

ユズ種子オイルの経口摂取による抗酸化能に関するヒト介入試験

浅野公人^{1,2}、渡部嘉哉³、宮本美緒³、松浦 梓³、川村巧成³、北添範子³、東谷望史²、溝渕俊二^{1,3}

¹高知大学大学院 黒潮圏総合科学専攻、²馬路村農業協同組合、³高知大学医学部臨床看護学

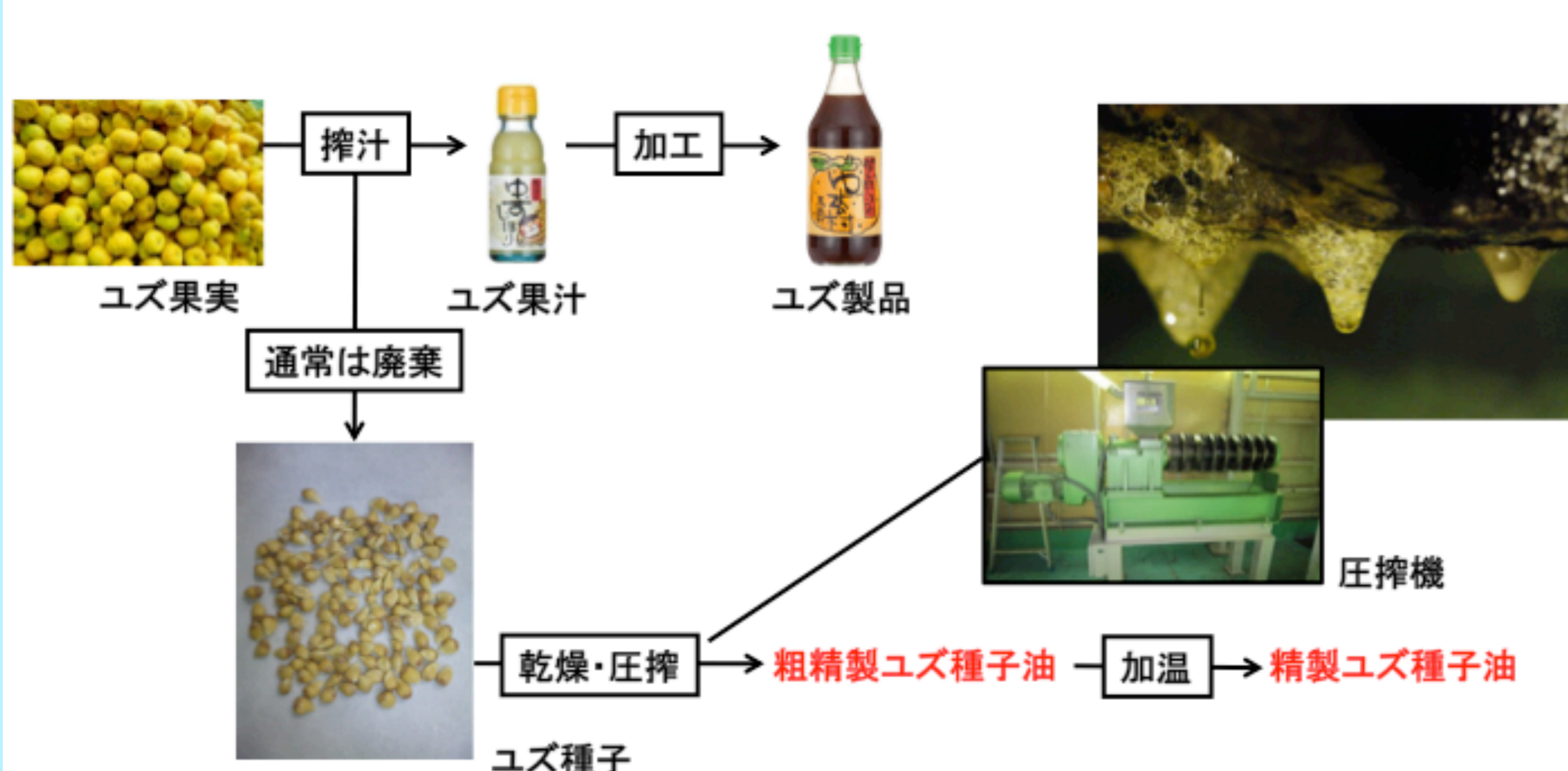
【目的】 我々はこれまで馬路村農業協同組合が製造するユズ種子オイルに関する研究を行ってきた。本学会ではユズ種子オイルの機能性の一つとして見出した抗酸化力に関する報告を行う。*In vitro* でHypoxanthine-Xanthine oxidase系で産生するSuperoxideに対して、ユズ種子オイルにはsuperoxide dismutase(SOD)様活性があることを見出した。また、マウスにユズ種子オイルを経口投与し、脂質過酸化量を指標とした解析を試みたところ、マウス生体内でも抗酸化能が発揮されることが確認された。本研究では、ユズ種子オイルをゼラチンカプセルに封入し、ヒト介入試験として健常人に摂取して頂き、ユズ種子オイルがヒトの生体内でも抗酸化能を有しているかの検証を行った。

◎倫理的配慮

ヒト介入試験は高知大学医学部倫理委員会で審査を受け(受付番号:26-77)承認を得、UMINに登録後実施した。対象者には、紙面で研究の目的・内容を説明し、研究参加は自由意志とした。試験の実施には、関連法令、指針を遵守した。

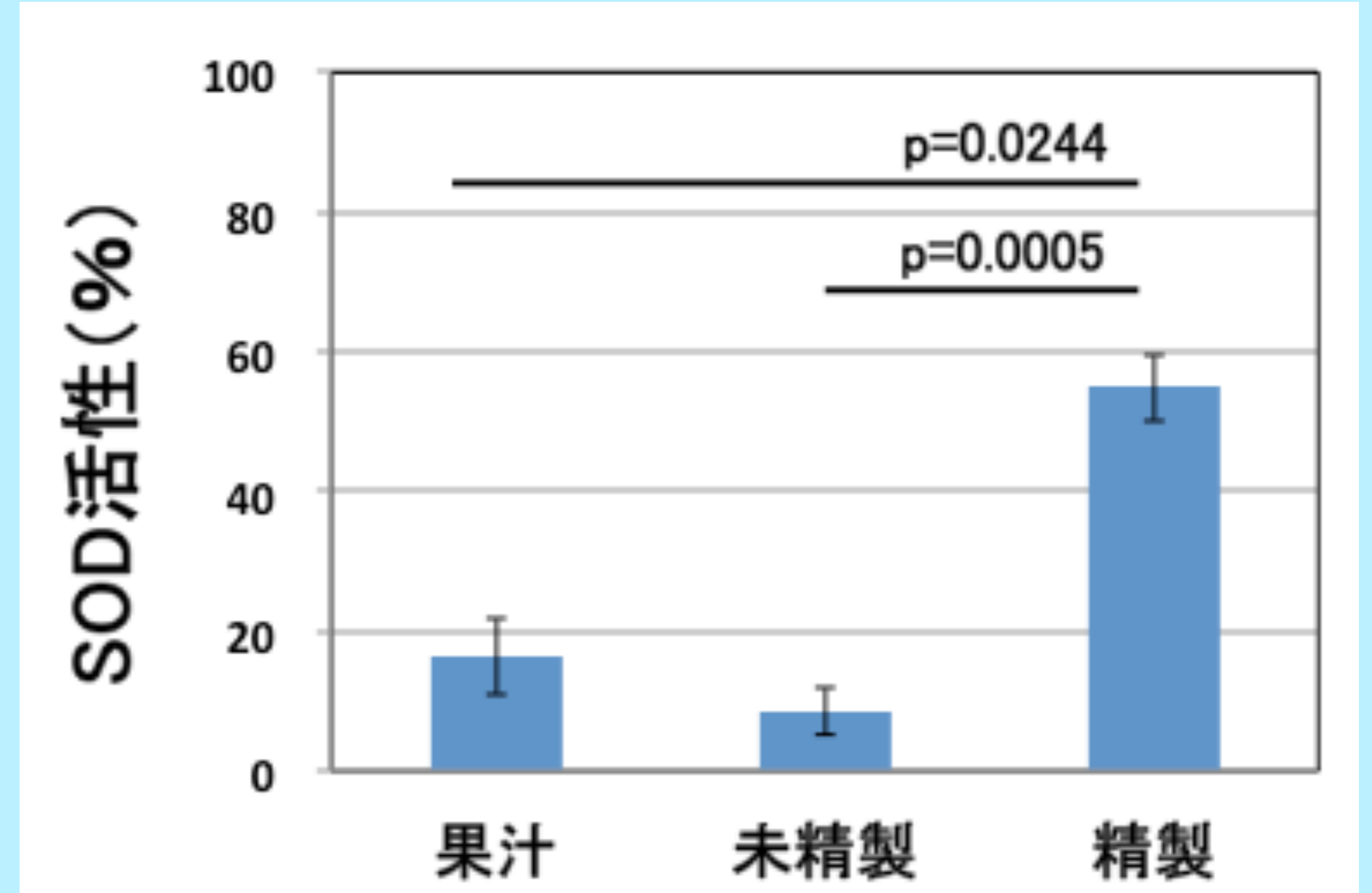
動物実験は本学動物実験委員会の承認を得、関連法令、関連学内指針を遵守して実施した。

ユズ種子オイル



ユズ種子オイルは、種子を特殊な装置で圧搾することにより抽出される。生産量が少なく希少価値の高い純国産植物油である。本研究では、粗精製ユズ種子オイル(未精製)と精製ユズ種子オイル(精製)を用いて、抗酸化能に関する解析を行った。

In vitro でのユズ種子オイルのSOD様活性

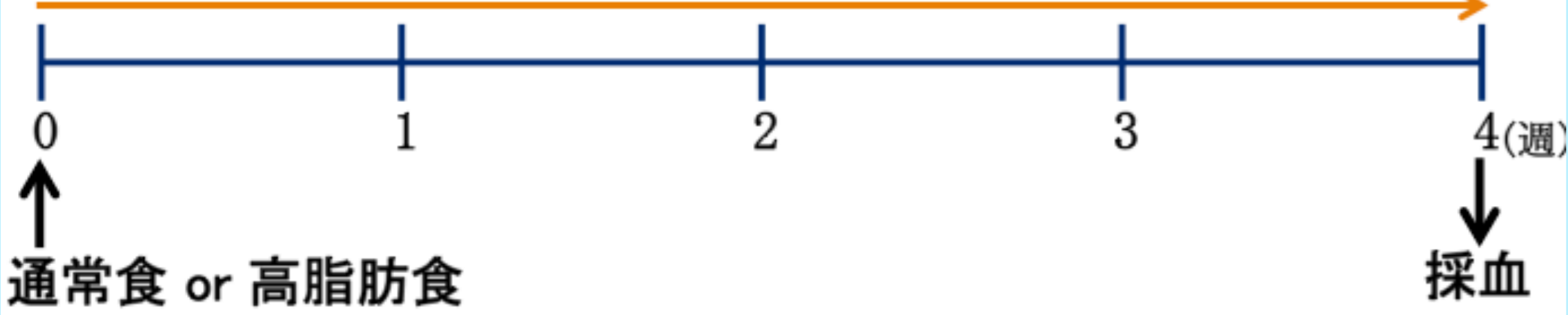


*In vitro*でユズ種子オイルが有するsuperoxide dismutase(SOD)様活性は、Hypoxanthine-Xanthine oxidase系で産生されるSuperoxideの消去能から算出した。Superoxide産生量はWST法の変法である、水溶性テトラゾリウム塩 WST-1 を用いて比色法で測定した。SOD様活性は精製群が最も強かった。

マウスへの経口投与条件

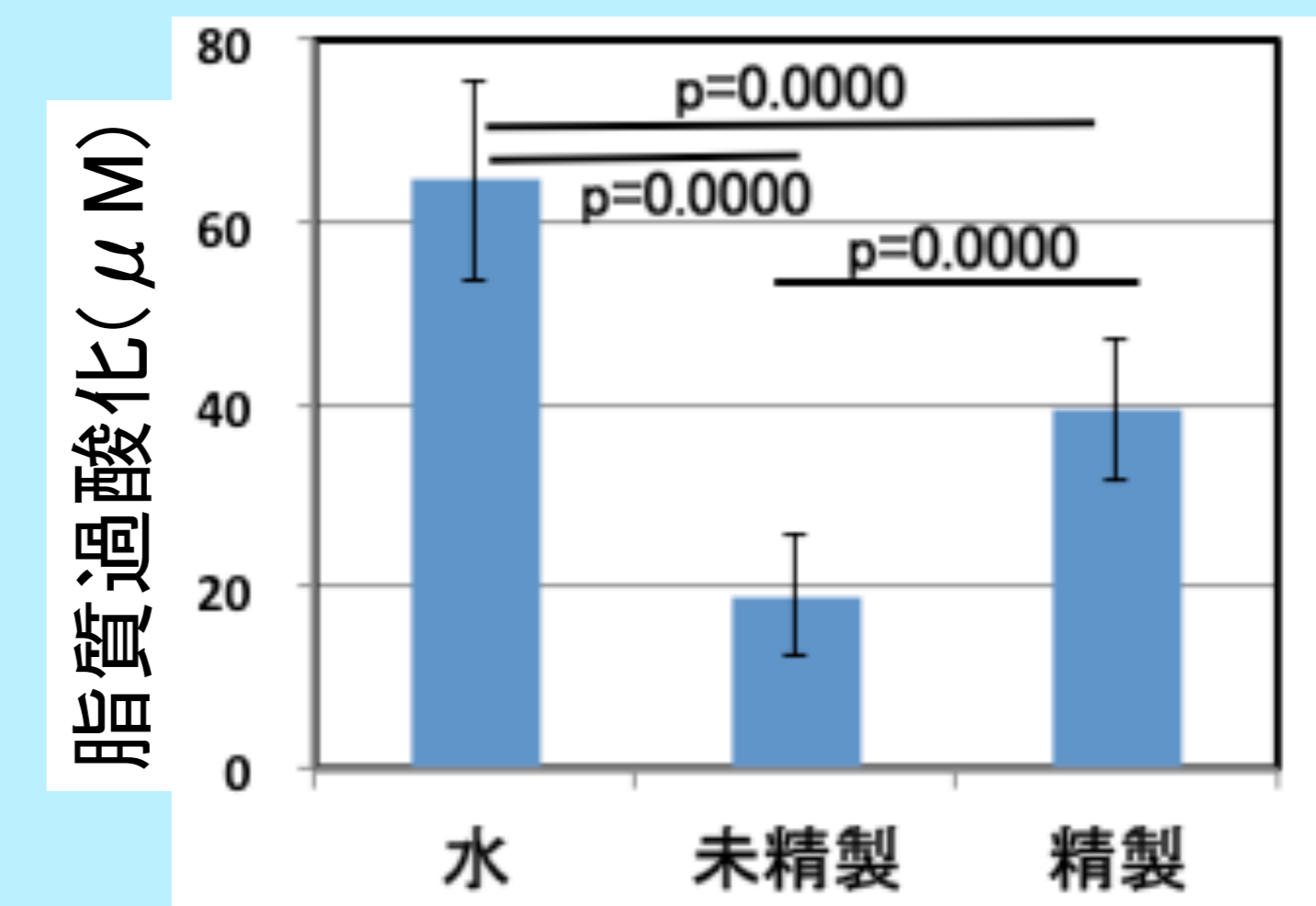
- ◎実験群
 - ①対照群(水)
 - ②未精製ユズ種子オイル
 - ③蒸留ユズ種子オイル
- ◎高カロリー食による生体内過酸化の促進
 - 通常食群(CE-2; マウス・ラット用一般飼料)
 - 高脂肪食群(CE-2+ コレステロール2%・コラーゲン1%・ヤシ油5%)
- ◎投与方法 : ソンデによる経胃投与
- ◎評価手法
 - 血清中の過酸化脂質量を(2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 2-チオバルビツール酸反応性物質として測定。

ユズ種子オイル経口投与(0.2 ml/マウス/日)



ICRマウス、♀、実験開始時8週齢を用い、各群n=10で解析を行った。ユズ種子オイルの投与期間は28日間とし、試料の投与は試験終了まで1日1度、午前8時から10時の間に行った。比較対照群である水100 μlおよびオイル群であるユズ種子オイル100 μlは、ゾンデを用いて胃内へ直接投与した。餌は生体内での脂質過酸化反応を促進させる目的で、高脂肪食(CLEA社製D15001(CE-2+コレステロール2%・コラーゲン1%・ヤシ油5%))を用いた。麻酔下でマウスから全血を採取し、血清を分離し、過酸化脂質のマーカであるmalondialdehyde(MDA)と4-hydroxyalkenals(HAE)を比色法で定量し脂質過酸化量の評価を行った。

ユズ種子オイル投与マウスの血清脂質過酸化量



水群に対するt検定を行った際のp値は、未精製群でp=0.0000、精製群p=0.0000と未精製、精製ともに統計的有意差があった。*In vitro*では未精製の方が精製群より強い効果を有しており、未精製と精製との間で統計的有意差(p=0.0000)があった。以上の結果から、ヒト介入試験には未精製オイルを用いることとした。

ヒト介入試験

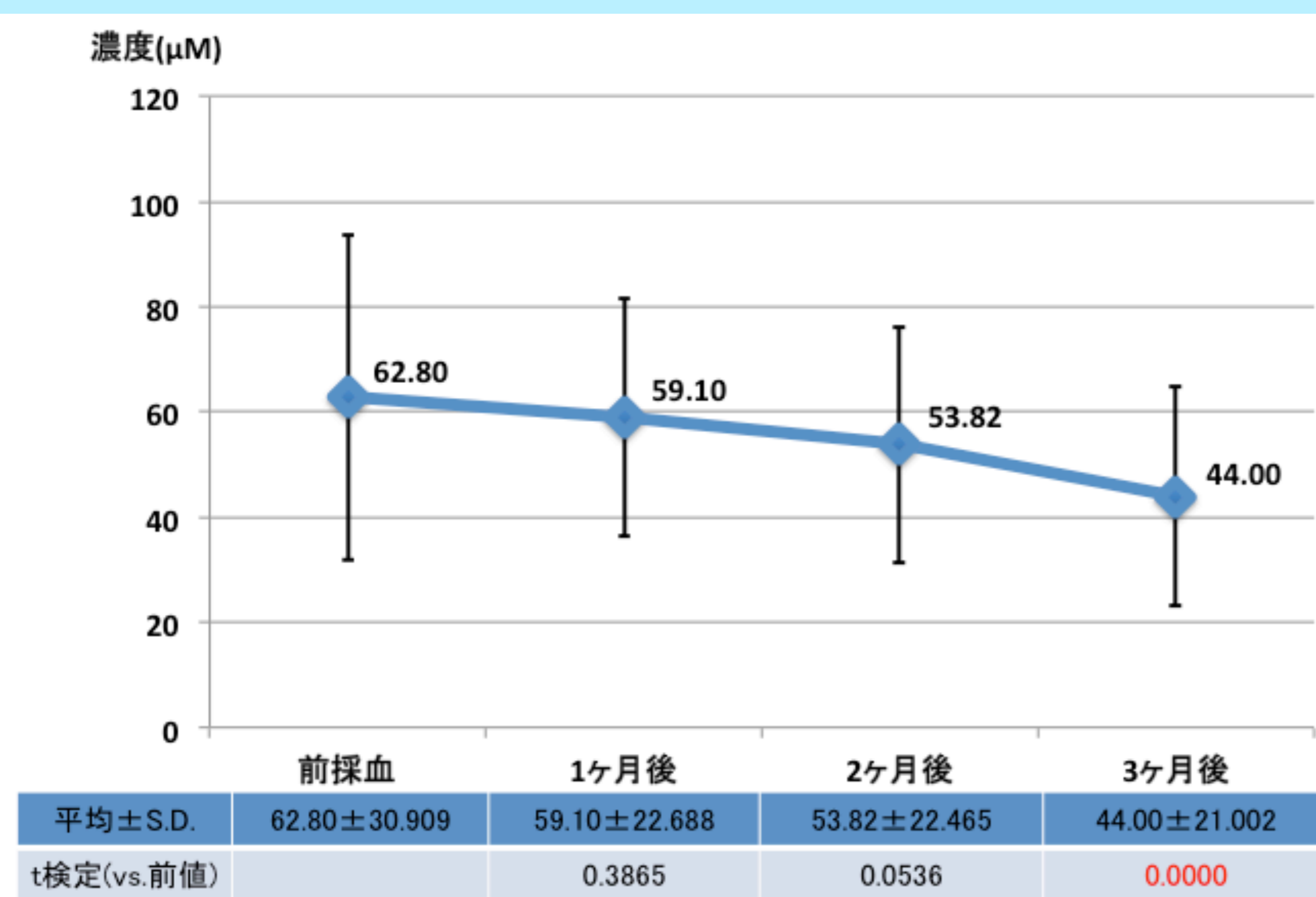
- 被験者数 : 45名 (男性21名、女性24名 平均年齢 42.5 ± 13.34歳)
- 試験群 : ユズ種子オイル充填カプセル(0.8g/個)の摂取量ごとに3群に分け、それぞれ3ヶ月間経口摂取していただく。
 - ①1日4個 (ユズ種子オイル3.2g/日 男性7名、女性8名)
 - ②1日6個 (ユズ種子オイル4.8g/日 男性7名、女性8名)
 - ③1日8個 (ユズ種子オイル6.4g/日 男性7名、女性8名)
- 採血 : 摂取前、摂取1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後

対象者は、公募により募集した20歳以上の判断能力を有する健常人ボランティアとした。試験参加前に、介入試験の目的及び内容、期待される利益の有無、被る可能性のある不利益について十分な説明をし、書面にて本介入試験への参加の同意をいただいた。被験者の除外基準は、既に何らかの疾患を有しており、試験開始時点で積極的な治療中である方とした。ただし、服薬していても、試験期間を通してその内容に変更がなければ試験への参加を可とした。

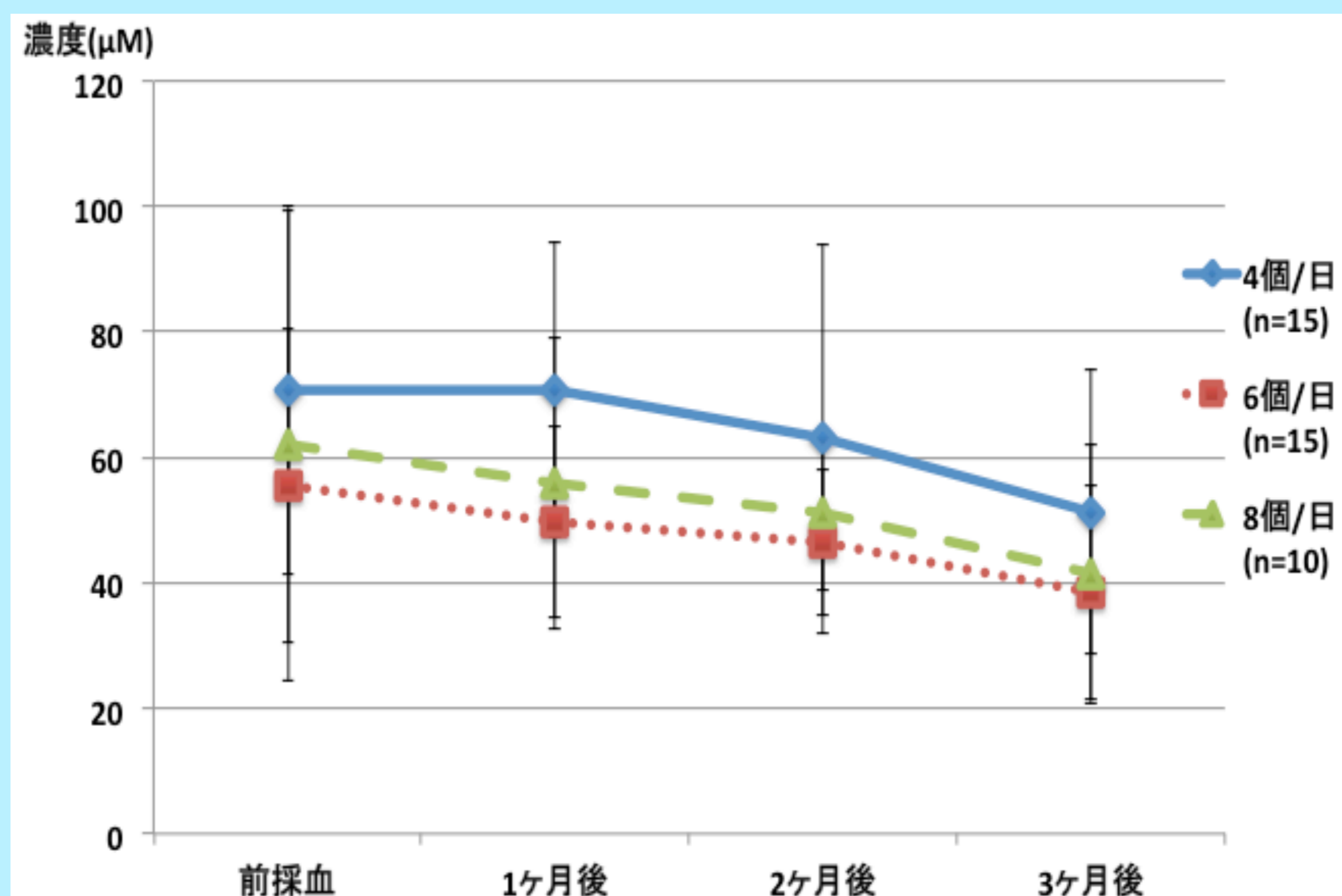
未精製ユズ種子オイルは独特の苦味を有するため、ゼラチンカプセルに封入し提供した。本試験では、有効摂取量の検討が目的の一つであったため、1日に摂取するユズ種子オイルカプセルの個数によって3つのグループ(4個(2個/回×2)群、6個(3個/回×2)群、8個(4個/回×2)群)を設定し、各群15名ずつ被験者を振り分けた(計45名)。尚、割付は封筒法で行った。

左図は開始時の被験者数を示している。被験者の中で、システム上測定範囲外の値が出た被験者およびその他の理由で合計5名を除外したため、有効データ数は40例となった。(4個群15例 6個群15例 8個群10例)

ユズ種子オイル摂取後の血清脂質過酸化量の推移



被験者全体の血清脂質過酸化量の推移を平均値±S.D.で示した。前値に対するt検定を行ったところ、摂取3ヶ月後にはp=0.0000と、統計的有意差を持って血清脂質過酸化量が低減していた。つまり、ユズ種子オイルの経口摂取によって、生体内で抗酸化力が発揮されたことが示唆された。



個数別の血清脂質過酸化量の推移を平均値±S.D.で示した。前値に対するt検定を行ったところ、どの群も摂取3ヶ月後には統計的有意差を持って血清脂質過酸化量が低減していた。つまり、1日に4個摂取していただければ、抗酸化力が期待されることが示唆された。

現在、ユズ種子オイルにより発揮される抗酸化能の作用機序の解析をしている。ユズ種子オイルが含有するフラボノイド等抗酸化物質による直接的な作用と、ユズ種子オイル経口摂取によって生体内で誘導される物質による効果の二つの方向性で研究を行っている。抗酸化力を有し生体内で誘導される物質として、マウスでユズ種子オイル経口摂取によりアディポネクチンが誘導されることを見出しており、抗酸化能との関連性についても検証中である。