総説

食品素材としてのポリフェノール・アントシアニンの摂取と血清脂質濃度

Effects of polyphenols and anthocyanins ingestion as food components on the serum lipid levels

五十嵐 喜治

山形大学農学部生物資源学科, 〒997-8555 山形県鶴岡市若葉町 1-23, Tel. 0235-28-2864, Fax. 0235-28-2812, e-mail: igarashi@tdsl.tr.yamagata-u.ac.jp

Kiharu Igarashi

Department of Bioresource Engineering, Faculty of Agriculture, Yamagata University, 1-23, Wakaba-machi, Tsuruoka-shi, Yamagata 997-8555, Japan

Summary

Effects of polyphenols including anthocynins, which are distributed in many food products, on serum lipid levels were investigated in relation with their chemical structures in rats. Astibin and its aglycone, taxifolin which are major components in Koki-cha (processed from leaves of *Engelhardtia chrysolepis*), amperopsin which is a major flavonoid in To-cha (processed from the stems and leaves of *Ampelopsis grossedentata*), Ruburobrassicin (an anthocyanin contained in red turnips), Nasunin (a major anthocyanin in eggplants), and quercetin showed suppressing effects on elevating serum cholesterol levels and on the atherogenic index in the rats fed a cholesterol-enriched diet. Astilbin and taxifolin with a dihydroflavanol structure showed slightly stronger effects on cholesterol-lowering effects in comparison with flavonol such as quercetin. As the cholesterol-lowering effects of isorhamnetin and rhamnetin were almost equal with quercetin, it was suggested that the substitution of the hydroxyl group at 3 or 7 position of quercetin with the methoxyl group did not affect the serum cholesterol level. An increase in fecal excretion of bile acids in rats fed these polyphenols suggested that polyphenols increase fecal excretion of bile acids which is a factor in decreasing serum cholesterol level and the atherogenic index in the rats fed a cholesterol-enriched diet.

Keywords: polyphenol, anthocyanin, cholesterol-lowering effect, atherogenic index

1. はじめに

ガン、脳卒中、心臓病の三大成人病のほか、高血圧性疾患、腎臓病、糖尿病、高脂血症、アルコール性肝疾患、歯周病、骨粗鬆症などはその発症に食生活、飲酒、喫煙、運動不足などの生活習慣が大きく関わっていることが指摘されており、最近では生活習慣病とも言われるようになった。栄養素の過剰摂取では、潜在的過剰状態から過剰症を生じ、さらには成人病へと進行することが、また、摂取する栄養素の偏りでは潜在的欠乏状態から欠乏症を引き起こし、感染症、貧血、歯周病、骨粗鬆症などの疾患を引き起こすことなどが指摘されている。このようなことから日常摂取する食品の摂取量と摂取様式、食品の質は生活習慣病の予防面から重要と考えられるようになり、多くのヒトによって注目されるようになったと言えよう。

高脂血症では、血中の LDL(低密度リポタンパク質)-コレステロールの上昇を伴っている場合が多く、体内で生成した活性酸素種による LDL の過酸化が原因の一つとなる動脈硬化を生じやすいことが明らかにされている¹⁾。従って、血中コレステロール値の異常な上昇の抑制は高脂血症が原因の一つとなる動脈硬化を予防する面でも重要と考えられている。このような視点に立ち、これまでに血中コレステロールの上昇抑制作用を示す食品素材・成分の探索が盛んに行われてきた。とくに大豆はコレステロール低下作用を示す食品素材として注目され、その効果には、大豆タンパク質のアミノ酸組成の特徴、例えば大豆タンパク質に多く含まれるアルギニンを介したグルカゴンの分泌刺激とそれに伴う肝臓の 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル (HMG) CoA 還元酵素の活性低下^{2,3)}、また、大豆タンパク質の低ロイシン含量によるインスリン分泌低下とそれに伴う HMG CoA-還元酵素の活性低下などが関わっている可能性が指摘されている。その他、大豆タンパク質には難(未)消化性のタンパク質・ペプチドが存在し^{4,5)}、それが胆汁酸の腸肝循環を阻害し、結果として腸管腔において不足する胆汁酸を補うため肝臓でのコレステロールからの胆汁酸の合成が促進し、肝臓コレステロールプールが低下して血清のコレステロールが低下することなどが指摘されている。また、ペプチドが LDL レセプターの up regulate を引き起こし⁶⁾、血中から細胞へのコレステロールの取込みを促進して、血清コレステロール濃度を低く維持する可能性なども指摘されている。

筆者らはこれまでにタンパク質とは異なる、また食品素材・生薬などに含まれることが多いポリフェノール (Fig. 1) に注目し、その血清脂質とくにコレステロール濃度への影響についてポリフェノールの構造との関連において研究を行ってきたので紹介する。

2. 黄杞茶・藤茶

黄杞茶はクルミ科の黄杞の葉から調製したものであり、アスチルビン(Astilbin) とその立体異性体 (イソアスチルビン、ネオアスチルビン、ネオイソアスチルビン) な

Fig.1 Chemical structures of flavonoids and their aglycones distributed in foodstuffs

ど多くのジヒドロフラボノールが含まれている⁷⁾。黄杞茶エキス（加熱メタノール抽出後、メタノールを除去して調製したもの）を 0.5% コレステロール添加食に 0.2% の割合で添加し、15 日間ラットに給与すると血清総コレステロール濃度の低下傾向、HDL-コレステロール濃度の上昇を見い出すことができる⁸⁾ (Fig. 2)。一方、アスチルビン、およびそのアグリコンのタキホリンをそれぞれ、飼料中 0.074%、0.05 %（モル数としてアスチルビンと当量）の割合で添加し、コレステロール無添加食に添加して 10 日間、ラットに給与すると、血清総コレステロール濃度、HDL-コレステロール濃度にはほとんど差がみられないが、アスチルビン、タキホリン添加群において、血清および肝臓のチオバルビツール酸反応生成物（TBARS）に低下がみられる⁸⁾ (Table 1)。これらの結果は黄杞茶エキスに多く含まれるアスチルビンがコレステロ

Fig.2 Changes in serum lipid levels in rats fed Koki-tea extract

Hot methanol- soluble fraction of Koki-tea (leaves of *Enelhardita chrysolepis*) was added to a cholesterol-enriched diet with 0.5% cholesterol at a level of 0.2%, and fed to male Wistar-strain rats (initial body weight:60g) for 15 days. Chol:cholesterol. * $p < 0.05$ versus control. Mizutani et al., Gekkann Fu-do Kemikaru (Food Chemicals), 1995-9:49-57, 1995.

Table 1. Effects of dietary astilbin and taxifolin on the serum cholesterol and lipoperoxides levels.

	Control group	Astilbin-added group	Taxifolin-added group
Serum total cholesterol (mg/dl)	82.0 $\pm$ 2.5	78.5 $\pm$ 3.7	81.4 $\pm$ 2.5
Serum HDL-cholesterol (mg/dl)	57.0 $\pm$ 1.3	56.3 $\pm$ 3.2	58.2 $\pm$ 2.2
Serum TBARS (nmol/ml of blood)	2.16 $\pm$ 0.16	1.77 $\pm$ 0.02*	1.66 $\pm$ 0.25
Liver TBARS (nmol/g of liver)	72.5 $\pm$ 5.0	53.4 $\pm$ 8.1*	54.3 $\pm$ 6.7*

Basal diets with 0.075% astilbin and 0.05% taxifolin (equal to astilbin on molar basis) were fed to male Wistar-strain rats (5 weeks olds, initial body weight, 90g) for 10 days before collection of the blood. * $p < 0.05$ versus the control group. Igarashi et al., Biosci Biotech Biochem, 60:513-515, 1996.

ール過剰食を摂取している場合には、コレステロールの上昇に抑制的に働く可能性、また、通常食の場合は、低密度リポタンパク質 (LDL) の過酸化を抑制する可能性を示している。

アスチルビンによる効果が、アスチルビンから、腸管腔において、あるいはその吸

収後、加水分解を受けて生成したアグリコン、すなわちタキシホリン (Taxifolin) によって発現されている可能性を想定し、タキシホリンの給与に伴う血清脂質への影響について、タキシホリンの 2, 3 位間が二重結合に置き換わったケルセチンと比較しながら検討した。コレステロール添加食への 0.1 % 添加では、血清総コレステロール濃度が低下傾向、HDL-コレステロール濃度が上昇の傾向を示し、動脈硬化指数ではタキシホリン給与で有意な上昇、ケルセチン給与で低下の傾向を示した (Fig. 3)。糞中コレステロールおよび糞中胆汁酸排泄量を測定すると、タキシホリン、ケルセチン給与ラットが高い傾向を示した⁹⁾ (Fig. 3)。この結果は、タキシホリンおよびケルセチン給与に伴う動脈硬化指数の改善が過剰に摂取したコレステロールの吸収阻害と、通常腸肝循環によって再利用される胆汁酸の利用阻害などによって発現されていることを示している。タキシホリンではコレステロール無添加食のラットへの給与でも血

Fig.3 Changes in serum cholesterol levels and the amounts of fecal steroids by ingestion of taxifolin and quercetin

Taxifolin and quercetin were added to diets with 0.5% cholesterol at a level of 0.1%, respectively, and fed to male Wistar-strain rats (4 weeks old, initial body weight:60g) for 21 days. * $p < 0.05$ versus control. Con, control group, Taxi, taxifolin-added diet group; Quer, quercetin-added diet group. Itaya et al., Biosci Biotech Biochem, 56:1492-1494, 1992.

清コレステロール濃度に低下の傾向がみられ、コレステロール代謝への影響を介して効果を発揮する場合も若干、考慮される¹⁰⁾。コレステロールの吸収阻害、胆汁酸の再利用阻害の点では、フラバボノール骨格の 2, 3 位間が還元タイプ (タキシホリン

のようなジヒドロフラボノール)の方が優れていることが窺える。

タマネギなどに配糖体として多く含まれるケルセチン (Quercetin)、アツミカブ (山形県温海町で古くから栽培されている赤カブの一種) に配糖体として多く含まれているイソラムネチン (isorhamnetin)、ラムナスに配糖体として含まれているラムネチン (Rhamnetin) は化学構造上密接に関連しており、イソラムネチンではケルセチンの 3,1 位の水酸基がメトキシル基に、ラムネチンでは 7 位の水酸基がメトキシル基に置換されている。こらら 3 種のフラボノールをそれぞれコレステロール添加食に 0.1% の割合で添加し、ラットに 10 日間給与するといずれの群の血清コレステロール濃度も、対照群に比べて低い値を示し、動脈硬化指数では低下の傾向を示す。しかしなが

Fig.4 Changes in serum cholesterol level and atherogenic index in rats fed quercetin and its related compounds

Isorhamnetin and rhamnetin were added to cholesterol-enriched diets with 0.5% cholesterol, and fed to male Wistar-strain rats (4 weeks olds, initial body weight:68g) for 10 days. Con, control group; Iso, isorhamnetin-added diet group; Rham, rhamnetin-added diet group; Quer, quercetin-added diet group. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. Igarashi et al., Biosci Biotech Biochem, 59: 595-601, 1995

ら、3 種間における効果には違いがみられない¹⁰⁾ (Fig. 4)。これらの結果はケルセチン骨格を有するフラボノールアグリコンにおいては、ケルセチン骨格の 4' 位または 7 位の水酸基のメトキシル基での置換は、それらの効果にほとんど影響しないことを示唆している。

藤茶は別名、甜茶とも呼ばれており、ブドウ科に属する多年生植物である。中国南部地域（福建、広東、湖南など）、台湾などに自生している。その葉部を古来より民間薬、健康茶として利用している。乾燥葉には、葉表面に結晶の析出が見られるほど、アンペロプシン (Ampelopsin) が多く含まれている。アンペロプシンではアスチルビンの 5' 位に水酸基が加わった構造をしており、アスチルビンの B 環がカテコール構造をとるのに対し、ピロガロール構造をとっている。コレステロール過剰食におけるアスチルビンとタキシホリンのコレステロール上昇抑制作用を考慮すれば、構造類似のアンペロプシンにも効果が期待でき、その検討を藤茶熱水抽出エキス、アンペロプシンを用い、ラットにおいて検討した。コレステロール無添加食では、エキス、アンペロプシンによる血清総コレステロール値、動脈硬化指数に低下がみられなかったが、コレステロール添加食では、血清総コレステロール濃度の上昇の抑制または抑制傾向、動脈硬化指数の上昇の有意な抑制が見られた (Fig. 5)。これらの結果はアンペロプシンもアスチルビン、タキシホリンと同様にその、過剰なコレステロールの吸収抑制、胆汁酸の排泄促進による肝臓コレステロールプールの低下作用などによって効果を発現していることを示唆している¹¹⁾。

ジヒドロフラボノール、フラボノールは多くの食品素材に含まれていることから、日常の食生活を通して、コレステロール濃度を改善できる可能性もある。ワインポリフェノールの摂取による酸化型コレステロールの吸収阻害¹²⁾、リンゴポリフェノールによる血清コレステロール低下作用なども報告されており¹³⁾、これらの報告は食事性ポリフェノールと血清コレステロール濃度との関連で興味深い。

3. アントシアニン

アントシアニンはそのアグリコン部分が C6-C3-C6 構造を持つことから、広義にはフラボノイドに属する。1 位の酸素がオキシニウム酸素のため、酸性領域では赤～紫色を呈し、赤～紫色を有する多くの果菜類に見い出することができる。広義のフラボノイドに属することから、フラボノイドにおいて見い出されている各種生理機能が期待されるところであるが、実際は果菜類の色調から期待できるほど多量なアントシアニンが含まれていないこと、また、その分離・構造解析技術が 10 数年前までは容易でなかったことから、十分な検討が行われなかったと言える。アントシアニンを容易に吸着可能な樹脂の開発、高性能な分析・分取 HPLC 用カラムの開発によって、比較的容易にアントシアニンが単離可能となり、各種機能解析が可能となった。

筆者らは山形県温海町において古くから焼き畑農業によって栽培されているアツミカブ（赤カブの一種）に含まれるアントシアニンに注目し、その分離と血清脂質濃度に及ぼす影響について検討を行った。シアニジン 3-O-ジグルコシド、5-O-モノグルコシド（ルプロブラッシン）、あるいはシアニジン 3-O-、5-O-ジグルコシドとシアニジン 3-O-グルコシドの 2 種からなるアントシアニン混合物をそれぞれ、コレステロール添加食 (1%) に 0.03, 0.045% の割合で添加した飼料を 21 日間ラットに給与する

と、血清総コレステロール濃度の低下傾向と HDL-コレステロール濃度の上昇、または上昇傾向がみられ、それに伴って動脈硬化指数の低下が見られる。ナスの主要アントシアニンのナスニン（ディルフィニジン-3-O-[(4-O-p-クマロイル)-ラムノシル (1→6)グルコシド] 5-O-グルコシド）をコレステロール添加食に 0.1%の割合で添加した飼料、あるいはナスニンのアグリコン部分としてのディルフィニジンを 0.033% (ナスニンと等モル)添加した飼料を 14 日間ラットに給与すると、いずれにおいても血清総コレステロール濃度の低下傾向と、HDL- コレステロール濃度の上昇傾向、それに伴う動脈硬化指数の低下傾向がみられる (Fig. 6)。糞中コレステロールと胆汁酸の排泄量はいずれのアントシアニン給与においても増加の傾向を示す。ナスニンをコレステロール無添加食に添加して給与した場合は、コレステロール添加食においてみられる

Fig.5 Changes in serum lipid levels and atherogenic index by ingestion of To-cha extract and ampelopsin

To-cha extract and ampelopsin were added to the cholesterol-free and enriched (1% cholesterol+10% lard)-diets at 1 and 0.5% levels, respectively. The diets were fed to male Wistar-strain rat (initial body weight:92g) for 21 days. Values with different letters are significantly different at $p<0.05$. Con, control group; To, To-cha (*Ampelopsis grossedentata*) extract-added diet group; Amp, ampelopsin-added diet group. Murakami et al., BioFactors 15, IOS Press, in press.

ような血清コレステロール濃度の低下はほとんどみられない¹⁴⁾。これらの結果は、これらアントシアニン（アスチルビン、タキシホリン、アンペロシン、ケルセン）のようなフラボノイドと類似の機構を介して血清コレステロール濃度の上昇を抑制する可能性を示している。

カテキン、ナリンゲニン 7-O-グルコシド、ヘスペリジン 5-O-グルコシドの高脂肪食ラットにおけるコレステロール低下作用¹⁵⁾、茶ポリフェノール摂取に伴うラットでの血清コレステロールの低下作用なども報告されているが¹⁶⁾、この場合も主に上記に述べた機構と同じ機構によって効果が発現されている可能性が大きい。しかしながら、茶カテキン類 (EGCG, GCG, ECG) ではコレステロールの生合成に関わるエポキシダーゼの活性を阻害することも明らかにされており¹⁷⁾、これらのフラボノイドでは腸管腔から吸収された場合、一部はこの酵素の活性阻害を介してコレステロール低下作用を示していることも考慮される。

Fig.6 Effects of dietary nasunin on the serum lipid levels and atherogenic index

Nasunin and its anthocyanidin, delphinidin were added to a cholesterol-enriched diet with 0.5% cholesterol at 0.1 and 0.033% levels, respectively, and fed to male Wistar-strain rats (4 weeks olds, initial body weight:62g) for 14 days. Anthocyanin in an agar gel, which was prepared using 1.9% agar solution in 0.33% acetic acid, was mixed with the diet before feeding. * $p < 0.05$ versus the control group. Con, control diet group; Nas, nasunin-added diet group; Del, delphinidin-added diet group.

4. おわりに

高コレステロール血症は動脈硬化性疾患の引き金の一つとなることが指摘されており、その異常な上昇の抑制は狭心症や心筋梗塞などの心疾患を予防する上でも重要と考えられている。したがって、日常の食生活を通して、可能な限り、血中コレステロールレベルを適正に保つことは健康の維持の面でも重要となる。

食品素材の中には摂取される過剰なコレステロールの吸収を阻害する成分、あるいはコレステロール合成を阻害・調節する成分などが含まれることがあり、その適切な利用は食品素材を一層、有効に活用する立場からも強く望まれるところである。

ポリフェノールの効果発現の一部と関わる、その体内吸収については盛んに研究が行われているが、概して、その吸収率は低い¹⁸⁻²⁰⁾。ポリフェノールの細胞内転写因子への影響を介したコレステロール代謝への影響、核内移行の有無と脂質代謝に関わる核内受容体への影響の解明など²¹⁾については今後の研究の一層の発展に期待したい。

文献

1. Hodgson J.M, Puddey I.B, Croft K.D, Burke V., Mori T.A, Abu- Amsha Caccetta R and Beilin L.J, Acute effects of ingestion of black and green tea on lipoprotein oxidation, Am J Clin Nutr, 71: 1103-1107, 2000.
2. Hung Y.S, Regulation of cholesterol metabolism by dietary protein and n-6 polyunsaturated fatty acids, J Nutr Sci Vitaminol, 36 (Suppl.): S169-172, 1990.
3. Barth C.A, Scholz-Ahrens K.E, Vrese M and Hotze A, Difference of plasma amino acids following casein or soy protein intake: significance for differences of serum lipid concentrations, J Nutr Sci Vitaminol, 36 (Suppl.): S111-117, 1990.
4. Nagata Y, Ishiwaki N and Sugano M, Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy peptide-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats, J Nutr, 112: 1614-1625, 1982.
5. Tanaka K, Aso B and Sugano M, Biliary steroid excretion in rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures, J Nutr, 114: 26-32, 1984.
6. Sirtori C.R, Galli G, Lovati M.R, Carrara P, Bosisio E and Kienle M.G, Effects of dietary proteins on the regulation of liver lipoprotein receptors in rats. J Ntr, 114: 1493-1500, 1984.
7. 水谷健二, 黄杞茶(コウキチャ)の機能研究の現状と展望, 月刊フードケミカル, 1995-5: 49-57, 1995.
8. Igarashi K, Uchida Y, Murakami N, Mizutani K and Masuda H, Effect of astilbin in tea processed from leaves of *Engelhardtia chrysolepis* on the serum and liver lipid concentrations and on the erythrocytes and liver antioxidative enzyme activities of rats, Biosci Biotech Biochem, 60:513-515, 1996.
9. Itaya S and Igarashi K, Effects of taxifolin on the serum cholesterol in rats, Biosci Biotech Biochem, 56:1492-1494,1992.
10. Igarashi K and Ohnuma M, Effects of isorhamnetin, rhamnetin, and quercetin on the concentration of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver and on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats, Biosci Biotech Biochem,

- 59:595-601,1995.
11. Murakami T, Miyakoshi M, Araho D, Mizutani K, Kambara T, Ikeda T, Chou W-H, Inukai M, Takenaka A and Igarashi K, Hepatoprotective activity of Tocha, the stems and leaves of *Ampelopsis grossedentata*, and ampelopsin, BioFactors 15, IOS Press, in press.
 12. 荻野大和、山崎晴美、長田恭一、中村信吾、山谷修、菅野道廣、食餌由来コレステロール酸化物が誘発するラットの脂質代謝変動に対するワインポリフェノールとドコサヘキサエン酸高含有魚油の同時摂取効果、日本栄養・食糧学会誌, 54: 19-28, 2001.
 13. 神田智正, リンゴ由来ポリフェノール成分の特性に関する研究, FFI ジャーナル, 190-2001:15-22, 2001.
 14. Kayamori F and Igarashi K, Effects of dietary nasunin on the serum cholesterol level in rats, Biosci Biotech Biochem, 58: 570- 571, 1994.
 15. Choi J.S, Yokozawa T and Oura H, Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*, Journal of Natural Products, 54:218-224, 1991.
 16. Yoshino K, Tomita I, Sano M, Oguni I, Hara Y and Nakano M, Effects of long-term dietary supplement of tea polyphenols on lipid peroxide levels in rats, Age, 17:79-85, 1994.
 17. Abe I, Seki T, Umehara K, Miyase T, Noguchi H, Sakakibara J and Ono T, Green tea polyphenols: novel and potent inhibitors of squalene epoxidase, Biochemical and Biophysical Research Communications, 268:767-771, 2000.
 18. 宮澤陽夫, 仲川清隆, 浅井 明, 天然抗酸化物の吸収と代謝, 化学と生物, 38:104-114, 2000.
 19. Alavera S.T, Fergines C, Texier O, Besson C, Manach C, Lamaison J-L, and Remesy C, Anthocyanin are efficiently absorbed from the small intestine in rats, J Nutr, 134: 2275-2279, 2004.
 20. Murota K and Terao J, Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism, Arch Biochem Biophys, 417: 12-17, 2003.
 21. 佐藤隆一郎, 脂質代謝調節の分子基盤, 化学と生物, 42:300-308, 2004.