

氏名	あおきふみき 青木史樹
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	論農博第2635号
学位授与の日付	平成19年1月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	甘草ポリフェノールの機能性食品としての効果・安全性

論文調査委員	(主査) 教授 矢野秀雄	教授 今井裕	教授 久米新一
--------	-----------------	--------	---------

論文内容の要旨

天然生理活性物質を機能性食品としてヒトの健康維持に適用するには、効果と安全性に加えて、作用機序や有効成分の体内動態を明らかとすることが重要とされている。またそれらの証明はヒト臨床試験で行われることが望まれている。甘草由来のポリフェノールは、その大部分がフラボノイドに属しており、糖尿病モデル動物で抗糖尿病や抗肥満効果が見出されている。しかし、モデル動物が抗肥満効果の検証に適していないので、ヒトで抗肥満効果があるかどうかに関してさらに研究を展開する必要がある。また、甘草フラボノイドの安全性や、作用機序、有効成分の体内動態に関しても十分に知見が得られていない。そこで本研究では、甘草フラボノイドに着目し、機能性食品として利用するために求められる効果・安全性・作用機序・体内動態に関して検証を行った。論文は以下の6章よりなっている。

第1章では、市場における機能性食品の問題点を考察し、効果・安全性・作用機序・体内動態の4点の研究の重要性を示した。また、甘草フラボノイドに関する研究を総説し、上記4点の研究が十分に行われていないことを示した。

第2章では、ヒトの肥満に近い動物モデルである、食事性肥満マウスに対する甘草フラボノイドの抗肥満効果を検証した。甘草フラボノイドは、甘草をエタノールと中鎖脂肪酸で2段階抽出することで調製した。得られた油性抽出物は固形分の80%がフラボノイドであり、「甘草(リコリス)フラボノイドオイル、略称:LFO」として以降の研究に用いた。その結果、甘草フラボノイドは、高脂肪食による腸間膜、腎周囲、子宮周辺の脂肪組織重量と、体重の増加を抑制する効果が確認された。解剖学的所見より、甘草フラボノイドは脂肪細胞の肥大化や肝臓への脂肪蓄積を抑制することが確認された。さらに、甘草フラボノイド投与が肝臓の遺伝子発現へ及ぼす効果をDNAマイクロアレイにより解析した結果、甘草フラボノイド摂取は β 酸化に関連する遺伝子の発現を上昇させ、脂肪酸合成に関連する遺伝子の発現を低下させる効果があることが示唆された。以上より、甘草フラボノイドの食事性肥満改善効果とその作用機序の一端が解明された。

第3章では、甘草フラボノイドの代表成分であるグラブリジンの高感度ヒト血中濃度分析法を確立した。測定条件を検討した結果、グラブリジンを固相抽出(C8固相)により血漿から分離し、LC-MS/MSにより検出する方法を見出した。血中グラブリジンの定量下限は、 0.1ng/mL (血漿中)であり、検量線は $0.1\sim 50\text{ng/mL}$ の範囲内で良好な直線性を示した。また日内・日間変動も僅かであり、良好な再現性が得られた。サンプル中のグラブリジンは 10°C 72時間、 -20°C 12週間および、3回の冷解凍の条件下で安定であった。確立された分析法の定量下限はUV検出法の100倍の感度であり、血中グラブリジンの定量法として初めて確立された方法である。最後に確立された分析法を用いて甘草フラボノイドを摂取した際のヒト血中濃度を測定した。その結果、投与後のヒトでの血中グラブリジンは約 0.6ng/mL であり、本分析法を用いれば十分に定量範囲に入ることが示された。

第4章では、血中グラブリジンを体内動態の指標として、健常人に対して甘草フラボノイドの安全性を検証した。また、一連の安全性評価の際に得られる臨床検査値から効果として考えられる変動についても検討した。投与試験は、フラボノイドを8%含む甘草フラボノイドオイル(LFO)を用いて $300\sim 1200\text{mg/day}$ の用量で実施した。単回投与試験により、グラブリジンの最高血中濃度到達時間(T_{max})は約4時間であり、消失半減期($T_{1/2}$)は約10時間であった。また、血中濃度

下面積（AUC）と最高血中濃度（ C_{max} ）は、用量依存的に上昇することが示された。さらに反復投与試験により、グラブリジンは体内蓄積性が低く、血中濃度は2週間以内に定常状態に達することが明らかとなった。一連のLFO投与試験で血液・尿生化学検査・自覚症状のいずれにおいても臨床的に問題となる副作用は認められず甘草フラボノイドの安全性が示された。さらに、LFO投与は血中遊離脂肪酸を低下させる効果が認められた。従って、LFOの投与はヒトの脂質代謝に対して効果を有し、2型糖尿病や肥満の改善につながる可能性が示された。

第6章は、第1章から第5章までを総括し、グラブリジンの血中濃度と抗肥満効果の関連について考察し、甘草ポリフェノールがヒトに対して抗肥満効果を有する機能性食品として適用可能であることを示した。

論文審査の結果の要旨

近年食品の3次機能に関する研究が活発に行われており、ヒトへの適用可能性を評価するために、効果を中心として様々な角度からの研究が求められている。本論文は抗肥満効果を有する甘草ポリフェノールを題材として、効果・作用機序・体内動態・安全性などを包括的に検証したものである。成果として評価すべき点は以下のとおりである。

1. これまで十分に抗肥満効果が検証されていなかった甘草ポリフェノールをヒトの肥満に近いモデル動物系を用いて抗肥満効果を証明した。またその作用機序の一端は、肝臓での脂肪合成抑制と脂肪分解促進であることを示した。

2. 甘草ポリフェノールの代表成分であるグラブリジンの高感度ヒト血中測定法を確立した。さらに当分析法のバリデーション（測定安定性の評価）を実施し、測定精度の高さを証明した。確立された分析法は汎用のUV検出器によるHPLC法の100倍の感度を達成した。また、実際にヒトに甘草ポリフェノールを投与した場合のグラブリジン血中濃度レンジを明らかにし、本高感度分析法の必要性を示した。

3. 甘草ポリフェノールのヒトでの安全性を証明すると同時に、代表成分であるグラブリジンの血中動態を明らかにして、反復投与による蓄積性の低さを証明した。また、その時の血中濃度レンジを示し、甘草ポリフェノールの生理活性と血中濃度との関係を明らかにした。さらに、甘草ポリフェノールのヒトにおける血中遊離脂肪酸低下効果を証明し、ヒトに対しても甘草ポリフェノールが脂質代謝に作用することを示した。

以上のように、本研究は動物とヒトにおいて甘草ポリフェノールの効果に関する証明を行っただけでなく、作用機序・体内動態・安全性などの様々な角度からの新知見を得てそれらの関連性を包括的に考察した。従って、動物栄養学ならびに健康科学の分野に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値があるものと認める。

なお、平成18年12月21日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。