

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 8 日現在

機関番号：21102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23580178

研究課題名(和文)フラボノイドの生体利用性に及ぼす難消化性糖質、特にペクチンの影響に関する研究

研究課題名(英文) Study on the effects of pectin, a undigestible polysaccharide, on bioavailability of flavonoids

研究代表者

岩井 邦久 (IWAI, KUNIHISA)

青森県立保健大学・健康科学部・教授

研究者番号：80404812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：フラボノイドは抗酸化活性等の保健効果が期待されているが、吸収性が低い。我々は、ペクチンがフラボノイドの吸収を促進する作用とそれによる生理的影響について検討した。その結果、フラボノイドの水酸基が多いことやカルボニル基の有無等が作用に関与していることを明らかにした。また、ケルセチンの吸収はペクチンの摂取量依存的に増加し、それによって低密度リポタンパク質(LDL)の酸化抵抗性も強まることも明らかになった。これらの結果は、ペクチンの新しい作用を示す可能性があると共に、フラボノイドの吸収性向上にアプローチするものである。

研究成果の概要(英文)：It is well known that flavonoids have various health promoting effects such as antioxidant activity, however their absorption is low. In this research we investigated the enhancing effect of pectin on the absorption of flavonoids and its effect on physiological activities of flavonoids in rats. Consequently, we found that the number of hydroxyl groups in B-ring and the existence of the carbonyl group in C-ring of flavonoids contributed strongly to the enhancing effect of pectin on flavonoid absorption. Moreover, the absorption of quercetin in rats increased with dose depending on pectin intake, and the antioxidant activity of low density lipoprotein in rats became strong with an increase of quercetin absorption. Pectin is well known to inhibit the absorption of nutrients such as cholesterol and lipids. However, these results show the possibility that pectin has a new physiological function, and this approach is beneficial for improvement of low absorption of flavonoids.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：フラボノイド ペクチン 吸収 構造活性相関 抗酸化作用 代謝

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の増加に対して食による一次予防が認識されるようになり、その一助として人々は身体に良い食材を求めるようになった。また、食品には三次機能と位置づけられる生体調節作用を備えているものがあり、その作用や成分が様々な角度から研究されている。中でもフラボノイドを含めたポリフェノール類は抗酸化作用をはじめとして種々の生理活性を持ち、これらの有益な生理機能が疾病予防の点から注目されている。

その生理機能の発揮には生体利用性、即ち活性成分が活性を発揮できる化学形態でどれだけ生体内に吸収されるかが重要で、フラボノイドの吸収性は基本骨格、分子量、溶解度などの化学構造に依存していることや (Bravo L.ら: Nutr. Rev., 56, 317, 1998)、小腸のグルコシダーゼ活性や腸内細菌叢による代謝などの影響を受けることが明らかになった (Tamura M.ら: Biosci. Microflora., 22, 125, 2003)。また、フラボノイドの吸収は総じて低いことが知られており (Manach C.ら: Am. J. Clin. Nutr., 81, 203S, 2005)、他の食物因子を組み合わせた、フラボノイドの存在形態を変化させて生体利用性を高める試みが行われている (Azuma K.ら: Biosci. Biotechnol. Biochem., 67, 2548, 2003 など。Matsumoto M.ら: J. Agric. Food Chem., 55, 4202, 2007.)。

その一方で、ポリフェノール類がよく含まれている野菜や果物において、その中心的なマトリックスである食物繊維や難消化性オリゴ糖などの難消化性糖質が、フラボノイドの生体利用性に与える影響については研究例が少ない。食物繊維はヒトの消化酵素では加水分解されない食物難消化性成分で、水溶性食物繊維のペクチン、グアーガム、グルコマンナンなどは脂質や糖質などの栄養素の消化吸収に強く影響を及ぼす。また、これら難消化性糖質は腸内環境の変化をもたらし、食物繊維はコレステロールなどの吸収遅延や抑制作用を示し、難消化性オリゴ糖はミネラルの吸収促進等の作用を有することも報告されている (Fernandez M.ら: J. Lipid Res., 36, 2394, 1995. Chonan O.ら: Biosci. Biotechnol. Biochem., 65, 1872, 2001)。

このようなことから、難消化性糖質がフラボノイドの吸収・代謝に対しても影響を与えることが予想され、我々は青森県の特産物であるリンゴのペクチンに着目した。これまでの検討の結果、リンゴペクチンを含む餌で飼育したラットにケルセチン (Qrt) を経口投与すると、Qrt および代謝物の血漿中濃度ならびに尿中排泄率がセルロース食を摂取したラットより 1.5~2 倍に増大することを見出した (Nishijima T.ら: J. Agric. Food Chem., 57, 2583, 2009)。この吸収増大効果はペクチンのメチル化重合度に依存しており、高メトキシペクチンは低メトキシペクチンより Qrt の吸収率を増大させた。さらに、ペクチンと Qrt の混餌摂取でもこの効果は認められ

(Nishijima T.ら: Polyphenols Communications 2008, 2, 813, 2008)、ペクチンの新たな生理作用となる可能性が見出された。

## 2. 研究の目的

そこで、フラボノイドの生体利用性に与える難消化性糖質の影響を明らかにし、ペクチンの新たな作用を解明することを目的とした。本研究はその一環として、ペクチンによる Qrt の生体内吸収の増加が Qrt の生理機能を向上し得るか否かを検討した。また、ペクチンの吸収促進作用の作用機序を解明する一環として、各種フラボノイドが受けるペクチンの吸収促進作用の違いを構造活性相関的に検討するとともに、腸肝循環に及ぼす影響を検討した。

## 3. 研究の方法

まず、ペクチンによる Qrt の吸収増加が Qrt の生理機能を強めるか否かについて、Qrt の抗酸化作用を指標として検討した。AIN-93G 組成で 5%セルロースまたはペクチンを含み 0.2%の Qrt を添加した飼料を雄性 Wistar 系ラットに与えた。2 週間摂取させた後にラットを解剖し、血漿低密度リポタンパク質 (LDL) を調製し、これを銅イオンで酸化した時の過酸化脂質濃度を経時的に測定した。飼料中のペクチンの添加量を 0%、1.5%および 5%と変えることで用量依存性を検討するとともに、血漿および LDL 中の Qrt 濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定した。

次に、ペクチンによる吸収促進作用を受けるフラボノイドの構造相関性を検討するため、B 環水酸基数の異なるフラボノール 5 種類、B 環カテコール型で C 環構造の異なるフラボノイド 5 種類および Qrt の配糖体 4 種類を選択した。これらを 0.2%添加した 5%セルロース食および 5%ペクチン食を 3 日間ラットに代謝ケージ内で摂取させ、経時的に尾動脈より採血するとともに尿を収集した。各フラボノイドの血漿中濃度推移および尿中排泄量を HPLC にて測定した。

さらに、0.2% Qrt を含む 5%セルロース食および 5%ペクチン食を胆管カニューレラットに摂取させ、Qrt の胆汁排泄に及ぼすペクチンの影響を検討した。

## 4. 研究成果

ラット LDL の酸化は、Qrt を添加しないセルロース食の CNT 群で最も進んだが、Qrt を摂取した 3 群は LDL 中過酸化脂質の増加が抑制された。Qrt を添加した 1.5%ペクチン食の LPQ 群と Qrt 添加 5%セルロース食の CQ 群の LDL 酸化は同程度であったが、Qrt 添加 5%ペクチン食の HPQ 群の LDL 中過酸化脂質濃度はそれらより低下し、酸化開始 3 および 4 時間後では CNT 群より有意に低値となった (図 1)。即ち、ペクチンを同時に摂取することが Qrt の抗酸化作用を強め、ペクチン摂取量が多いほどその効果は強まることが明らか

になった。

また、LDL 中の Qrt 濃度もペクチン摂取によって高まり、Qrt の吸収量の増大が LDL 中濃度にも反映され、抗酸化作用の増強に關与していることが示唆された。

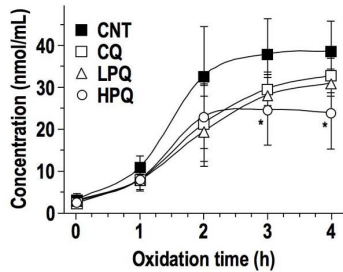


図 1. ペクチンとともに Qrt を摂取したラットの LDL を酸化した時の過酸化脂質濃度 (TBARS) の変化

CNT: Qrt 含有しない 5%セルロース食; CQ: 0.2% Qrt 含有 5%セルロース食; LPQ: 0.2% Qrt 含有 1.5%ペクチン食; HPQ: 0.2% Qrt 含有 5%ペクチン食。

B 環水酸基数の異なるフラボノールの吸収に及ぼすペクチンの作用を検討した。0.2% フラボノールを添加した 5%セルロース食 (C 群) および 5%ペクチン食 (P 群) を 3 日間摂取したラットの血漿中フラボノール濃度推移よりその曲線下面積 (AUC) を算出し、両

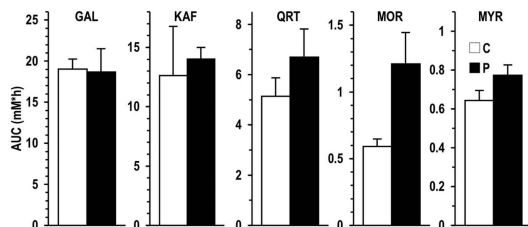


図 2. セルロース食 (C) およびペクチン食 (P) で B 環水酸基数の異なるフラボノールを摂取したラットの血漿中フラボノール濃度 (3 日間の血漿中濃度推移の AUC)

GAL: ガランジン; KAF: ケンフェロール; QRT: ケルセチン; MOR: モリン; MYR: ミリセチン。いずれもセルロースおよびペクチンは 5%添加, フラボノールは 0.2%添加。

群を比較した (図 2)。

その結果、B 環に水酸基が 0 個のガランジン (GAL) の血漿中濃度は両群に差がなく、B 環 4'位に 1 個の水酸基を有するケンフェロール (KAF) は P 群が C 群より高い傾向を示した。一方、水酸基が 3', 4'位に 2 個の Qrt および 2', 4'位に 2 個のモリン (MOR) ならびに 3', 4', 5'位に 3 個のミリセチン (MYR) の AUC は、P 群が C 群より有意に高まった。尿中排泄率も同様の結果が得られた。即ち、同じフラボノイド骨格では B 環の水酸基数が多いほどペクチンの吸収促進作用を受けやすいことが示唆され、代謝も B 環水酸基数によってペクチンの影響の受けやすさが変わることが推察された。

一方、B 環がカテコール型で C 環構造の異なるフラボノイドの吸収に及ぼすペクチンの影響を検討した。5 種類の 0.2% フラボノイドを添加した 5%セルロース食 (C 群) および 5%ペクチン食 (P 群) を 3 日間摂取したラットの血漿中フラボノイド濃度推移より AUC を算出し、両群を比較した (図 3)。

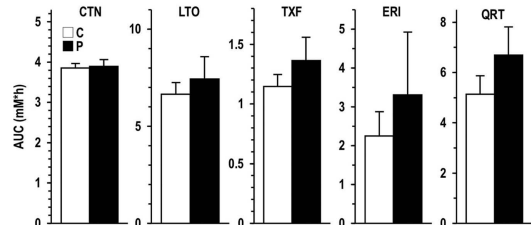


図 3. セルロース食 (C) およびペクチン食 (P) で B 環カテコール型フラボノイドを摂取したラットの血漿中フラボノイド濃度 (3 日間の血漿中濃度推移の AUC)

CTN: カテキン; LTO: ルテオリン; TXF: タキシフォリン; ERI: エリオジクチオール; QRT: ケルセチン。いずれもセルロースおよびペクチンは 0.5%添加, フラボノイドは 0.2%添加。

その結果、フラバノールのカテキン (CTN) の血漿中濃度は両群に差がなく、フラボンのルテオリン (LTO)、フラボノールのタキシフォリン (TXF)、フラバノンのエリオジクチオール (ERI) およびフラボノールの Qrt の AUC は P 群が C 群より高まった。この P 群が C 群より高まる傾向は、尿中排泄率でも同様に認められた。各フラボノイドの構造から、C 環 4 位のカルボニル基がペクチンの吸収促進作用に強く關与していることが示唆され、カルボニル基を有するフラボノイドの中では Qrt の吸収促進が最も大きく、C 環 2,3 位の二重結合と 3 位の水酸基も吸収に重要であることが推察された。

また、これらのラット LDL を酸化したところ、CTN 摂取では C 群と P 群の LDL 酸化に違いはなかったが、他のフラボノイド摂取では P 群の LDL 酸化は C 群よりも抑制され、吸収の増大と抗酸化作用の關連性が示された。

ケルセチン配糖体の吸収に関しては分析中であるが、4 種類の配糖体を摂取したラット LDL の酸化は C 群と P 群で明確な差は見られていないことから、ケルセチン配糖体の吸収におけるペクチンの影響には糖の種類は強く關与しないことが予想される。また、ペクチンは Qrt の胆汁排泄を増加させたが、排泄の速度には影響しなかった。

以上の結果から、ペクチンによってフラボノイドの吸収性が高まり、それによって生理作用も強まることを明らかにした。このペクチンのフラボノイド吸収促進作用にはフラボノイドの C 環カルボニル基の有無と水酸基数が強く關与しており、これがペクチンの分散性や溶解性に影響されるためであることが推察され、作用機序の一部を明らかにすることができた。また、これらの結果は、野菜

や果実などフラボノイドと難消化性糖質を共に含む食品を摂取した場合に、それぞれの成分を単独で摂取するよりも有益な保健効果を得られる可能性を示唆するものである。

#### 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)

[学会発表](計9件)

1. 三浦恵美, 山下久美子, 森永八江, 西嶋智彦, 乗鞍敏夫, 岩井邦久: りんご由来ペクチンのフラボノイド吸収促進作用とフラボノイド骨格との関係. 第 68 回日本栄養・食糧学会大会, 2014/5/31, 酪農学園大学 (江別市).
2. 岩井邦久: 青森県産品で健康になろう! ~青森県の食材の栄養、知ってますか? 平成 25 年度まちなかキャンパス, 2014 年 2 月 1 日, 青森新町キューブ (青森市).
3. 岩井邦久: 自然の恵み (食) を生かした健康づくり. 味祭館感謝祭講演, 2013 年 11 月 3 日, おいらせ町味祭館 (おいらせ町).
4. 岩井邦久, 山下久美子, 三浦恵美, 森永八江, 西嶋智彦: フラボノールの生体内吸収に及ぼすりんご由来ペクチンの作用. 第 67 回日本栄養・食糧学会大会, 2013 年 5 月 25 日, 名古屋大学 (名古屋市).
5. 岩井邦久, 高見文月, 山下久美子, 森永八江, 瀧田佳樹, 西嶋智彦: リンゴ由来ペクチン摂取によるケルセチンの抗酸化能の増強. 第 66 回日本栄養・食糧学会大会, 2012 年 5 月 19 日, 東北大学 (仙台市).
6. 岩井邦久: 短命県返上! いきいき健康づくり-健康は食べ方如何-. 青森保健生活協同組合・第 4 回組合員職員活動交流会講演会, 2012 年 2 月 5 日, 青森市文化会館 (青森市).
7. 岩井邦久: 短命県返上! ~地域の食資源を活かして長生きしよう~. 青森県生協連講演会「第 6 回たべる・たいせつ食育フォーラム」, 2011 年 10 月 19 日, 青森市文化会館 (青森市).
8. 岩井邦久: 食と健康・・・食べ物と生活習慣病の予防. 第 34 回飛び出せオープンカレッジ, 2012 年 6 月 17 日, 青森県立保健大学 (青森市).
9. 岩井邦久: 自然の恵・地域の恵・県産食品で健康に~地域の食資源の機能性~. 青森県立保健大学公開講座, 2011 年 5 月 28 日, 青森県立保健大学 (青森市).

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

岩井 邦久 (Iwai Kunihisa)  
青森県立保健大学・健康科学部・教授  
研究者番号: 80404812

##### (2)研究分担者

森永 八江 (Morinaga Yae)

山口大学・教育学部・講師

研究者番号: 40404818

##### (3)研究協力者

西嶋 智彦 (NISHIJIMA Tomohiko)  
グリコ乳業株式会社