

(様式5)

学位論文要旨

西暦 2023年 1月 11日

学位申請者

久保 博司

印

学位論文題目

還元型および酸化型コエンザイムQ10の食品中含有量と経口摂取後の吸収プロセスにおける酸化還元状態

学位論文の要旨

1. 序論

コエンザイム Q (CoQ) は生体にとって必須の成分であり、その主な生理作用はミトコンドリアの電子伝達系の成分として ATP 産生に重要な役割を果たすことと、生体成分を酸化から守る脂溶性の抗酸化物質として機能することである。CoQ は、その化学構造にポリイソプレン側鎖を有しており、天然にはイソプレン側鎖の繰り返し数が異なる多数の同族体が存在する。ヒトは、イソプレン側鎖の繰り返し数 10 の CoQ10 を有する。

ヒトの体内に存在する CoQ10 は、食事由来の外因性のものと生合成由来の内因性のものによってそのレベルが維持されていると考えられている。CoQ には還元型と酸化型が存在するが、食品中の CoQ10 含有量に関する既存の報告は酸化型として測定されたものがほとんどであり、実際にヒトが食事から還元型 CoQ10 をどの程度摂取しているかは不明である。また、経口摂取された還元型 CoQ10 は酸化型 CoQ10 よりも吸収性が優れるとの報告がある。一方で、消化プロセスにおいて還元型 CoQ10 は酸化されると考えられることから両者の経口吸収性に違いはないとの指摘もあるが、実際のところ消化プロセスにおける存在状態に関する知見はほとんどなく不明である。

本研究では、外因性の CoQ10 に関する基礎的な知見を得ることを目的として、各種食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を簡便かつ正確に測定可能な方法を構築した上で、ヒトが通常の食事から還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 をどの程度摂取しているのか、また経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 は、体内に吸収されるまでの間、還元型と酸化型のどちらで存在しているのかについて検討した。

2. 食品中の還元型および酸化型コエンザイム Q10 含有量の測定法の構築

血清、組織など生体試料中の還元型および酸化型 CoQ10 濃度の測定方法として、検出感度、選択性に優れることから HPLC に電気化学検出器 (ECD) を組み合わせた手法 (HPLC-ECD) がこれまでに数多く報告されている。HPLC-ECD で生体試料中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 濃度を正確に測定しようとする場合、特に二つの点について検討することが重要となる。一つは、酸化型 CoQ10 をどのようにして ECD で検出可能な還元型 CoQ10 に変換するかである。ECD による検出では、一定の電圧が印加された作用電極上での還元型 CoQ10 の酸化反応に伴う電流を検出シグナルとすることから、生体試料中に存在する酸化型 CoQ10 を検出するためには、ECD に導入されるまでに何らかの方法により酸化型 CoQ10 を還元型 CoQ10 に変換する必要が生じる。もう一つは、生体試料からの抽出操作で使用する溶媒と HPLC-ECD 分析に供する際の溶媒をどのように選択するかである。CoQ10 は脂溶性物質であるため、極性の低いヘキサンを抽出溶媒として使用される例が多いが、ECD を検出器とする逆相 HPLC で測定するためにはヘキサン抽出液から逆

相 HPLC の移動相と相溶性のある溶媒（エタノールなど）に置換する必要がある。この溶媒置換操作時に還元型 CoQ10 が酸化されてしまうことから、生体試料中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 濃度の正確な把握が困難なものになっている。

本研究では、上記 2 点を考慮した上で、溶媒置換操作を必要としない 2-プロパノールによる食品サンプルからの抽出操作と、分離カラムでの分離後に酸化型 CoQ10 を還元型 CoQ10 に変換するポストカラム還元法を組み合わせた HPLC-ECD での分析により、簡便かつ正確に還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 を同時分析可能な測定法を構築した。本測定法の妥当性は、3 種の食品マトリックス（じゃがいも、ブリ、牛肉（もも））を用いて検証した。その結果、いずれの食品マトリックスの分析クロマトグラム上においても、還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 はどちらも定量可能な単一のピークとして確認された。既知濃度の分析種（還元型 CoQ10 もしくは酸化型 CoQ10）を添加した時の回収率は、還元型 CoQ10 で 87%から 112%の範囲にあり、酸化型 CoQ10 で 97%から 106%の範囲にあった。日内の繰り返し分析における還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の測定濃度の精度（CV 値）は、それぞれ 0.3%から 9.9%、0.6%から 10.7%の範囲にあった。また 3 日間の繰り返し分析における還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の測定濃度の精度（CV 値）は、それぞれ 2.4%から 15.4%、3.0%から 13.8%の範囲にあった。以上の回収率と精度に関する結果は、分析法に関する AOAC ガイドラインにおいて目安として記載されている許容範囲に収まっており、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の食品中含有量の測定法として妥当なものであると考えられた。

3. 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の食品中含有量

各種食品中の CoQ10 含有量に関する報告はこれまでにいくつかあるが、酸化型 CoQ10 として測定されたものが大半であり、還元型 CoQ10 の含有量に関するデータは少なく、実際にどの程度の量の還元型 CoQ10 を食事から摂取しているかは明らかではなかった。

本研究では、構築した測定法を用いて、食品 70 品目（肉類 8 品目、魚介類 16 品目、野菜 21 品目、果物類 7 品目、豆類 3 品目、乳類 3 品目、その他 6 品目）の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を調べ、日本人が一日に食事から摂取する還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 および総 CoQ10 量を推定した。その結果、70 品目中 63 品目の食品に還元型 CoQ10 が、66 品目の食品に酸化型 CoQ10 が含まれていることが明らかとなった。本分析で得た各食品の総 CoQ10（還元型 CoQ10 + 酸化型 CoQ10）含有量データのうち、先行の報告例と共通する食品の測定値を比較したところ、抽出方法や検出法が異なっているものの、おおよそ同じような値が得られていることが確認され、本分析により得た結果は妥当なものであると考えられた。さらに、各食品の一日の平均摂取量を用いて算出した日本人の一日当たりの摂取量の推定値は、還元型 CoQ10 として 2.1 mg、酸化型 CoQ10 として 2.4 mg、総 CoQ10 として 4.5 mg であった。還元型 CoQ10 の摂取源の主な摂取源は、肉類 (0.88 mg/day)、魚介類(0.31 mg/day)、野菜類(0.28 mg/day)、その他（特に大豆油）(0.33 mg/day) と考えられた。本研究で得た日本人の一日あたりの総 CoQ10 摂取量の推定値は、先行研究で示された値の 3-5 mg/day（オランダ人）、3.8-5.4 mg/day（フィンランド人）ともおおよそ一致しており、妥当なものと考えられた。

4. 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の酸化還元状態

CoQ10 の経口摂取後の消化管腔内での酸化還元状態など腸で吸収されるまでの動態に関する報告は、これまでほとんどない。そこで、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 経口摂取後の消化管腔内および小腸組織中での存在状態を把握するため、マウスを用いて検討を行った。その結果、経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の大部分は、いずれも他方に変換（酸化、還元）されることなく、小腸末端の管腔内まで到達していると考えられた。また、経口投与 2 時間後に摘出した小腸を 5 分割して各小腸組織画分中の CoQ10 濃度を測定したところ、いずれの画分においても CoQ10 濃度の上昇が認められ、またその濃度上昇の大部分は摂取時と同じ状態で検出された。したがって、経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 は、小腸の上部から下部までのいずれに部位においても、摂取された時の状態のまま大部分が小腸組織中に吸収されていると考えられた。

本検討では、小腸上皮において CoQ10 の取り込みに関わることを示唆されているトランスポーターに対する還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 での作用の違いの有無や小腸上皮から腸管膜リンパへの分泌に至るプロセスの詳細については検討できていない。これらは、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の経口摂取後、血中に至るまでの吸収プロセスをより詳細に理解する上で、今後検討すべき課題と考えられる。

5. 結論

本研究では、まず溶媒置換操作を必要としない簡便なサンプル前処理方法と、ポストカラム還元法を組み合わせた還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 を同時測定可能な HPLC-ECD での分析により、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の食品中含有量測定法を構築した。

ついで食品 70 品目の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を測定し、63 品目の食品に還元型 CoQ10 が含まれていること、66 品目の食品に酸化型 CoQ10 が含まれていることを明らかにした。これらの測定結果から、日本人の食事からの一日当たりの CoQ10 摂取量は、還元型 CoQ10 として 2.1 mg、酸化型 CoQ10 として 2.4 mg、総 CoQ10 として 4.5 mg と推定された。

マウスを用いた検討により、経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 は、それぞれ摂取時の状態で小腸管腔内末端まで到達し、そのままの状態の小腸組織に吸収されていると考えられた。還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の経口摂取後、血中に至るまでの吸収プロセスをより詳細に理解する上で、CoQ10 との関連が示唆されている小腸上皮のトランスポーターとの作用や小腸上皮から腸管膜リンパへの分泌に至るプロセスの詳細の把握は、今後検討すべき課題と考えられる。

(様式6)

S u m m a r y

Applicant for degree :

KUBO Hiroshi

Title of thesis :

Coenzyme Q10 content in foods and its redox state during absorption process after oral intake

Seventy food items (8 types of meat, 16 types of fish and shellfish, 21 vegetables, 7 fruits, 6 pulses, 3 potatoes, 3 dairy products and 6 others) were analyzed using a simple and reliable method that can detect the reduced form of coenzyme Q10 (ubiquinol-10) and the oxidized form of coenzyme Q10 (ubiquinone-10) simultaneously. This method employed direct 2-propanol extraction and high performance liquid chromatography (HPLC) equipped with a reduction column and an electrochemical detector (ECD). Ubiquinol-10 was found in 63 out of 70 food items, while ubiquinone-10 was found in 66 of the 70 food items. In the food items in which ubiquinol-10 was found, its content ranged from 2.63 to 84.8 $\mu\text{g/g}$ in meat, 0.38 to 23.8 $\mu\text{g/g}$ in fish and shellfish, 0.17 to 5.91 $\mu\text{g/g}$ in vegetables, 0.22 to 3.14 $\mu\text{g/g}$ in fruits, 0.68 to 1.82 $\mu\text{g/g}$ in potatoes, 0.72 to 4.3 $\mu\text{g/g}$ in pulses and 0.18 to 33.3 $\mu\text{g/g}$ in other food items including seeds, eggs, dairy products, soybean oil and miso (fermented soybean paste). On the other hand, total coenzyme Q10 content ranged from 13.8 to 192 $\mu\text{g/g}$ in meat, 1.25 to 130 $\mu\text{g/g}$ in fish and shellfish, 0.08 to 7.47 $\mu\text{g/g}$ in vegetables, 0.51 to 9.48 $\mu\text{g/g}$ in fruits, 1.05 to 3.01 $\mu\text{g/g}$ in potatoes, 2.31 to 6.82 $\mu\text{g/g}$ in pulses and 0.26 to 53.8 $\mu\text{g/g}$ in other food items. The estimated average daily intakes of ubiquinol-10 and total coenzyme Q10 calculated from these results and data on Japanese daily food consumption were 2.1 and 4.5 mg, respectively.

The amounts of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 were measured in the gastrointestinal content and small intestine tissue after oral administration of ubiquinol-10 or ubiquinone-10 to C57BL/6J mice. The form of coenzyme Q10 detected in the gastrointestinal content and small intestine tissue was almost the same as that when administered orally. The results of this study suggested that the orally administered ubiquinol-10 and ubiquinone-10 mostly reached the small intestine without oxidizing to ubiquinone-10 and reducing to ubiquinol-10, and both were absorbed by the small intestine tissue in almost their original forms.