

Study on the analytical approach of anthocyanins on intestinal absorption by MALDI- MS imaging technique

咸, 兌勳

<https://hdl.handle.net/2324/6787676>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名	咸 兌勳 (ハム テフン)		
論 文 名	Study on the analytical approach of anthocyanins on intestinal absorption by MALDI-MS imaging technique (MALDI-MS イメージング法を用いたアントシアニン類の腸管吸収動態解明のための分析化学的研究)		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 松井 利郎
	副 査	九州大学	教授 古屋 茂樹
	副 査	九州大学	准教授 田中 充

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、質量電荷比をもとにノンターゲット分析が可能なマトリックス支援レーザー脱離イオン化-質量分析 (MALDI-MS) 法を用いて、アシル化アントシアニン類の腸管吸収動態を可視化解明するとともに定量分析法としての展開を図ったものである。

まず、体内吸収性が不明であったアシル化アントシアニン類について、アシル化体を多く含む (>4.3 mg/g) 紫ニンジン抽出物の Sprague-Dawley (SD) 系ラットに対する単回投与試験 (30 mg/kg) を実施し、*p*-クマル酸、フェルラ酸ならびにシナピン酸を有するアントシアニン類がアシル化体として門脈血ならびに循環血に存在することを LC-MS 分析によって明らかにしている。そこで、SD 系ラット空腸を用いた膜透過試験を実施し、60 分透過試験後の空腸膜切片の MALDI-MS 分析 (マトリックス剤: 2,5-dihydroxybenzoic acid) によって、アシル化アントシアニン類の分布、代謝、透過経路の解明を図っている。その結果、フェルラ酸を有するアシル化体が[M]⁺として切片全域で検出され、アシル化体として腸管透過していることを可視化実証するに至っている。また、同時にアグリコン体も頂膜側で検出されたことから、アシル化体の一部は腸管吸収過程において分解され、フェルラ酸等が代謝生成していることを示唆する知見を得ている。さらに、膜輸送系阻害剤存在下での MALDI-MS イメージング分析を実施し、モノグリコシル体およびアグリコン体はグルコース輸送系 (GLUT2) ならびに有機酸輸送系 (OATP) の両経路を介して膜輸送されるのに対して、アシル化体は OATP 経路依存的に膜輸送されることを実証している。

次いで、定量分析法としての適用が困難であった MALDI-MS 法について、蛍光物質を用いて蛍光分光法によるマトリックス剤噴霧量の規格化と MS 検出強度を指標とする内標準定量法の確立を試みている。レーザー波長 (355 nm) を考慮し、蛍光性があり MS イオン化活性の高い物質としてローダミン 6G を選定し、組織切片にスポットした被験物質の濃度とローダミン 6G との MS 強度の比の間に正および負イオンモードともに高い直線関係 ($R^2 > 0.965$) が成立することを示している。アシル化アントシアニン摂取後の代謝物であるフェルラ酸を被験物質として SD 系ラットに対して単回経口投与し (50 mg/kg)、腎臓での蓄積量を本法により定量評価したところ、投与 15 分後においてフェルラ酸は腎盂、髄質、腎皮質の各部位に 18.5、4.9、1.3 $\mu\text{mol/g}$ 蓄積していること、腎盂では時間とともに蓄積量が激減すること (投与 30 分、11.5 $\mu\text{mol/g}$; 投与 60 分、1.5 $\mu\text{mol/g}$) を明らかにしている。

以上要するに、本研究は MALDI-MS 法に基づいてアシル化アントシアニン類の腸管吸収動態を可視化解明し、さらに定量評価可能なイメージング分析法として展開を図ったものである。ローダ

ミン 6G を用いた定量 MALDI-MS 法は、天然成分だけでなく MS 検出できる物質に対して定量的なイメージング解析が期待されることから、食品分析学および食品機能学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。