

氏 名 : 館 花 春 佳
学 位 の 種 類 : 博士 (健康科学)
学 位 記 番 号 : 研博第 53 号
学位記授与年月日 : 令和 3 年 3 月 10 日
学位授与の要件 : 学位規則第 4 条 1 号該当
論 文 題 目 : リンゴ果汁によるアスコルビン酸吸収増強の作用機序に
関する研究
論文審査委員 : 主査 今 淳
副査 井 澤 弘 美
副査 内 沢 秀 光

論 文 内 容 の 要 旨

I. 研究の意義・目的

アスコルビン酸 (AsA) などの水溶性ビタミンは、ヒトに必須の栄養素でありながら、体内保持が困難であるという課題がある。また、特に高齢者では、成人に対し AsA の要求量が成人よりも高い可能性があるという報告も見受けられる (Brubacher D *et al.* 2000.)。高齢化が進む我が国において、AsA の吸収・体内保持の増強の解明は社会的に求められている。AsA の吸収率は 200 mg/日程度までは 90%であるが、1 g/日以上になると 50%以下となることが知られており (Levine M *et al.* 1996.)、体内 AsA 量を増加させるためには、摂取量を増やすだけでなく、吸収能を亢進させる必要がある。しかし、水溶性ビタミンの吸収増強の方法についての報告はほとんどない。

一方で、リンゴ含有飼料を摂取させたラットやモルモットにおいて血中・肝臓・副腎の AsA 濃度が高値を示した報告がある (Renee SA *et al.* 1991.)。したがって、リンゴの摂取は、生体内における AsA の蓄積を促進している可能性が期待される。しかし、AsA の体内への蓄積が吸収増強によるものか、あるいは排泄抑制によるものかなどの機構の詳細な解析は全く行われていないのが現状である。以上の背景から、本研究では、リンゴの代替品としてリンゴ果汁 (Apple juice : AJ) を用い、AJ 摂取により AsA の体内蓄積が促進するのか、またその機構はどの様になっているのか、詳細を解析することを目的とした。

II. 研究方法

研究 1 : リンゴ果汁摂取による AsA の体内保持への影響

ODS 雄性ラットに 2 g/L の AsA 溶液 (control 群) と総 AsA 濃度を 2 g/L とした 2% AJ

溶液（AJ群）を飲料水として自由摂取させ、2または10週間飼育後に解剖し、採血・臓器摘出しAsA濃度を測定した。

研究2：リンゴ果汁摂取によるSVCT1発現への影響

研究1と同条件でODSラットにAsA溶液（control群）とリンゴ果汁溶液（AJ群）を投与し、10週間飼育後に小腸を摘出した。小腸は十二指腸、空腸および回腸の3部位に分け、各部位におけるAsA濃度とSVCT1タンパク質発現量を測定した。AsA濃度はHPLCにて、SVCT1タンパク質発現量はウエスタンブロット法にて測定した。

研究3：リンゴ添加によるヒト小腸モデル培養細胞のAsA吸収・SVCT1発現に対する影響

AJ（0～100%）とAsA（0.01～0.1mM）の存在下でヒト結腸がん由来細胞株Caco-2を培養（～24時間）した。細胞を透過したAsA量は、専用インサートを用い細胞管腔側と基底膜側の培養液中のAsA濃度をHPLCによって測定した。細胞中のSVCT1タンパク質発現量はウエスタンブロット法にて測定した。

III. 結果・考察

研究1：リンゴ果汁摂取によるAsAの体内保持への影響

AJ群の血中AsA濃度はcontrol群に対して有意に高値を示した。またAsAの尿中排泄量についても、control群では時間依存的に増加傾向が認められたが、AJ群ではその傾向が認められなかった。さらに小腸各部位のAsA濃度を測定したところ、十二指腸及び回腸では各群間に統計学的有意差は見られなかったものの、空腸ではcontrol群に比べてAJ群で有意に高値を示した。以上から、AJの摂取によって小腸でのAsAの吸収が高まる可能性を見出した。

研究2：リンゴ果汁摂取によるSVCT1発現への影響

小腸各部位のSVCT1タンパク質発現量を測定したところ、各群間に統計学的有意差は見られなかったものの、空腸ではcontrol群に比べてAJ群のSVCT1発現量が高値傾向であった。また小腸各部位のAsA濃度とSVCT1タンパク質発現量には有意に強い正の相関関係があることが示された。このことから、空腸でのAsA濃度増加には、SVCT1タンパク質の発現が寄与していることが示唆された。

研究3：リンゴ果汁添加によるヒト小腸モデル培養細胞のAsA吸収とSVCT1タンパク質発現量に対する影響

Caco-2細胞を用いて、リンゴ果汁の有無によるAsAの細胞透過への効果を検討した。AsA溶液単独添加（control群）、あるいはAsAとリンゴ果汁の混合溶液を添加（AJ群）し、0～24時間後の培養液のAsA濃度を測定した。結果、リンゴ果汁の存在下でAsAの細胞内取

り込み及び細胞外への放出が増加することが明らかとなった。したがって、Caco-2 細胞において、リンゴ果汁には AsA 透過を促進する作用があることが示された。

IV. 結論

AJ には *in vivo* と *in vitro* の両方において、小腸細胞への AsA 取り込みを促進する作用があることが明らかとなった。また、*in vivo* での検討により取り込まれた AsA は体内の各組織に効率的に蓄積していることが明らかとなった。メカニズムとしては、腸管の AsA トランスポーターである SVCT1 が関与している可能性が示唆された。本研究により、AJ 摂取は AsA の体内蓄積を促進するという新たな知見が見出された。

論文審査結果の要旨

本研究は、リンゴ果汁がアスコルビン酸（ビタミン C）の吸収を増強させる効果があることを明らかにしたものであり、以下の新規知見を得た。①実験動物を用いた研究で、リンゴ果汁を摂取させることにより、血中アスコルビン酸濃度が高まり、腸管からの吸収が増強することを明らかにした。②ヒト腸管由来の培養細胞を用いた研究でも、培養液へのリンゴ果汁の添加で細胞がアスコルビン酸の吸収を増強させたことを明らかにした。

本論文は、吸収増強作用機序の全容解明までには至らないものの、研究の背景、目的、実験の条件検討および研究結果に対する考察が、論理的に明確に記載されている。

したがって、本論文は新規性があり、学術的意義が高いと判断し、博士（健康科学）の学位論文に値すると認める。