

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 9 日現在

機関番号：24302

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560039

研究課題名(和文)アブラナ科野菜の発がん抑制成分のヒト生体内利用能を考慮した摂取目標量の設定

研究課題名(英文)Recommended practical intake level of cancer preventive isothiocyanate in cruciferous vegetables with reflecting the bioavailability

研究代表者

中村 考志 (NAKAMURA, YASUSHI)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：90285247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトが大根を摂取したときのMTBITCの発がん抑制作用を推定するために、MTBITC生体内利用能を測定したところ個人差が認められたため、MTBITCを摂取したときの発がん抑制作用には個人差が存在すると考えられる。この差は性別、年代、身長、体重には依存しないと推定された。また、MTBITC生体内利用能には上限が存在し、必要以上にMTBITCを摂取しても摂取量に比例した発がん抑制作用は期待できないかもしれない。一方、季節がMTBITC生体内利用能の変動要因のひとつである可能性が示唆されたため、大根の発がん抑制作用の目標摂取量は、季節ごとの値を重視して推定していく必要があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Our goal is to establish a recommended practical intake level of cancer preventive isothiocyanate (4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate) in daikon with reflecting the bioavailability in human body. The MTBITC bioavailability varied among human volunteers, and therefore the MTBITC cancer preventive effect depends on the individual even in the same MTBITC administration level. The difference does not depend on gender, age, height, and weight in individual. The bioavailability was observed upper limit, and the cancer preventive effect might be expected under the limit of bioavailability accordingly. Since variation factor of the MTBITC bioavailability was found in seasons changed over time, it might be useful to estimate the bioavailability in each season, when establish the recommended practical intake level of daikon for cancer preventive effect.

研究分野：食品機能学

キーワード：ダイコン MTBITC 生体内利用能 がん予防 京野菜

1. 研究開始当初の背景

アブラナ科野菜に特有のファイトケミカルであるイソチオシアネートの多様な健康増進作用が全世界的に研究されている。アブラナ科野菜であるワサビのアリルイソチオシアネートがもつ抗菌性やブロッコリーのスルフォラファンがもつ発がん抑制作用が明らかとなり、これらの成分はサプリメントや家庭用品等で一般消費者が利用できるまでとなった。アブラナ科野菜の中で大根は、日本が世界消費量の90%を占め、和食の主要な野菜のひとつであり、おろすという調理法も日本独特のものである。大根をおろしたり、ジュースにしたりすると、大根のもつ酵素 myrosinase により前駆体 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate (MTBGLS) から大根特有の辛味成分である 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC) が生成する。日本では古来より MTBITC の独特の香気や辛味を利用して摂食しており、日本人の食文化にも深く根付いた成分であると考えられる。

一方、MTBITC を経口摂取した動物において膵臓がんと食道がんの抑制効果を示し、ヒトの疫学調査では大根摂取が食道がんのリスク低下因子であることが示唆されている。ヒトが大根を摂取すると、小腸から生体内に吸収された MTBITC は肝臓の GST で代謝され、最終的に 4-methylthio-3-butenyl dithiocarbamate (MTBDTC) として尿中に排泄される。MTBITC が代謝されるときに、同時に発がん物質を無毒化する酵素である UGT1A6 も誘導されるため、MTBITC は発がん抑制的にはたらくと考えられている。しかしヒトが大根を摂取したとき、MTBITC の発がん抑制作用がどの程度得られるかについては報告されていない。MTBITC の生体内利用能に個人差や時間変動があれば、同量の大根を摂取した場合でも得られる発がん抑制作用に差が生じ、期待した作用を得られない場合もあると考えられた。そのためヒトの MTBITC 生体内利用能の変動を把握しておくことは、将来大根の機能性を効果的に得る方法を考案する上で意義があると考えた。そこで、MTBITC の代謝物である MTBDTC の尿中排泄量を測定して、これを MTBITC 生体内利用能の指標とし、発がん抑制作用を推定する方法が本研究グループにより確立され、より正確に MTBITC 生体内利用能を測定する改良法が2014年に確立された。本研究では、この改良法を用いてヒトが大根を摂取したときの MTBITC 生体内利用能を2年間にわたって測定し、MTBITC 生体内利用能の変動と変動要因を明らかにすることを試みた。

2. 研究の目的

本研究は、13名の被験者の MTBITC 生体内利用能を1年間測定したところ、以下4点が明らかとなった。MTBITC 生体内利用能に個人差が存在した。MTBITC 生体内利用能は

変動していた。MTBITC 摂取量と MTBITC 生体内利用能に強い相関は見られなかった。MTBITC 生体内利用能は夏季に高くなる傾向がみられた。しかし、被験者は13名中12名が20代と偏りがあり、また被験者数は少なく、1年間のみ結果であったため、MTBITC 生体内利用能の個人差と変動について確証は得られていない。そこで本研究では、男性7名、女性17名の計24名を被験者として、大根を摂取したときの MTBITC 生体内利用能を測定し、1年目の結果とあわせて解析することでより確証のある変動要因を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

< 1 > 大根ジュース摂取後の MTBITC 生体内利用能の測定

被験者に3日間大根摂取を禁止した後、MTBITC の実験日への持ち込みが無いことを確認するため採尿をおこなった。その後 3.7 μmol から 92 μmol の MTBITC を含む大根ジュースを健康な被験者が摂取し、摂取後、採尿器を用いて24時間蓄尿した。蓄尿終了後に、MTBDTC の24時間を越えての持ち越しがないことを確認するため採尿をおこなった。尿はフィルターでろ過し、10 μL を HPLC 分析試料とした。

摂取する大根ジュース中の MTBITC は HPLC により定量し、これを MTBITC 摂取量とした。24時間尿中 MTBDTC も HPLC により定量し、これを MTBDTC 排泄量とした。摂取した MTBITC に対する、尿中に排泄された MTBITC 代謝物である MTBDTC の mol% を MTBITC 生体内利用能とした。

< 2 > MTBITC の HPLC 分析条件

カラム：YMC-Pack Pro C18RS, 150 x 4.6 mm I.D., S-5 μm , 8 nm (株式会社ワイエムシイ) 溶出液：54%アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸, 検出波長：254 nm, 流速：1.0 mL/min, 保持時間：10-11 min

< 3 > MTBDTC の HPLC 分析条件

カラム：Scherso SW-C18, 150 x 2 mm I.D., S-3 μm , 13 nm (インタクト株式会社), 溶出液：22.5%アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸, 検出波長：254 nm, 流速：0.3 mL/min, カラムオープン：35, 保持時間：15-17 min

< 4 > MTBITC 生体内利用能の測定データの分類

MTBITC 生体内利用能を29回測定し、のべ235人のデータが得られた。このうち、MTBITC の実験日への持ち込みがなく MTBDTC の24時間を越えての持ち越しがなかったことを採尿で確証を得たものと、MTBITC の実験日への持ち込みはないが MTBDTC の24時間を越えての持ち越しがあったが、その割合が全排泄量の1%以下であったのべ209人のデータを解析データとした。

MTBITC の持ち込みや MTBDTC の持ち越し (>1%)、採尿忘れなど測定過程に何らかの不備があった 26 個のデータは解析から排除した。

4. 研究成果

< 1 > MTBITC 生体内利用能の個人差の有無
各被験者の MTBITC 生体内利用能の平均値を示した (図 1)。

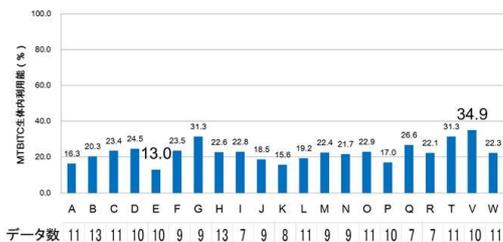


図 1. 各被験者の MTBITC 生体内利用能の平均値

横軸のアルファベットは被験者を表し、その下の数字はデータ数を示している。データ数が 5 個以下であった被験者 S, X, Z は比較対象から除外した。データ数が 6 個以上の被験者 (男性 5 名, 女性 16 名) の 21 名の平均値を比較したところ, 最高値は被験者 V の 34.9%, 最小値は被験者 E の 13.0% と被験者間に大きな差がみられた。MTBITC を摂取したときの発がん抑制作用には個人差が存在すると考えられる。この個人差は性別, 年齢, 身長, 体重に依存しないことも示唆された (データ未掲載)。

< 2 > MTBITC 生体内利用能の個人内の変動の有無

各被験者の生体内利用能の最小値と最大値および変動幅を示した (図 2)。

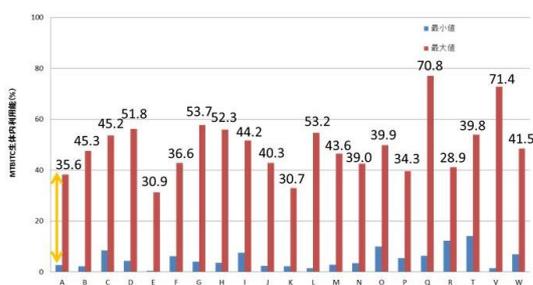


図 2. 各被験者の MTBITC 生体内利用能の変動幅

解析データ数が 1 以下であった被験者 S, X, Z は解析から除外した。解析した被験者すべてで 28.9% 以上の変動幅がみられ, 変動幅が 70% に達する被験者も存在していた。

< 3 > MTBITC 摂取量の差による MTBITC 生体内利用能の変動の有無

MTBITC 摂取量と MTBITC 生体内利用能の相関の有無を検討するため, 2 年間のべ 314 人のデータをプロットし (図 3), スピアマンの順位相関係数検定 (危険率 5%) をおこな

った。下側 Z 値は -1.960, Z 値は -4.480 と 2 変量間に相関係数 -0.2646 の有意な負の相関がみられた。

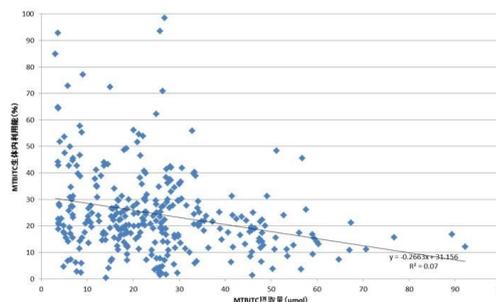


図 3. MTBITC 摂取量と MTBITC 生体内利用能の相関

< 4 > MTBITC 摂取時期と MTBITC 生体内利用能の関連

測定日を春分・夏至・秋分・冬至を境界とした 4 つの日長に区分 (4 月 21 日から 6 月 20 日までを春季, 6 月 21 日から 9 月 22 日までを夏季, 9 月 23 日から 12 月 22 日までを秋季, 12 月 23 日から 4 月 22 日までを冬季) した。MTBITC 生体内利用能の季節変動の有無は統計学的に解析した。MTBITC 摂取量と MTBITC 生体内利用能の間には相関が見られたことから, 摂取量を 3-15 μmol, 15-30 μmol, 30-45 μmol, 45-70 μmol の 4 区に分類して, 各区について 2014 年度と 2015 年度と 2014-2015 年度の 3 期間における生体内利用能の季節間の差の有無を検定した。有意水準は 5% とし, 2 群間の検定には t 検定, 多群間の検定には Kruskal-Wallis 検定と Steel-Dwass の多重比較をおこなった (表 1)。

表 1. MTBITC 生体内利用能の季節変動の有無

MTBITC 摂取量	2014			2015			2014-2015		
	水準1	水準2	P 値	水準1	水準2	P 値	水準1	水準2	P 値
3-15 μmol	春	夏	0.0523	春	夏	0.9686	春	夏	0.2664
	春	秋	0.8100	春	秋	0.7263	春	秋	0.9079
	夏	秋	0.0084	夏	秋	0.4226	夏	秋	0.0592
15-30 μmol	夏	秋	0.0070	春	夏	0.1896	春	夏	0.0891
	夏	冬	0.3932	春	秋	0.2655	春	秋	0.5674
	秋	冬	0.0188	夏	秋	0.9993	春	冬	0.1216
30-45 μmol	夏	秋	0.1119	夏	秋	0.8249	春	夏	0.9851
	春	秋	0.9617	春	秋	0.9617	春	秋	0.9696
	春	冬	0.1475	春	冬	0.1475	春	冬	0.1474
45-70 μmol	夏	秋	0.4962	夏	秋	0.4962	夏	秋	0.9735
	夏	冬	0.0782	夏	冬	0.0782	夏	冬	0.0372
	秋	冬	0.0078	秋	冬	0.0078	秋	冬	0.0163

有意差が認められた季節間を黄色, 有意差は認められないものの季節変動の傾向が見られた季節間を緑色とした。

MTBITC の 15-30 μmol 摂取区では 2014 年度において, MTBITC 生体内利用能は秋よりも夏に有意に高く, また秋よりも冬に有意に高かった。30-45 μmol 摂取区では 2015 年度に秋よりも冬に有意に低く, 夏よりも冬に有意に低かった。2014-2015 年度の 2 年間では夏よりも冬に有意に低く, 秋よりも有意に低かった。

< 4 > まとめ

ヒトが大根を摂取したときの MTBITC の

発がん抑制作用を推定するために、MTBITC 生体内利用能を測定したところ、個人差が認められたため、MTBITC を摂取したときの発がん抑制作用には個人差が存在すると思われる。この個人差は性別、年代、身長、体重には依存しないと推定された。また、MTBITC 生体内利用能には上限が存在し、必要以上に MTBITC を摂取しても摂取量に比例した発がん抑制作用は期待できないかもしれない。一方、季節が MTBITC 生体内利用能の変動要因のひとつである可能性が示唆されたため、MTBITC の発がん抑制作用の目標摂取量は、季節ごとの値を重視して推定していく必要があると考えられる。

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 2 件）

Nakamura Y, Sasaki A, Park EY, Kubo N, Nakamura T, Kubo Y, and Okamoto S, Expectations of health benefits in plant materials in Southeast Asia based on *Washoku* (Japanese cuisine) study focusing on *Kyo-yasai* (heirloom vegetables in Kyoto), *M.U. J. Pharm. Sci.*, 42, 47-54 (2015) 査読あり

Okamura T, Umemura T, Inoue T, Tasaki M, Ishii Y, Nakamura Y, Park EY, Sato K, Matsuo T, Okamoto S, Nishikawa A, and Ogawa K, Chemopreventive effects of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (Raphasatin) but not curcumin against pancreatic carcinogenesis in hamsters, *J. Agric. Food Chem.*, 61, 2103-2108 (2013) 査読あり

〔学会発表〕（計 3 件）

Nakamura Y, Expectations of health benefits in plant materials in Southeast Asia based on Washoku (Japanese cuisine) study, Joint symposium of basic and applied studies of natural products, 2015.9.14 (Bangkok, Thailand)

鈴木勇, Young-Man Cho, 豊田武士, 赤木純一, 西川秋佳, 中村考志, 小川久美子, MTBITC の F344 ラット膀胱への高用量投与の影響, 第 31 回日本毒性病理学会, 2015 年 1 月 30 日（東京都区内）

藤井雅弓, 中村考志, 朴恩栄, 佐藤健司, 城田浩治, 末留昇, ダイコンに含まれる発がん抑制成分のヒトにおける吸収, 第 53 回日本栄養・食糧学会近畿支部大会, 2014 年 10 月 25 日（京都市）

〔図書〕（計 0 件）

〔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

食べて健康！京野菜（京野菜機能性連絡協議会ホームページ）：日本の伝統的な大根品種の MTBITC 生成能の差と MTBITC の発がん抑制効果についての研究成果の閲覧を可能としている（<http://kenko-kyoyasai.jp/>）。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村考志（NAKAMURA YASUSHI）

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：90285247