

フラボノイドの生体における抗酸化的作用

静岡県立大学食品栄養科学部 下位香代子

1. はじめに

フラボノイドは、 $C_6-C_3-C_6$ （左より A, C, B 環）の骨格を有するポリフェノール化合物であり、4,000 以上もの種類がある。B 環の結合位置、C 環中の二重結合の有無、C 環の開閉、各環に結合する水酸基の数や位置などにより、フラボン、フラボノール、イソフラボン、カテキン、カルコン、アントシアニンなどに分類される。蘚苔類より高等な陸上植物に存在し、葉をはじめ、根、莖、花、果実、種子などあらゆる器官に存在する。フラボノイドの多くは、グルコースやラムノースが結合した配糖体として存在しているが、葉表面のワックス、蕾、種子などには糖が結合していないアグリコンが多い。

植物におけるフラボノイドの生理機能としては、葉における太陽光中の紫外線防御、受粉の際の昆虫の誘引、花粉管の発芽、植物体内に侵入する細菌に対するファイトアレキシンとしての抗菌作用、酸化抑制、植物-微生物間の相互シグナルなどが報告されている。一方、フラボノイドの生体におよぼす作用としては、古くから脆弱化した毛細血管の補強作用（1936 年）やストレプトゾトシン誘発糖尿病性白内障の抑制作用（1977 年）などが知られていた。近年、*in vitro* 試験系において、抗アレルギー・炎症作用、キナーゼ、P450 依存酵素、逆転写酵素などの酵素阻害作用、抗酸化作用、抗変異原作用、細胞周期抑制作用、悪性腫瘍細胞（乳癌、大腸癌、白血病等）の増殖抑制作用、食細胞の活性化作用など多くの作用が示された。また、動物実験においても乳癌や大腸癌に対する発癌抑制作用や糖尿病発症抑制作用が報告された。

このように、フラボノイドは多機能性を有するため、癌をはじめ動脈硬化、虚血性心疾患等の疾病予防の観点から機能性食事成分として注目されるようになった。

2. マウスにおける生体内抗酸化性

癌や動脈硬化等の疾病の進展原因として、活性酸素・フリーラジカルによる酸化ストレス亢進に伴う組織障害が示唆されている。そこで、消化管より吸収されたフラボノイドが生体内で抗酸化性を発揮しうるのかどうか検討することは重要である。

しかし、フラボノイドの生体内抗酸化性に関する報告は少ない。我々は、水溶性のフラボノイドである α G-ルチンが非常に早く吸収され、血中濃度が30分後には最高になることがわかったので、これをモデル化合物として以下の実験を行った。

鉄ニトリロ三酢酸 (Fe-NTA) は、マウスやラットの腹腔内に投与すると腎近位尿細管においてフリーラジカルを生成して壊死をおこし、さらに腎癌を誘発することが知られている。Fe-NTA を腹腔内投与後、急性毒性として腎臓における脂質過酸化度(TBARS 値 : thiobarbituric acid reactive substances)を測定し、また、亜急性毒性として核の形態的異常を伴った腎尿細管細胞の出現率と生残率を調べ、 α G-ルチン投与群と非投与群とを比較した。Fe-NTA 投与1時間後に腎臓のTBARS 値は最も高値となったが、Fe-NTA を投与してから30分後に α G-ルチンを投与するとTBARS 値の低下が見られた。しかし、この抑制作用は α G-ルチンの投与時間によっては見られず、Fe-NTA が腎臓で作用している時に α G-ルチンの血中濃度が高いほど抑制効果が見られることを示唆した。また、Fe-NTA の連続投与による核の形態的異常を有する腎尿細管細胞の出現率が、 α G-ルチンを投与すると抑制され、生残率も回復することがわかった。

一方、多くの *in vitro* 試験系によりフラボノイドが強力な抗酸化性を有することが明らかにされ、その作用機序として、①フリーラジカルの捕捉作用、②金属イオンとのキレート作用、③脂質過酸化連鎖反応の停止作用などが考えられている。そこで、*in vitro* 試験系において、 α G-ルチンがリノール酸メチルの脂質過酸化を抑制することをTBA法により、 α G-ルチンが鉄とキレートすることをUV吸収スペクトルにより、さらに、Fe-NTA/ H_2O_2 系で産生されるヒドロキシルラジカルに対して消去作用を有することをESR-スピントラッピング法により確認した。

以上の結果から、生体内に吸収された α G-ルチンが、腎臓中でFe-NTAによる酸化障害に対してキレート効果もしくはラジカル消去効果により抑制作用を示すものと思われた。さらに、マウスにおいては、生体内でフリーラジカルを生成する放射線やアドリアマイシン(抗がん剤)による骨髄の脂質過酸化や骨髄細胞における染色体異常誘発に対しても防護効果を有することが明らかとなり、フラボノイドの中でもルテオリンが最も強い効果を示すことがわかった。

3. ヒトにおける摂取量と血中動態

我々は、日常、野菜、果物、茶、ワイン、ジュースなどからフラボノイドを摂取しているが、ヒトにおけるフラボノイドの機能性を評価するためには、我々が毎日どのくらい摂取して、どのくらいがどのように体内にとりこまれているのかを調べることは重要である。Hertog らは、オランダで消費されている 28 種類の野菜、9 種類の果物および飲料中のフラボノール (quercetin, kaempferol, myricetin) とフラボン (luteolin, apigenin) の含量を HPLC を用いて定量し、オランダの食品消費量調査に基づいてこれらフラボノイドの摂取量をすべてアグリコンとして算出した。その結果、平均して毎日 23 mg 摂取していることを、そして、そのうち 16 mg がケルセチンであることを明らかにした。また、de Vries らはオランダ人およびオランダに住んでいる 14 カ国の外国人ボランティアに聞き取り調査を依頼し、フラボノールとフラボンの摂取量を算出した。平均すると 27.6 ± 19.5 mg/day であり、個人差があること、また、オランダ人が摂取量が多いことを示した。

では、我々日本人はどのくらい摂取しているのでしょうか。それを調べる目的で、静岡県立大学食品栄養科学部 3 年生の集団給食の実習を利用して 7 種類の各献立に含まれる 8 種のフラボノイド (rutin, myricitrin, quercetin, myricetin, fisetin, kaempferol, luteolin, eriodictyol) 含量を HPLC 法によりアグリコンとして定量した。その結果、各献立には 5 ~ 30 mg のフラボノイドが含まれており、和洋中を問わず食材により含量に差があることがわかった。一日 3 食として多くても 90 mg、少なければ 10 mg 前後を我々は毎日摂取しているものと推定される。ハッシュドビーフの献立が最もフラボノイド含量が高かったことを考えると、野菜を煮込んで加熱抽出するような調理法がフラボノイドを多く摂取するにはいいと思われる。なお、個々の野菜、果物、茶中のフラボノイド含量を同様に調べたところ、茶が単位グラムあたりの含量としては最も多いフラボノイドの供給源であることがわかった。

1975 年に Gugler らがカプセル入りのケルセチンをヒトに投与して血中レベルを調べ、検出されないことを報告したが、現在では微量分析技術が進歩し、マウス、ラット、ヒトにおいてフラボノイドが吸収されることが示された。また、以前は、配糖体は腸内細菌によりアグリコンと糖に分解され、アグリコンが吸収されると考えられていたが、最近、Hollman らはタマネギの摂取によりケルセチンの配糖体が

ヒトの腸管から吸収されることを報告している。我々は、健常者 3 名（男：53 歳、女：22、42 歳）に、アグリコンとしてケルセチン 60.8mg、ケンフェロール 11.4mg を含む植物性食品（オニオンスープ：玉葱 243.8g、パセリ 6.8g；インゲン豆のソテー：22.4g；茹でた枝豆：63.7g；野菜缶ジュース：1 缶、190g；フランス産赤ワイン：50ml）を食してもらい、食前と食後 0.5、1、2、5 時間後に採血し、HPLC 法により血中動態を調べた。ケルセチンと保持時間が一致するピークが検出され、血漿中の濃度は $<0.1 \mu\text{g/ml}$ plasma であり、食後 30 分から 1 時間後に最大となり、徐々に血中より消失することがわかった。

フラボノイドは、生体内特に肝臓中で抱合反応を受けることが報告されており、今後、抱合体についても明らかにし、また、HPLC で検出されたピーク成分について LC-MS による分析を行う必要がある。

4. 疾病予防の可能性

ヒトに対する作用としては、フィンランドの Aldercreutz らが、尿中にフラボンやイソフラボンが多く存在する集団ほどホルモン依存性の癌（乳癌等）による死亡率が低いこと、および、イソフラボンの尿中排泄量と大豆食品の消費量との間に正の相関性があることを示した。また、オランダの Hertog らは日本を含む 7 カ国にわたる疫学調査により、フラボノイド摂取量が多いほど冠動脈心疾患による死亡率が低いこと、さらに、オランダ東部の Zutphen における調査において、下記に示す方法でフラボノイド摂取量を算出し、1 日 19mg 以上の摂取群は 19mg 未満の摂取群に比べ、心疾患になる危険率が 1/3 であることを示した。

現在、日本では心疾患による死亡率が上昇している。また、糖尿病患者数も増加しており、その多くが動脈硬化、白内障などの合併症に苦しんでいる。虚血性心疾患の発症に動脈硬化が深く関わっているが、その動脈硬化促進因子として酸化 LDL が重要な作用をしていると言われている。フラボノイドの LDL 酸化抑制作用については非常に多くの *in vitro* 試験系の報告があり、ケルセチンの有効濃度は $0.1 \mu\text{g/ml}$ 前後と報告されている。血中濃度から推察すると、血管内膜への移行を考慮する必要があるが、血管内で抗酸化性を発揮する可能性はあると考えられる。また、血清の抗酸化性を ORAC-assay (Oxygen-radical absorbance capacity assay) により検討したところ、抗酸化性が低下している喫煙者および糖尿病患者

の血清にルテオリンや α G-ルチンを添加すると抗酸化性の回復が見られた。従って、血液の抗酸化性にこれらフラボノイドが一役担っている可能性が示唆された。

我々は常に酸化ストレスにさらされているが、幸い、生体内には抗酸化酵素や抗酸化物質が存在し、酸化的障害を防御している。しかし、酸化ストレスが亢進し、生体防御系が破綻するとさまざまな疾病が引き起こされる。そのような状態にならないようにするためには、日常、抗酸化物質を食品から摂取することをこころがけることが肝要である。食品中の抗酸化物質のひとつとしてフラボノイドに注目したが、疾病予防を可能にするためには、フラボノイドを含む植物性食品を食事のたびに摂取し、フラボノイドの血中濃度を維持することが大切であると考え。多からず、少なからず、生体にとって至適な有効濃度があるであろうことを忘れてはならないのではないだろうか。

5. 文献

- 1) Shimoi, K., et al., *Carcinogenesis*, 15, 2669-2672(1994).
- 2) Shimoi, K., et al., *Mutat. Res.*, 350, 153-161(1996).
- 3) Shimoi, K., et al., *Food Factors for Cancer Prevention*, ed. Ohigashi, H., et al., pp.617-622, Springer-Verlag, Tokyo, Japan (1997).
- 4) Shimoi, K., et al., *Jpn.J.Cancer Res.*, 88, 453-460(1997).
- 5) Sadzuka, Y., et al., *Toxicol.Lett.*, 92, 1-7(1997).