

学位論文題名

消化吸収を制御する機能性食品素材の
基礎的・実用的研究

学位論文内容の要旨

食事として摂取した栄養成分を効率よく吸収あるいは吸収阻害するシステム、すなわち消化吸収の制御に着目した。消化吸収の制御機能を有する食品あるいは食品成分の有効性と安全性を、ヒト試験まで科学的に検証し商品化することで、人々の健康増進に寄与することを目的とし、本論文では消化吸収を制御する2つの機能成分に着目した。ひとつは *Salacia reticulata* 水抽出物であり、古くからスリランカで糖尿病に対して民間療法に用いられてきた素材である。すでに *S. reticulata* 水抽出物の食後血糖上昇抑制作用に関して報告がなされていたが、物性(味、臭い、溶解性)に問題があり、食品として普及していなかった。そこでこれらの物性をサイクロデキストリンにて改善し、コタラヒムエキス末 (*S. reticulata* aqueous extract and cyclodextrin ; SRCD) およびコタラヒム顆粒 (Kothalahimbutu granule; KTG) を開発した。SRCD は血糖上昇抑制作用を有する機能性食品開発における素材として、KTG は直接経口摂取可能な食品として位置づけた。

もうひとつは乳果オリゴ糖(ラクトスクロース; lactosucrose) であり、すでに「おなかの調子を整える」特定保健用食品の関与成分として認められている物質である。ラクトスクロースの腸管カルシウム(Ca) 吸収促進作用について研究を重ね、動物およびヒトでの腸管 Ca 吸収促進作用を明らかにした。

1) *in vitro* および *in vivo* における基礎研究

原料となる *S. reticulata* 原木の α -グルコシダーゼ阻害活性を確認した。*S. reticulata* 原木から有効成分を抽出し、サイクロデキストリンと混合することで調製した SRCD および KTG について、一般成分分析および機能成分分析を行った。*S. reticulata* 水抽出物の血糖上昇抑制作用に関する有効成分は、チオ糖スルホニウム硫酸分子内塩構造を有する salacinol と kotalanol、そして13員環の13-membered ring thiocyclitol (13-MRT) である。しかしながらこれらの標準品は市販されていないため、*S. reticulata* 水抽出液から salacinol を分取して salacinol 標準品を得た。この標準品を用いて KTG 中の salacinol 含量を LC/MS/MS にて測定した。次に *in vitro* にて SRCD および KTG の各種消化酵素阻害作用について検討したところ、いずれも α -グルコシダーゼ(スクラーゼ、マルターゼ、イソマルターゼ)を阻害することが確認され、*S. reticulata* 水抽出物の機能性を生かし、かつ物性を改善した食品素材が開発され、以後の試験に供した。

ラットとマウスを用いて SRCD および KTG の血糖上昇抑制作用を検証した結果、SRCD のスクロース、可溶性デンプン、可溶性デンプンスクロース混合物負荷に対する血糖上昇抑制作用を確認した。

また、KTG のグルコースおよびマルトース負荷に対する血糖上昇抑制作用も確認した。

2) ヒトにおける SRCD の有効性、最適用量および安全性

まず素材である SRCD の有効性および最適用量をヒトにて検証した。健常者 10 名に対し、スクロース負荷における SRCD の血糖上昇抑制作用を検証した結果、SRCD は 300 mg 摂取からスクロース負荷後の血糖上昇を有意に抑制することを確認した。さらに有効量の約 30 倍量でも低血糖症状を示さないこと、約 20 倍量まで摂取しても腹部症状は軽微であることから、食後の高血糖を安全に抑える機能性食品素材であること証明した。

3) ヒトにおける KTG の有効性、長期摂取時の有効性および安全性、過量摂取時における安全性

KTG は 300 mg の SRCD と 500 mg の α -サイクロデキストリンを含む、1 包 800 mg として設計された。血糖上昇抑制作用を有する特定保健用食品許可申請のためには、KTG の有効性、安全性、過量摂取における安全性（副次作用の有無）を検討しなくてはならない。健常者 19 名に対するプラセボ対照群無しの単盲検試験ならびに健常者 14 名に対するプラセボ対照群つき二重盲検無作為化クロスオーバー試験にて、KTG の血糖上昇抑制作用を確認した。境界型糖尿病患者 6 名と軽症 2 型糖尿病患者 10 名の計 16 名に対し、KTG の 12 週間連続摂取試験を行った。摂取量は常用量である毎食時 1 包（1 日 3 包）とした。その結果、摂取期間中の空腹時血糖値の低下およびヘモグロビン A1c の低下が確認された。また、重大な有害事象は観察されなかった。さらに常用量、常用量 2 倍量および常用量 4 倍量を 7 日間摂取させる過量摂取試験を行った結果、血液検査、尿検査、腹部症状などに異常値の発生ならびに重大な有害事象は確認されなかった。これらの結果から KTG 常用量におけるヒトでの有効性を確証し、KTG は安全性の高い機能性食品であることを明らかにした。

4) SRCD の抗肥満作用、抗糖尿病肥満作用

SRCD の高脂肪液体飼料負荷後の血中トリグリセリド上昇抑制作用を確認した。*in vitro* の評価ではリパーゼ阻害は認められなかったことからリパーゼ阻害以外のメカニズムの存在を示唆した。また、高脂肪飼料にて肥満を誘導する 2 つの試験系、一つはマウスに高脂肪食飼料を自由摂取させ肥満を誘導する系、もう一つは過食かつエネルギー不足とならないように高脂肪食飼料を一定量ラットに与える系において、体重増加および内臓脂肪蓄積の抑制という抗肥満作用が確認できた。さらに糖尿病肥満モデルである Wistar fatty ラットに SRCD を投与したところ、体重増加抑制傾向、内臓脂肪蓄積低下とともに、病態発症に伴う経時的な総コレステロールおよびインスリン濃度上昇が抑制された。これらの結果から、SRCD がメタボリック症候群向けの機能性食品になり得る可能性を示した。また、SRCD を投与したラットでは盲腸重量および割合が増加し、SRCD が盲腸発酵に影響を与えている可能性を見いだした。

5) ラクトスクロースの腸管 Ca 吸収促進作用

成長期ラットにラクトスクロース 5% 添加飼料を自由摂取させ、一般的な出納試験とともにアイソトープ ^{45}Ca を用いてラクトスクロースの腸管 Ca 吸収について検討した結果、アイソトープ評価法においてラクトスクロースの腸管 Ca 吸収促進作用を示した。健常男性を対象として、ラクトスクロースの単回摂取における腸管 Ca 吸収促進作用を検討したところ、ラクトスクロースと Ca 同時摂取後の尿中 Ca 排泄量がプラセボよりも有意に高値であり、健常男性においてラクトスクロース

の腸管 Ca 吸収促進作用を示した。さらにラクトスクロースを含む市販品であるラクトスクロース顆粒品について、健常男性を対象に腸管 Ca 吸収促進を評価したところ、単回摂取時よりも 2 週間の連日摂取後でラクトスクロース顆粒品の腸管 Ca 吸収促進作用が示された。本論文で得た知見とこれまで得られていた知見をあわせ、ラクトスクロースは性別を問わずに腸管 Ca 吸収を促進することを示した。さらに「乳果オリゴ糖を主成分とし、腸内のビフィズス菌を適正に増やして、おなかの調子を良好に保つとともに、カルシウムの吸収を促進する甘味料」特定保健用食品表示許可を取得した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 原 博
副 査 教 授 浅 野 行 蔵
副 査 教 授 松 井 博 和

学位論文題名

消化吸収を制御する機能性食品素材の 基礎的・実用的研究

本論文は、200 頁からなる和論文であり、図 40 と表 55 を含み、参考論文 9 編が添えられている。

メタボリックシンドローム、糖尿病、骨粗しょう症の増加がかねてから危惧されている。これらの発症には食生活が関与していることから、食事として摂取した栄養成分を効率よく吸収促進あるいは吸収阻害する、すなわち消化吸収を制御する機能性食品を開発し人々に利用してもらうことで、これらの疾病発症リスクの低減につながると考えられる。

著者は、消化吸収を制御する 2 つの成分を用いて本研究に着手した。1 つは *Salacia reticulata* 水抽出物であり、古くからスリランカで糖尿病に対して民間療法に用いられてきた素材である。すでに *S. reticulata* 水抽出物の食後血糖上昇抑制作用に関して報告がなされていたが、まず、*S. reticulata* 水抽出物の物性（味、臭い、溶解性）の不具合をサイクロデキストリンにて改善し、コタラヒムエキス末 (*S. reticulata* aqueous extract and cyclodextrin ; SRCD) およびコタラヒム顆粒 (Kothalahimbutu granule; KTG) を開発し、これらの食後血糖上昇抑制作用ならびに安全性、そして新機能の探索を行った。もう 1 つは乳果オリゴ糖（ラクトスクロース）であり、すでに「おなかの調子を整える」特定保健用食品の関与成分として認められている物質である。ラクトスクロースの腸管カルシウム (Ca) 吸収促進作用についてはこれまで報告がなかったため動物およびヒトでの腸管 Ca 吸収促進作用を検討した。

これらについて、以下のような結果を得ている。

1) *in vitro* および *in vivo* における基礎研究

SRCD および KTG の一般成分分析および機能成分分析を行った。*S. reticulata* 水抽出液から salacinol を分取して salacinol 標準品を得たのち、KTG 中の salacinol 含量を LC/MS/MS にて測定した。次に *in vitro* にて SRCD および KTG の各種消化酵素阻害作用について検討

したところ、いずれも α -グルコシダーゼ（スクラーゼ、マルターゼ、イソマルターゼ）を阻害することが確認された。*S. reticulata* 水抽出物の血糖上昇抑制作用に関する有効成分は、チオ糖スルホニウム硫酸分子内塩構造を有する salacinol と kotalanol、そして 13 員環の 13-membered ring thiocyclitol (13-MRT) であるが、SRCD および KTG の α -グルコシダーゼ阻害作用は salacinol の寄与が大きいことが推測された。ラットとマウスを用いて SRCD および KTG の食後血糖上昇抑制作用を確認した。

2) ヒトにおける SRCD および KTG の有効性および安全性

まず SRCD および KTG のスクロース負荷に対する血糖上昇抑制作用を健常人にて検証した。次に KTG の長期摂取時における有効性ならびに安全性を境界型糖尿病患者と軽症 2 型糖尿病患者にて検討したところ、摂取期間中の空腹時血糖値の低下およびヘモグロビン A1c の低下が確認された。重大な有害事象は観察されなかった。さらに過量摂取試験（常用量、常用量 2 倍量および常用量 4 倍量）を健常人にて行った結果、血液検査、尿検査、腹部症状などに異常値の発生ならびに重大な有害事象は確認されなかった。これらの結果から SRCD および KTG のヒトでの有効性を確認し、KTG は安全性の高い機能性食品であることを明らかにした。

3) SRCD の抗肥満作用、抗糖尿病肥満作用

SRCD の高脂肪液体飼料負荷後の血中トリグリセリド上昇抑制作用をラットにて確認した。マウスおよびラットにて食事誘導性肥満に対する抗肥満作用を確認した。先行研究では *S. reticulata* 水抽出物の食事誘導性肥満に対する効果は明確ではなかったが、本研究にて内臓脂肪蓄積抑制作用を明確に示すことが出来た。さらに遺伝性糖尿病肥満モデルである Wistar fatty ラットにて病態発症遅延作用を確認した。これらの結果から、SRCD がメタボリック症候群向けの機能性食品になり得る可能性を示した。また、SRCD を投与したラットでは盲腸重量および体重に占める割合が増加し、SRCD が盲腸発酵に影響を与えている可能性を見いだした。

4) ラクトスクロースの腸管 Ca 吸収促進作用

アイソトープ ^{45}Ca を用いた出納評価法においてラクトスクロースの腸管 Ca 吸収促進作用を成長期ラットで示した。次に健常男性にてラクトスクロース単回摂取における腸管 Ca 吸収促進作用を尿中 Ca 排泄量にて評価し、高純度品ならびに市販品（純度 55%）で腸管 Ca 吸収促進作用を示した。本研究で得た知見とこれまでの知見をあわせ、ラクトスクロースは性別を問わずに腸管 Ca 吸収を促進することを示し、「乳果オリゴ糖を主成分とし、腸内のビフィズス菌を適正に増やして、おなかの調子を良好に保つとともに、カルシウムの吸収を促進する甘味料」特定保健用食品表示許可を取得した。

本論文は、*S. reticulata* 水抽出物を有効活用した機能性食品を開発し、食後血糖上昇抑制作用および安全性を基礎研究から臨床研究で示し、動物実験にて抗肥満作用を示した。また、ラクトスクロースの腸管 Ca 吸収促進作用を示すことが出来た。本研究により、SRCD と KTG に消化吸收機能の制御があることを証明し、またラクトスクロースを機能性食品

として市場に送り出す基礎を築いた点は、高く評価できる。

よって、審査員一同は、岸野恵理子が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。