

# フラボノイドの腸管輸送実態を指標とした 食品機能性・安全性評価の基盤解析

東京大学大学院農学生命科学研究科 食の安全研究センター

小林 彰子

## 1. 研究の目的と背景

ポリフェノールは生体内酸化ストレスを低減し、老化やがんを予防する可能性がある。近年、ポリフェノールを強化した栄養補助食品が多々開発されているが、これらを高濃度で摂取した際の生理機能性・安全性の閾値 (threshold) についてはほとんど検討されていない。経口摂取成分は消化管から生体内に取り込まれた後生理機能を発揮することから、消化管吸収機作を明らかにすることは有効性・安全性確保のために必須である。そこで本研究ではポリフェノールの詳細な腸管吸収機作を解明することを目的とした。

## 2. 研究の方法

消化管吸収機作の解析にはヒト結腸がん由来 Caco-2 を用いた。Caco-2 細胞は、トランズウエルの透過性フィルター上に播種し、2 週間以上培養すると、腸上皮様に分化する。我々は、ポリフェノールの中でもフラボノイドに着目し、フラバン、フラバノン、フラボン、フラボノール、フラバノール、アントシアニジン、イソフラボンなどに分類される、代表的かつ食品含有率の高い各種フラボノイドのアグリコンを入手し、Caco-2 細胞を用いた透過試験により腸管吸収機作を速度論的に解析した。また、受動輸送のみを観察することができる人工脂質膜 (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay, PAMPA) を用いてフラボノイドの受動輸送のみの吸収性を調べ、Caco-2 透過速度と比較した。またトランスポーター発現変化を調べるための各種フラボノイドの適正な濃度を明らかにするため、段階希釈した高濃度フラボノイドを添加した Caco-2 における毒性について MT アッセイ等を用いて測定した。

## 3. 研究内容

Caco-2 細胞においてフラバノンアグリコンが pH 依存型の高吸収性を示した。PAMPA による透過速度は化学計算ソフト (Marvin Sketch program : <http://www.chemaxon.com/marvin>) によって算出された logD 値と正の相関を示した。これらのフラバノンは PAMPA においても pH 依存型の透過性が観察され、計算ソフトによる分子型存在比より、これらの化合物は pH 分配仮説により速

やかに受動輸送されていることが示唆された。実際の消化管においても、消化管上皮細胞の管腔側では逆輸送体が存在するため、小腸の頂側膜には  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆輸送体があり、頂側膜近傍は消化管管腔内よりも低い pH (pH6.1 ~ 6.8) が維持されているため、これらのフラバノンは速やかに吸収されることが推定された。

## 4. 研究の実施経過

フラボノイドアグリコンの網羅的な吸収性スクリーニングまでは到達できた。現在、フラボノイド過剰摂取によるトランスポーター発現変化を精査するべく、各種フラボノイドの適正な濃度を明らかにするため、Caco-2 における毒性について MT アッセイ等を用いて測定している。

## 5. 研究から得た結論・考察

本研究の Caco-2 透過試験および PAMPA において高吸収性を示したフラバノンアグリコンは、実際の消化管においても pH 分配仮説に従い、速やかに消化管上皮細胞から吸収されることが推定されることから、これらを高濃度で摂取する際には注意が必要であることが考えられた。

## 6. 残された課題、今後の課題

本研究ではポリフェノールでもフラボノイドアグリコンについてのみ、吸収性スクリーニングを行った。今後はフラボノイド以外のポリフェノール、例えば、フラボノイド配糖体やクルクミン、カフェ酸等についても検討したい。また高濃度摂取における消化管トランスポーターの変動については現在進行中であり、今後も進めていく予定である。