

氏 名 (本籍)	あ 相	ざ 澤	こう 宏	いち 一
学 位 の 種 類	博	士	(薬	学)
学 位 記 番 号	薬	第	5 3 3	号
学位授与年月日	平	成	22 年 9 月 3 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当			
最 終 学 歴	平成 8 年 3 月 26 日 東北大学大学院薬学研究科 博士課程前期 2 年の課程修了			

学 位 論 文 題 目

野菜に含まれるカロテノイドの定量分析と特異的なカロテノイドを含むトマトと赤ピーマンの糖及び脂質代謝に与える影響に関する研究

論 文 審 査 委 員	(主 査) 教 授	大 島 吉 輝
	教 授	平 澤 典 保
	教 授	中 畑 則 道

論文内容要旨

野菜の摂取が疾病予防に有用であることは、様々な研究により明らかにされつつある。特に野菜に含まれる色素であるカロテノイドは、優れた一重項酸素消去活性を有することが確認されて以来、がんや生活習慣病などの様々な疾患に対し予防的に働くことが報告されてきた。著者は野菜中に含まれるカロテノイドに着目し、その定量分析と特異的なカロテノイドを含むトマトと赤ピーマンの新たな生理作用について検討を行なった。

まず、C30カロテノイドカラムを用いて日本の野菜70種類のカロテノイドの定量分析を行なった。α-Caroteneは、70種類の野菜の中で55種類に検出された。β-Caroteneは70種類の野菜すべてに、lycopeneはトマトと金時ニンジンに、capsanthinは赤ピーマンのみに含まれていた。Luteinは68種類、zeaxanthinは31種類、そしてβ-cryptoxanthinは12種類の野菜で検出された。国内においては70種類という多数の野菜のカロテノイド含量を一斉に分析した報告例はなく、本研究成果は国内でのカロテノイド研究のデータベースになり得るものと考えられる。さらに今回の分析により、トマトおよび金時ニンジンはlycopeneを、赤ピーマンはcapsanthinを特異的に高含有する興味深い素材であることが判明した。そこで、それぞれの素材の生体調節作用や有効成分の探索について更なる検討を行なった。

トマトや赤ピーマンの摂取による糖や脂質に関連する血中バイオマーカーや肝臓遺伝子発現への影響を確認する目的で、マウスにトマトジュース(TB群)、赤ピーマンジュース(PB群)および水(Cont群)を6週間自由摂取させた。体重はCont群と比較してTB群とPB群で有意に低い値を示した。またPB群では、血中HDL-コレステロール濃度の有意な上昇が確認された(Table 1)。そこで、肝臓の遺伝子発現への影響をDNAマイクロアレイによって解析した。その結果、TB群とPB群は、それぞれ687、1045種の遺伝子の発現が増加し、また841、653種の遺伝子の発現が低下した(FDR < 0.05)。更なる詳細な解析により、TB群ではグリコーゲンの蓄積と脂肪酸酸化が促進されることが示唆された(Figure 1)。またPB群では、糖や脂質の代謝全体を促進させ、血中の脂質組成を改善することが示唆された(Figure 2)。さらに、それぞれの群で認められた体重増加抑制は、トマトはSREBP-1cの抑制とPPARαの活性化に、赤ピーマンはPPARαの活性化のみに影響を受けている可能性が示唆された。

次に赤ピーマンの分画を行ない、それぞれの分画物を実験動物に摂取させることで、HDL-コレステロール上昇作用の有効成分の解明を行なった。ラットに赤ピーマン粉末、有機溶媒抽出物、その抽出残渣、精製したcapsanthinを含む飼料を2週間摂取させた。その結果、capsanthinを摂取させた群において、血中の総コレステロール、トリグリセリド濃度に顕著な影響を与えず、HDL-コレステロール濃度の有意な上昇が確認された。さらに、capsanthinを異なった濃度(Cont: 0 mg/kg 飼料; LOW: 160 mg/kg 飼料; HIGH: 320 mg/kg 飼料)で摂取させたところ、濃度依存的にHDL-コレステロール濃度が上昇し(Table 2)、肝臓中のcapsanthin濃度と血中HDL-コレステロール濃度の正の相関が確認された。

このことから、赤ピーマンに含まれるHDL-コレステロールを上昇させる主たる成分はcapsanthinであることが示唆された。さらに肝臓中のHDLの代謝に関連する遺伝子の発現を定量RT-PCRにて分析

Table 1. Metabolic parameters of mice given the tomato and paprika beverages^a

	Group		
	Cont群	TB群	PB群
摂水量 (g/日)	6.59 ± 0.53	6.45 ± 0.40	6.91 ± 0.49
試験開始時の体重 (g)	10.56 ± 0.28	10.21 ± 0.18	10.70 ± 0.38
試験中間時の体重 (g)	18.11 ± 0.21	17.25 ± 0.26	18.11 ± 0.27
試験終了時の体重 (g)	20.23 ± 0.11	17.00 ± 0.42**	18.80 ± 0.44*
相対肝重量 (g/100g 体重)	4.75 ± 0.05	4.25 ± 0.09**	5.01 ± 0.09
血漿インスリン濃度 (ng/mL)	0.40 ± 0.22	0.39 ± 0.20	0.50 ± 0.11
血糖値 (mg/dL)	124.0 ± 9.1	93.8 ± 9.6	106.5 ± 11.9
血漿アディポネクチン濃度 (mg/mL)	33.9 ± 1.2	35.5 ± 2.7	33.9 ± 1.7
血中脂質			
総コレステロール濃度 (mg/dL)	110.6 ± 4.0	119.9 ± 6.7	105.9 ± 6.7
トリグリセリド濃度 (mg/dL)	163.7 ± 9.4	161.5 ± 10.4	133.3 ± 12.4
HDL-コレステロール濃度 (mg/dL)	58.5 ± 2.4	67.8 ± 2.1	69.0 ± 3.7*

^aValues are means ± SEM, n=6. * and ** indicate differences from the Control group at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ by Dunnett's multiple comparison test.

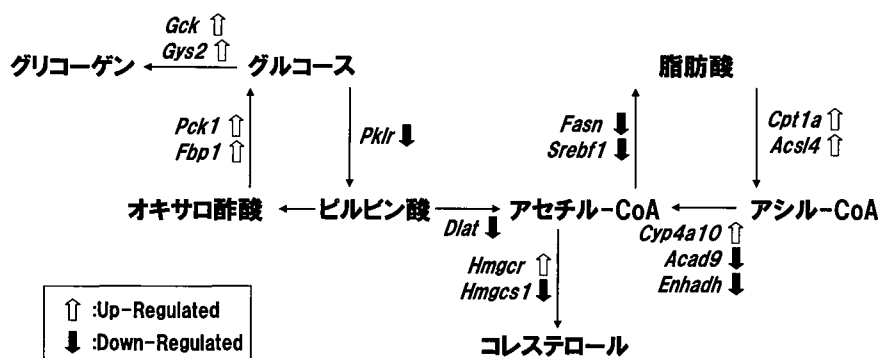


Figure 1. Summarized pathways of probable glucose and lipid metabolism in mouse liver affected by the ingestion of tomato beverage.

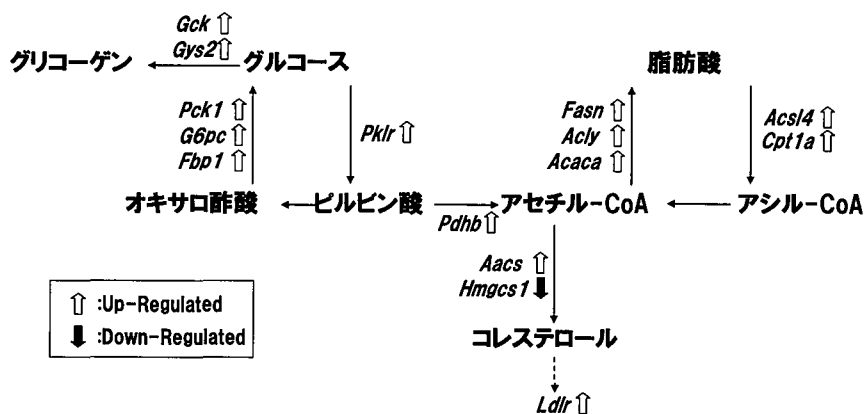


Figure 2. Summarized pathways of probable glucose and lipid metabolism in mouse liver affected by the ingestion of paprika beverage.

Table 2. Body weight, food intake, liver weight, plasma lipid contents and liver capsanthin concentration in rats fed low or high capsanthin containing diet for 2 weeks

	Cont	LOW	HIGH
試験終了時の体重 (g)	265.9 ± 13.8	262.0 ± 16.9	272.3 ± 16.2
体重増加量 (g)	103.8 ± 8.0	101.0 ± 12.5	109.3 ± 11.5
摂食量 (g/日)	23.7 ± 0.8	23.1 ± 1.6	23.8 ± 1.2
肝重量 (g)	7.3 ± 0.5	7.4 ± 1.1	8.1 ± 0.9
血漿総コレステロール濃度 (mg/dL)	73.7 ± 5.0	73.7 ± 3.4	78.6 ± 6.9
血漿HDL-コレステロール濃度 (mg/dL)	53.8 ± 3.0 ^b	63.1 ± 3.2 ^{a,b}	70.2 ± 3.9 ^a
血漿トリグリセリド濃度 (mg/dL)	72.7 ± 3.9	85.2 ± 11.7	91.1 ± 6.8
肝臓capsanthin濃度 (µg/g 湿組織)	0.00 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.03 ^b	0.23 ± 0.08 ^c

Meas ± S.D. (n=8), Different characters show statistant differences between the groups (P<0.05, ANOVA)

した。その結果, apo A5 および LCAT の mRNA の発現が有意に増加し, 他の HDL-コレステロールの代謝に関連する遺伝子には顕著な変化は認められなかった (Figure 3)。以上の結果より, capsanthin は apo A5 の増加や LCAT 活性の向上により, HDL 粒子へのコレステロールの流入を促進することで HDL-コレステロール濃度に影響を与えている可能性が示唆された。

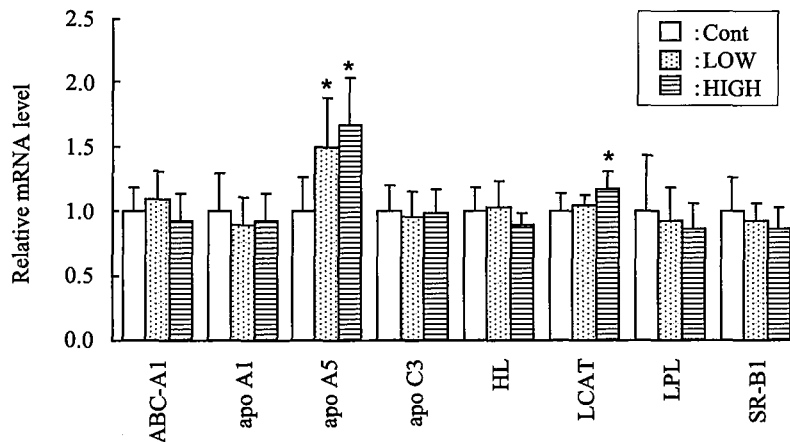


Figure 3. Quantitative analysis of liver mRNA of rats fed control diet (Cont), the low capsanthin containing diet (LOW) or the high capsanthin containing diet (HIGH) for 2 weeks. For each gene, the mRNA level is shown relative to its level in the Cont group (set as 1.0). Means ± S.D. (n=8). *P < 0.05 (ANOVA).

野菜は食として毎日摂取されており, 日々の健康の維持に何かしら有益な働きをしているものと思われる。様々な病態モデル動物に対し, 野菜やその成分がそれらの疾病に対し予防的に働くことに関する報告が多い中で, 本評価により, 野菜の摂取は正常な状態においても健康維持に機能していることが示された。さらに個々の野菜はそれぞれの利点を持ち, 異なったメカニズムで作用を示すことが明らかになった。野菜摂取の健康への有益性は疑う余地のないものであるが, 新たな機能や有用成分の探索は十

分ではないものと考えられる。このようなアプローチは予防医学的見地からも、医薬品につながるリード化合物を探索するといった見地からも極めて重要なものであり、本研究成果はその一端を担うものであると考える。

審査結果の要旨

疾病予防に役立つ天然成分の物質及び機能的知見を得ることは社会的に大きな意味を持つ。本研究は、野菜に含まれるカロテノイドに着目し、その分析と特異的なカロテノイドを含むトマト及び赤ピーマンの新たな生理作用について検討を行なった。

著者は、C30 カロテノイドカラムを用いて日本の野菜 70 種類のカロテノイドの定量分析を行ない、トマトおよび金時ニンジンには lycopene, 赤ピーマンには capsanthin というカロテノイドが特異的に高い濃度で含有される興味深い素材であることを明らかにした。70 種類もの野菜に含まれるカロテノイドの一斉分析は国内では行なわれていない。したがって、本成果は、今後のカロテノイド研究の重要なデータベースになり得ると考えられる。

次いで、著者は、特異的なカロテノイドが含まれる野菜であるトマトと赤ピーマンの生体調節作用を検討し、さらに有効成分を探索した。すなわち、トマトや赤ピーマンジュースの摂取による糖及び脂質に関連する血中バイオマーカーや肝臓遺伝子発現への影響をマウスを使って検討した。その結果、赤ピーマンジュースには血中 HDL-コレステロール量の有意な上昇作用が確認された。両ジュースの肝臓の遺伝子発現の解析によると、トマトジュースではグリコーゲンの蓄積と脂肪酸酸化が促進されることが示唆され、一方、赤ピーマンジュースでは糖や脂質の代謝全体が促進され、血中の脂質組成が改善されることが示された。

次に、著者は赤ピーマンの活性成分の探索を行ない、capsanthin を活性物質として同定した。Capsanthin は血中の総コレステロール、トリグリセリド濃度に顕著な影響を与えずに HDL-コレステロール濃度を有意に上昇させた。さらに肝臓中の HDL 代謝の関連遺伝子の発現を分析したところ、capsanthin は apo A5 の増加や LCAT 活性の向上により HDL 粒子へのコレステロールの流入を促進することで HDL-コレステロール濃度に影響を与えている可能性が示された。

薬食同源といわれるように、食材は我々の健康維持にとってきわめて大切である。しかし、食材の機能や有効成分の探索は十分に行われているとはいえないのが現状である。本研究により、野菜の摂取は正常な状態においても健康維持に有用な役割を有していることが示された。本研究で得られた結果は、予防医学からも、あるいは医薬品開発のためのリード化合物を探索からも極めて重要である。

よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として十分に価値のあるものと判断されるので、合格と認める。