報告されている。生成した一酸化窒素は、酸素分子と反応して有害な二酸化窒素や三酸化二窒素に変化するが、一部のポリフェノール

ルは、これらの有害な窒素酸化物の生成を抑制できることを報告した。さらには、ジフェノール類は亜硝酸によって有害なキノン体に酸化されるが、この有害なキノン体は、唾液成分の一つであるチオシアン酸と反応してオキサチオロン誘導体への変化によって取り除かれることも報告してきた。このように胃腔での亜硝酸/チオシアン酸/ポリフェノール系の重要性が認識されつつある。

## 2. 研究の目的

### 2-1. ソバ粉生地の摂取による胃腔での一酸化窒素の生成

食欲不振などによる胃の機能低下は、低栄養につながる。この研究では、胃の機能向上に胃腔で生成した一酸化窒素が関与していることを明らかにすることである。口腔と胃腔は、唾液を介して密接な関係にある。この関係は、唾液に含まれている亜硝酸塩の胃腔での一酸化窒素への変化を通して保たれている。胃腔内で生成される一酸化窒素は、唾液中の亜硝酸塩とポリフェノール類が胃腔で反応することによって高められる。そこで、ポリフェノール類を豊富に含むソバ粉の生地を摂取した場合、胃腔での一酸化窒素生成が高まるかどうかを調べた。また、ポリフェノール類は、アミラーゼ活性を阻害することが知られている。次に、ソバ粉に含まれているポリフェノール類が、ソバ粉澱粉の消化に影響を与えるかどうかを調べた。

### 2-2. クチナシ黄によるアミラーゼの澱粉の消化に対する影響

クチナシ果実から抽出した水溶性の色素（クチナシ黄）の主な成分は、クロセチン配糖体（クロッシン類）である。この色素は澱粉や飲料水の着色に用いられている。クロッシンは、口腔および胃を通じて腸に達する。抗酸化能を持つクロッシンは、胃腔で唾液由来の亜硝酸と反応できる。他方、クロッシンは澱粉の消化に影響を与える可能性がある。そこで、亜硝酸によるクチナシ黄の酸化に対する澱粉の影響と、 $\alpha$ -アミラーゼによる澱粉消化に対するクロッシンの影響も調べた。

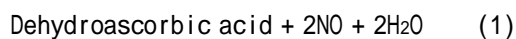
### 3. 研究の方法

#### 3-1. ソバ粉生地の摂取による胃腔での一酸化窒素の生成

ソバ粉摂取に伴う胃腔内での一酸化窒素の生成は、ソバ粉生地を摂取後、炭酸水を飲むことによって得られる「おくび」中の一酸化窒素濃度を測定することで推定した。また、ソバ粉澱粉の消化に伴うソバ粉中に含まれるポリフェノールの影響は、メタノールで抽出したソバ粉を用いて推定した。澱粉の消化は、ヨード-澱粉反応で測定した。

#### 3-2. アミラーゼによる澱粉の消化に対するクロッシンの影響

クチナシ黄より単離したクロッシンの酸化測定には、分光光度計を用いた。一酸化窒素生成の測定には、クラーク型電極を用いた。一酸化窒素生成は、アスコルビン酸/亜硝酸系（反応式1）を用いて算出した。



澱粉の消化は、ヨード-澱粉反応で測定した。

### 4. 研究成果

#### 4-1. ソバ粉生地の摂取による胃腔での一酸化窒素の生成

ソバ粉生地摂取前後の胃腔内の一酸化窒素濃度は、0.225 - 1.133ppm から 0.675 - 2.033ppm ( $n = 10$ ) へ増加した。この一酸化窒素濃度の増加は、そば粉に含まれるフェノール類が唾液の亜硝酸イオンを胃腔で還元したためだと思われた。このことは、唾液に含まれている有害な亜硝酸塩がそば粉に含まれているポリフェノールによって胃腔で一酸化窒素へ還元されることを示唆している。そこで、この一酸化窒素生成に伴って酸化されるそば粉のフェノール成分を調べた。その結果、ペラルゴニジンおよびシアニジン由来のプロアントシアニジンとルチンが酸化されることがわかった。

他方、ソバ粉に含まれるポリフェノール類は、アミラーゼによる澱粉の消化を抑えた。この澱粉消化抑制機構として、ポリフェノール類と澱粉螺旋構造との結合を予想している。また、そばポリフェノールはアミロペクチンの消化よりアミロースの消化をより大きく抑制し、この抑制に主に関与しているポリフェノールの一つは、epicatechin-*O*-(3,4-dimethyl)gallate であった。ケルセチンは上のポリフェノールほど大きな抑制効果を示さず、ルチンの抑制効果はさらに小さかった。以上の結果から、疎水性の高い化合物がより有効な澱粉消化抑制効果を示すことが分かり、epicatechin-*O*-(3,4-dimethyl)gallate は、アミロペクチンよりアミロースによりよく結合できることも分かった。このことは、ケンフェロールやアズキから単離した赤紫色素（シアニジンとカテキンの複合体）による澱粉消化の抑制から明らかになった。

以上のことから、疎水性の強いフェノール性化合物は、澱粉と結合して腸での澱粉消化を抑えることにより、食後の血糖値の上昇速度を低下させる能力を持った化合物であると考えられる。

4-2. クチナシ黄によるアミラーゼの澱粉の消化に対する影響

#### クチナシ黄によるアミラーゼの澱粉の消化に対する影響

クチナシ黄は、パエリアの炊飯時に用いら

れ、その際、澱粉が黄色に着色する。この着色はクロッシンの澱粉への結合によるものである。クロッシンは、胃腔条件で、亜硝酸塩によって酸化され、その酸化に伴って一酸化窒素が生成した。この酸化還元反応は、澱粉によって濃度依存的に抑制された。このことは、澱粉/クロッシン複合体は胃腔では酸化されにくいことを示唆している。そこで、澱粉/クロッシン複合体が胃を通過して、小腸に入った条件を想定して、 $\alpha$ -アミラーゼによる澱粉消化を測定した。塩素イオンが存在しない条件では、クロッシンは澱粉消化を促進したが、100 mM 塩素イオン存在下では、澱粉消化に影響を与えなかった。

以上のことから、もし、胃でのクロッシンの酸化が澱粉との複合体形成に伴って抑制され、かつ、腸に運ばれたクロッシン/澱粉複合体から  $\alpha$ -アミラーゼによる澱粉消化に伴ってクロッシンが遊離されれば、クロッシンの生物学的利用率は、澱粉によって向上する期待される。

#### 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. Umeo Takahama, Mariko Tanaka, and Sachiko Hirota. Proanthocyanidins in buckwheat flour can reduce salivary nitrite to nitric oxide in the stomach. *Plant Foods Human Nutrition*, 65, 1-7, 2010, 査読有

2. Umeo Takahama, Ryo Yamauchi, and Sachiko Hirota. Isolation and characterization of a cyanidin-catechin pigment from adzuki bean (*Vigna angularis*). *Food Chem.* 2013, 141: 282-288. 査読有

3. Umeo Takahama and Sachiko Hirota. Effects of Starch on Nitrous Acid-Induced Oxidation of Kaempferol and Inhibition of  $\alpha$ -Amylase-Catalyzed Digestion of Starch by Kaempferol under Conditions Simulating the Stomach and the Intestine. *Food Chem.* 2013, 141: 313-319. 査読有

4. Umeo Takahama, Ryo Yamauchi, and Sachiko Hirota. Interactions of starch with a

cyanidin-catechin pigment (vignacyanidin) isolated from *Vigna angularis* bean. *Food Chem.* In press. 2013, 査読有

[学会発表](計3件)

1. 廣田幸子、高濱有明夫、ソバ粉澱粉の消化はそのメタノール抽出成分によって抑制される、第65回日本栄養・食糧学会、平成23年5月15日、お茶の水女子大学

2. Umeo Takahama, Sachiko Hirota. Proanthocyanidin-rich extract from buckwheat flour inhibits amylase-catalyzed digestion of starch by forming staech/proanthocyanidin complexes. *Polyphenols Communications* 2010, 386-387 August. France.

3. 廣田幸子、高濱有明夫、澱粉は亜硝酸によるクチナシ黄の酸化を抑え、クチナシ黄はアミラーゼによる澱粉の消化を促進する、第59回日本食品科学工学会、平成24年8月30日、藤女子大学

[図書](計1件)

1. Umeo Takahama, Mariko Tanaka, and Sachiko Hirota. Buckwheat flour and bread. In V.R. Preedy, R.R. Watson, and V.B. Patel (Eds.), *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 141-151). London, Academic Press, Elsevier. ISBN: 978-0 12380-8868. 2011. 査読有

2. Umeo Takahama and Sachiko Hirota (2012) Reactions of quercetin and its glycosides in the oral cavity and the stomach. In T. Chikamatsu, Y. Hida (Eds.), *Quercetin* (pp. 257-268). Nova Science Publishers, Inc. ISBN: 978-1 61942-057-1. 2012. 査読有

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等 なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

廣田 幸子 (Hirota Sachiko)  
九州女子大学・家政学部・准教授  
研究者番号: 00312140

(2)連携研究者

西田真紀子 (Nishida Makiko)  
九州女子大学・家政学部・准教授  
研究者番号: 00268814

高濱 有明夫 (Takahama Umeo)  
九州歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号: 30106273

東 泉 (Higashi sen)  
九州歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号: 40228705