

論文の内容の要旨

『サラシア属植物エキスパウダの安全性確認と免疫機能に対する作用の解明』

小田 由里子

技術の発展は食習慣や生活環境を変化させ、長寿社会を現実のものとした。しかし、その結果様々なストレスに曝されることとなり、生活習慣病やアレルギー、がんをはじめとする疾病の発症率および医療費は増加の一途を辿っている。これらの問題を解決するため、食品摂取を通じて健康維持および疾病予防を行う『機能性食品』が注目されている。本研究においては、疾病予防食品の開発を目指し、糖の吸収抑制作用を有するサラシア属植物を対象として、新規機能の探索を行った。

サラシア属植物（以下、サラシア）は、インドやスリランカ等の東南アジアで糖尿病や肥満の予防に用いられてきた伝承植物であり、幹や根の抽出物には α -グルコシダーゼ阻害活性を有するサラシノール、コタラノール等のチオ糖が含まれている。1990年代からサラシアエキスの糖吸収抑制作用と、糖吸収抑制に付随する血糖値や肥満の改善作用に関する研究が盛んに行われてきたが、それ以外の作用はほとんど知られていない。また、サラシアエキスをを用いた製品が多く販売されているが、日本で最も流通している *Salacia reticulata* エキスパウダ（以下、サラシアエキスパウダ）の長期摂取を想定した安全性試験の報告はなかった。

本研究では、糖の吸収抑制にとどまらないサラシアエキスパウダの新規機能を解明することを目的とした。最初にサラシアエキスパウダの亜慢性毒性試験を実施し、長期投与によるサラシアエキスパウダの安全性を確認することにした。次に α -グルコシダーゼ発現部位である小腸におけるサラシアエキスパウダの作用解明を行うとともに、消化管内に残されたオリゴ糖に着目し腸内環境に対する作用を検討することにした。最後に、動物試験結果を参考に、ヒト摂取試験を実施し、疾病予防食品開発に向けたサラシアエキスパウダの効果検証を行うこととした。

サラシアエキスパウダの亜慢性毒性試験では、6週齢の雌雄の Sprague-Dawley 系（CrI:CD（SD））ラットに、サラシアエキスパウダを 0～400 mg/kg body weight/day の用量で 13週間（91日間）強制経口反復投与し、

安全性評価を行った。試験期間中、試験動物の一般状態、体重、摂餌量、摂水量にサラシアエキス粉末投与の影響と考えられる変化は生じなかった。また、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査において、サラシアエキス粉末の投与に起因すると思われる変化は認められなかった。さらに、臓器重量、病理解剖学的検査、病理組織学的検査においてもサラシアエキス粉末投与による毒性変化は見られなかった。以上の結果から、サラシアエキス粉末の無毒性量（No Observed Adverse Effect Level: NOAEL）は、400 mg/kg body weight/day（ヒト摂取量の 100 倍量）であると結論付けた。

サラシアエキス粉末の消化管（小腸）に対する作用解明では、7 週齢の雄の SD ラットに、サラシアエキス粉末を強制経口反復投与し評価を行った。長期的なサラシアエキス粉末投与による作用を評価するため、投与期間は亜慢性毒性試験と同様の 13 週間（91 日間）とした。また、ラット試験の結果をヒト試験の参考とするため、投与量はヒトでも安全性が確認されている 20 mg/kg body weight/day（ヒト摂取量の 5 倍）に設定した。投与期間終了後、 α -グルコシダーゼが発現している小腸の一部で、パイエル板を多く有し、吸収・異物の排除などにおいて重要な役割を果たす回腸（回腸粘膜）の遺伝子発現解析を DNA マイクロアレイにより実施し、回腸におけるサラシアエキス粉末の作用を網羅的に評価した。また、腸内環境に対するサラシアエキス粉末の作用を検討するため、Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis（Nagashima 法）（以下、T-RFLP 法）による糞便の腸内細菌叢解析を行った。回腸粘膜の遺伝子発現解析の結果、サラシアエキス粉末は免疫関連遺伝子、特に細胞性免疫に関与する Th1 細胞関連遺伝子の発現を増加させることが明らかになった。また、腸内細菌叢の解析では、サラシアエキス粉末投与により腸内細菌叢の構成比率が変化し、類似して行く傾向を示した。サラシアエキス粉末投与により比率が変化した菌について調査を行ったところ、比率が上昇した菌に免疫賦活作用が示されている *Bacteroidetes* が含まれていることが明らかになった。以上のことから、サラシアエキス粉末は腸内細菌叢を変化させ、増加した菌や菌体成分が腸管免疫系を通じて生体機能を調節する可能性を示した。

ヒト介入試験では、ヒト免疫機能に対するサラシアエキス粉末の作用を検

証することを目的とした。スクリーニングにより選抜された、免疫機能が低下した（加齢やストレスで低下する複数の免疫学的指標を総合的に評価した免疫カスコアが低値（<IV）であった）50歳以上60歳未満の日本人健常男性30名を対象として、サラシアエキス粉末の摂取試験を二重盲検並行群間比較法にて行った。被験食として、サラシアエキス粉末を240 mg/day含有する錠剤と、サラシアエキス粉末含有錠剤と見分けがつかないように設計したプラセボ錠剤を作製し、無作為割付を行った被検者（各群15名）に4週間（28日間）摂取させた。低侵襲で評価可能な手法の検討を行い、血液の遺伝子発現解析と免疫学的指標評価、糞便の腸内細菌叢解析を実施することとした。血液（末梢血）の遺伝子発現解析（DNA マイクロアレイ）は、ヒトに対するサラシアエキス粉末の作用メカニズム解明を目的として、サラシアエキス粉末摂取群で実施した。さらに免疫機能に対する作用検証を行うため、血液を用いて各種免疫学的指標（免疫細胞数、免疫細胞増殖係数、サイトカイン産生量等）評価を行った。また、ヒト腸内細菌に対するサラシアエキス粉末の作用を検討するため、糞便を用いて腸内細菌叢を解析（T-RFLP法）した。血液を用いた遺伝子発現解析では、免疫関連遺伝子、特にTh1細胞に関わる遺伝子（Interferon signaling 関連遺伝子）の発現が増加しており、ラットだけではなく、ヒトにおいても、サラシアエキス粉末が細胞性免疫を誘導する可能性が示された。また、Interferon signaling 以外の炎症関連遺伝子の発現は減少していた。血液の免疫学的指標の評価では、加齢とともに低下するT細胞増殖係数の向上や、各種ヘルパーT細胞への分化能を有するCD4⁺ naive T細胞数の増加傾向、炎症性サイトカインであるIL-6産生量の減少傾向が確認され、表現型としても免疫賦活作用および炎症抑制作用が示された。腸内細菌叢解析では、*Bifidobacterium* 比率の上昇とLactobacillales 比率の上昇傾向、Clostridiaceae 比率の低下が確認でき、サラシアエキス粉末がヒト腸内細菌叢を顕著に変化させることが明らかになった。サラシアエキス粉末摂取により比率が上昇した*Bifidobacterium* は加齢に伴い減少することが知られている。また、*Bifidobacterium* やLactobacillales は免疫機能調節作用が確認されており、サラシアエキス粉末がヒトにおいて腸内細菌叢コントロールを通じて、加齢に伴い低下する免

疫機能を回復させ、生体防御機能を高める可能性を示した。

以上の結果から、サラシアエキス粉末は糖の吸収抑制作用だけでなく、免疫機能を調節する作用を有していることが示唆された。

推定される作用メカニズムは、サラシアエキス粉末に含まれるチオ糖が小腸の α -グルコシダーゼの作用を阻害し、吸収されなかった糖（オリゴ糖）が腸内細菌叢を変化させる。増加した菌や菌体成分が小腸パイエル板から取り込まれ、樹状細胞などを通じて抗原提示され、細胞性免疫を誘導するとともに、アレルギーなどの過剰な炎症反応を抑制することにより、免疫機能を調節するというものであるが、サラシアエキス粉末に含まれるチオ糖以外の成分や代謝産物の分析も含めた、多面的な検証が必要である。

アレルギーやがん、炎症性腸疾患などの発症や増悪には、免疫機能の異常が関与することが示唆されている。また免疫機能が低下することにより、感染や重症化のリスクが高まる。サラシアエキス粉末は、加齢やストレス等により低下する免疫機能を回復させ、生体機能を調節する可能性が示されたことから、疾病予防効果が期待できる。今後、人々の QOL (Quality of Life) 向上に貢献するため、よりいっそう積極的に研究に取り組んでいきたい。