

## 平成 19 年度 博士前期課程学位論文要旨

## 消化管内におけるフィチン酸の分解に及ぼす無機リン酸塩の影響

学位の種類： 修士（健康科学）

人間健康科学研究科 人間健康科学専攻 ヘルスプロモーションサイエンス系

学修番号 06899604

氏名：手嶋 里絵

（指導教員名： 篠田 粧子）

**【研究の背景・目的】** フィチン酸 (Inositol hexakis phosphate : IP<sub>6</sub>) は、myo- inositol に 6 つのリン酸が結合した環状化合物で、ミネラルの吸収阻害因子として知られている。IP<sub>6</sub> が脱リン酸されるとイノシトールリン酸 (IP<sub>n</sub> ; n=1~5) となるが、消化管での IP<sub>6</sub> 分解に関する報告は糞中での分解率を示したものが多く、消化管各部位における分解過程は不明である。IP<sub>n</sub> はリン酸基の数が少ない程ミネラルキレート能が低下することがわかっている。また、消化管内で IP<sub>6</sub> 分解に影響を与える因子の一つとして無機リン酸が考えられる。当研究室の先行研究で、ラットにリン源として IP<sub>6</sub> のみを含む飼料、または IP<sub>6</sub> に無機リン酸塩を添加した飼料を投与し、後方で IP<sub>6</sub> 分解率が低下する結果を得ていることから、無機リン酸が共存すると IP<sub>6</sub> 分解が抑制される可能性を示唆している。本研究では、まず IP<sub>6</sub> の消化管内の分解過程を明らかにするため、ラット結紮腸管を用いて小腸内での IP<sub>6</sub> の分解率と IP<sub>n</sub> 生成を調べ、更に無機リン酸塩の共存が IP<sub>6</sub> 分解を抑制するか否か検討を加えた。

**【方法】** **実験 1：フィチン酸分解率及び分解中間物の定量的解析** ラットの十二指腸及び回腸を結紮し、IP<sub>6</sub> の 0.5% 溶液を投与し、15 分、30 分後に内容物及び上皮粘膜を採取した。イオン交換クロマトグラフィーで内容物中の IP<sub>6</sub> 及び IP<sub>n</sub> を分離し、リン酸の測定により定量した。IP<sub>6</sub> 分解率及び IP<sub>n</sub> 生成量はポリエチレングリコールを消化吸収マーカーとして求めた。小腸粘膜はホモジナイズし、フィターゼ (EC3.1.3.8 or 3.1.3.26) 活性をラマクリナム変法により測定した。**実験 2：無機リン酸塩添加及び投与液中のフィチン酸濃度が分解率へ及ぼす影響** ① IP<sub>6</sub> の 0.5% 溶液に、IP<sub>6</sub> 中のリン量と当量の無機リン酸塩を添加した溶液を結紮腸管に投与し、15 分後に摘出し、IP<sub>6</sub> 分解率へ及ぼす影響を検討した。② IP<sub>6</sub> の 0.5% 溶液、IP<sub>6</sub> の 1% 溶液に各々無機リン酸塩を添加（リン酸添加濃度は IP<sub>6</sub> 中のリン量と等量）した溶液を結紮腸管に投与し、30 分後に摘出して IP<sub>6</sub> 分解率へ及ぼす影響を調べた。小腸粘膜ホモジネートは一晚透析し、リン酸を除去して酵素液とした。酵素反応時に無機リン酸塩を添加し、フィターゼ活性へ及ぼす影響を検討した。

**【結果】** **実験 1：** IP<sub>6</sub> 残存量は、回腸と比べて十二指腸で有意に低くなり、十二指腸でフィターゼ活性が有意に高いという結果と一致した。十二指腸では時間の経過と共に IP<sub>6</sub> 残存量が低下した。IP<sub>n</sub> の生成は、十二指腸では IP<sub>2</sub>、IP<sub>3</sub> 生成量が多く、IP<sub>1</sub> が殆どなかったが、回腸では IP<sub>4</sub>、IP<sub>5</sub> 生成量が多かった。IP<sub>6</sub> 分解の最終生成物はイノシトールとリン酸であることを確認した。**実験 2：** IP<sub>6</sub> の 0.5% 投与で、リン酸添加により、十二指腸、回腸共に IP<sub>6</sub> 残存量が増加する傾向があった。IP<sub>n</sub> の生成パターンは実験 1 と同様の傾向を示したが、リン酸添加群の十二指腸では、実験 1 では見られなかった IP<sub>1</sub> の生成量が高くなった。リン酸添加によりフィターゼ活性は十二指腸、回腸共に低くなる傾向があった。

**【考察】** 本研究で、IP<sub>6</sub> 分解率は十二指腸で 48~96%、回腸で 19~51% であった。十二指腸における IP<sub>6</sub> 分解は、全消化管の分解率に匹敵し、小腸粘膜酵素が IP<sub>6</sub> 分解に寄与することを明らかにした。十二指腸、回腸における分解率の差は、小腸各部位におけるフィターゼ活性の差で説明できる。IP<sub>n</sub> の生成は、十二指腸は IP<sub>2</sub>、IP<sub>3</sub>、回腸では IP<sub>4</sub>、IP<sub>5</sub> が多く生成した。十二指腸では、キレート能が高い IP<sub>4</sub>、IP<sub>5</sub> が消失したことから、本実験条件ではミネラル吸収阻害が起きない可能性がある。Iqbal らは小腸粘膜酵素は IP<sub>6</sub> 分解に寄与しないと報告しているが、本研究における十二指腸のフィターゼ比活性は、Iqbal らの報告と殆ど差がないにも関わらず、IP<sub>6</sub> 分解が進んでいた。また酵素液中のリン酸除去によりフィターゼ活性が著しく高くなったことから、小腸内で IP<sub>6</sub> が分解されると遊離したリン酸は速やかに吸収されるが、in vitro による酵素活性の測定では遊離したリン酸が蓄積することでフィターゼ活性が阻害されると推測した。従って、これまでの多くの報告ではフィターゼ活性を過小評価している可能性がある。IP<sub>6</sub> 分解の最終生成物は IP<sub>2</sub>、IP<sub>1</sub> とする報告があるが、本研究で IP<sub>6</sub> 単独投与における最終生成物はイノシトールとリン酸であった。これまでの報告では、小麦やライ麦等由来のフィチン酸を含む飼料を投与しており、リン酸やその他の成分が IP<sub>6</sub> 分解を抑制し、最終生成物が IP<sub>2</sub> もしくは IP<sub>1</sub> であった可能性が考えられる。

本研究では小腸内においてリン酸が共存することにより IP<sub>6</sub> 分解率が低下することを明らかにした。今後は、十二指腸では遊離したリン酸が IP<sub>1</sub>、IP<sub>2</sub>、IP<sub>3</sub> 分解を抑制している可能性が考えられること、リン酸添加による影響は IP<sub>6</sub> の濃度によって異なること等について検討する必要がある。