

質量分析法を駆使した、組織でのポリフェノール蓄積挙動の解明に関する研究

安部, 知純

<https://hdl.handle.net/2324/7182534>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :



氏 名 : 安部 知純

論文題名 : 質量分析法を駆使した、組織でのポリフェノール蓄積挙動の解明に関する研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

令和4年の日本総人口に占める65歳以上の人口は29%に達し、日本人の平均寿命は今後も延伸を続けると予想されている。一方で、健康寿命との間には約10年の差があり、社会保障費用の増大につながっている。したがって、社会構造の維持と若年層への負担軽減のために、健康寿命の延伸が求められる。

他方、ポリフェノールは特定保健用食品の関与成分としても知られる健康機能性の高い食品成分である。抗酸化能や抗炎症能を有し、生活習慣病予防効果を示すことから、日常的な摂取による健康寿命の延伸が期待される。近年のポリフェノール研究の進展に伴って、その代謝物の存在が明らかとなってきた。経口摂取したポリフェノールの多くは、吸収過程において消化管あるいは腸内細菌による代謝を受け、体内を循環する。また、植物が環境ストレスに曝された際にポリフェノールは抗菌物質フィトアレキシンへと代謝される。これらポリフェノール代謝物の健康機能性について関心が高まり、その代謝産生あるいは生体利用についてさらなる評価が求められている。質量分析(MS)法は、化合物イオンの質量数と電荷に基づいて、対象化合物を分離検出する分析法である。その検出感度の高さと特異性から、生体サンプルの分析に適しており、とりわけ時間飛行型質量分析(TOF/MS)法やマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析イメージング(MALDI-MSI)法は、ポリフェノールの生体内での代謝挙動の解析に適している。そこで本研究では、植物体で産生されるポリフェノール代謝物としてイソフラボン由来フィトアレキシンであるグリセオリン類を、ポリフェノール(フラボノイド類)摂取後に生じる腸内細菌代謝物として3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propionic acid (HMPA)を対象に、MS法を駆使した組織蓄積挙動の分析化学的評価を行った。

まず、MALDI-MSI法を活用し、麹菌(*Aspergillus oryzae*, *A. oryzae*)感作した大豆におけるグリセオリン類の産生挙動の可視化を試みた。超高速液体クロマトグラフィー(UPLC)-フォトダイオードアレイ(PDA)分析の結果、*A. oryzae*感作した発芽大豆では、イソフラボン類とグリセオリン類(glyceollin I, II, III)の含有量が増大した。そこで、*A. oryzae*感作大豆と非感作大豆の切片を調製し、MALDI-MSI分析を使用してイソフラボン daidzein とグリセオリン類(glyceollin I, II, III)の分布を評価した(daidzein [M-H]⁻: 253.0 *m/z*, glyceollins I/II/III [M-H]⁻: 337.1 *m/z*)。その結果、daidzeinは*A. oryzae*非感作/感作大豆の種子全体で検出され、イソフラボン daidzeinの組織内分布は*A. oryzae*感作によって影響を受けないことが示された。一方、グリセオリン類(glyceollin I, II, III)は*A. oryzae*感作大豆の種子表面のみで検出された。根の daidzein およびグリセオリン類は、種子と同様の分布特徴を示した。さらに、加熱処理で不活性化した*A. oryzae*を用いた処理でも大豆種子表面に限定的なグリセオリン類(glyceollin I, II, III)の産生が認められたが、根ではグリセオリン類(glyceollin I, II, III)は検出されなかった。以上より、大豆は*A. oryzae*の菌体壁を表皮の受容体で認識し、表皮に限定的な領域で代謝酵素の活性やタンパク発現を上昇させることで、グリセオリン類の産生を促進する可能性が明らかとなった。

次いで、LC-TOF/MS法を活用し、HMPAの体内利用性(吸収、代謝、組織蓄積)の評価を

試みた。10 mg/kg-B.W. HMPA 経口投与後の血中 HMPA 代謝物をスクリーニングした結果、HMPA と HMPA 硫酸抱合体 (HMPA-S)、HMPA グルクロン酸抱合体 (HMPA-GlcA) のみが検出された。そこで、それら代謝物の経時的な血中挙動を観察したところ、HMPA と HMPA 抱合体はいずれも経口投与後 15 min で最大血中濃度に達し、その後速やかに消失した。また、血中では HMPA 抱合体 (特に HMPA-S) が優勢であった (HMPA-S (59%) > HMPA (36%) > HMPA-GlcA (5%))。このことから、HMPA は経口投与後速やかに吸収と代謝 (特に硫酸抱合体化) を受け、体内を循環することが明らかとなった。次に、10 mg/kg-B.W. HMPA 経口投与後の臓器抽出液 (肝臓、心臓、肺、ヒラメ筋、胸部大動脈、腎臓) を LC-TOF/MS 分析した結果、HMPA およびその抱合体 (HMPA-S、HMPA-GlcA) が投与後 6 h まで検出された。このことから、HMPA は未抱合体としてだけでなく抱合体としても臓器に蓄積することが明らかとなり、ポリフェノール抱合体由来の生理活性を裏付ける知見が得られた。HMPA と HMPA 抱合体 (HMPA-S、HMPA-GlcA) の血中および臓器中蓄積量を算出した結果、HMPA は経口投与量の >1.2% が体内に吸収されることが判明した。以上より、HMPA は類似のモノフェノール酸類に匹敵する生体利用性を示し、未抱合体および抱合体 (HMPA-S、HMPA-GlcA) として循環系臓器で機能発現する可能性のある化合物であることが明らかとなった。

以上、本研究によって、大豆イソフラボンの代謝物であるグリセオリン類ならびに、フラボノイド類の腸内細菌代謝物である HMPA の植物体あるいは生体組織での蓄積挙動を、各種 MS 法を駆使することによって明らかにすることができた。本研究で可視化されたグリセオリン類の局在産生は、麹菌感作後のグリセオリン類の産生機構を予測する知見であり、グリセオリン類を豊富に含む高機能大豆開発の指針となりうる。また、本研究で明らかになった HMPA の生体利用性は、ポリフェノールの生体内機能の一端を代謝分解物である HMPA が担う可能性を示唆しており、ポリフェノール科学におけるエポックメイキングとなる知見が予見される。