



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Study on the Physiological Functions of  
Water-Soluble Fractions Purified from Defatted  
Sesame Seed Flour

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-11-13 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Sana Ben Othman メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/54539">http://hdl.handle.net/20.500.12099/54539</a>

氏 名 (本国籍)	Sana Ben Othman (チュニジア共和国)
学位の種類	博士 (農学)
学位記番号	農博甲第652号
学位授与年月日	平成28年3月14日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	Study on the Physiological Functions of Water-Soluble Fractions Purified from Defatted Sesame Seed Flour (脱脂ゴマ粉末由来水溶性画分の生理機能の検討)
審査委員会	主査 岐阜大学 教授 光永 徹 副査 岐阜大学 准教授 矢部 富雄 副査 静岡大学 教授 河合 真吾 副査 岐阜大学 助教 北口 公司

## 論文の内容の要旨

ゴマ (*Sesamum indicum* L.) は、古くから世界中で食材として利用されており、特に50%程度という含油率の高さから、年間世界生産量の約70%は油の抽出のために使用されている。ゴマ油の特徴は酸化安定性にあり、これはゴマに含まれるトコフェロールとセサミンやセサモールといったゴマリグナンの存在が要因として考えられている。これらゴマリグナンは、機能性食品成分として盛んに研究が進められている。一方、ゴマ油抽出後の脱脂ゴマ粉末は、産業廃棄物として処分されており、これまで含有成分の分析や機能性評価に関する研究は行われていなかった。本論文は、脱脂ゴマ粉末について含有成分の機能性を評価することにより、脱脂ゴマ粉末が機能性食品成分の供給源として利用可能かを考察した。

本研究では、白ゴマおよび金ゴマの脱脂粉末より抽出した水溶性画分を試料として使用している。先行研究において、これら水溶性画分が *in vitro* で高い抗酸化活性を示し、また、UPLC-MS 分析によってその活性がフェルラ酸とバニリン酸に由来することを同定している。そこで本研究では、まず白ゴマおよび金ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分の生理機能を検討するため、*in vitro* 細胞モデルとして、ヒトBリンパ細胞である Raji 細胞とヒト神経芽細胞である SH-SY5Y 細胞を用いて、ペルオキシラジカルおよび過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 誘導性の酸化ストレスに対する保護効果を解析した。

まず、ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分またはフェルラ酸やバニリン酸を Raji 細胞に

添加し、その後に 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH) に細胞を暴露することで酸化ストレスを誘導して、ゴマ由来成分による細胞の保護効果を検討した。その結果、AAPH 由来ペルオキシラジカル誘導性の細胞膜の損傷に対して、ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分が保護効果を有することが示され、その効果がこの画分に存在するフェルラ酸やバニリン酸に由来する可能性が高いことが示された。続いて、SH-SY5Y 細胞を用いて同様に実験を行ったところ、保護効果を示さなかったことから、5 mM AAPH と試料を共存させた状態で保護効果を検討した。その結果、神経細胞に対しては、AAPH とゴマ由来水溶性画分が共存する際にのみ保護効果が発揮されることが示され、細胞外においてゴマ由来成分が AAPH に直接作用して機能していることが示唆された。さらに、この効果は表面の細胞膜の酸化による損傷を防ぐことで発揮されていることを確認した。一方、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 誘導性の酸化ストレスに対しては、SH-SY5Y 細胞において、細胞にゴマ脱脂粉末由来水溶性画分をあらかじめ 12 時間添加し、その後に H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に細胞を暴露しても細胞の生存率が上昇したことから、ゴマ由来水溶性画分が、細胞内シグナル伝達系の活性化を介して細胞の抗酸化機構を増強させ、酸化的損傷から細胞を保護している可能性が示唆された。そこで、抗酸化効果を発揮するストレスタンパク質の一種である、ヘムオキシゲナーゼ (HO-1) とグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) の遺伝子発現量、およびその転写因子である Nrf-2 タンパク質の核内移行量を測定したところ、HO-1 の有意な発現上昇および Nrf-2 タンパク質の核内への移行の増加傾向がみられた。以上より、白ゴマおよび金ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分には、細胞外の活性酸素種による酸化ストレスからの細胞保護効果および細胞内の抗酸化機構促進効果を示す化合物が存在し、候補物質としてフェルラ酸とバニリン酸が示された。

続いて、白ゴマ由来水溶性画分にのみ SH-SY5Y 細胞の生存率上昇効果がみられ、Raji 細胞や腸管上皮細胞の Caco-2 細胞に対してはこの効果が見られなかったことから、白ゴマ由来水溶性画分には神経細胞保護機能を有する成分が含まれる可能性が示された。また、この神経細胞保護機能は、フェルラ酸やバニリン酸に由来する抗酸化活性には依存していないため、未知の機能性化合物が存在すると考えられる。さらに、カンプトテシンを用いてアポトーシスを誘導した SH-SY5Y 細胞に白ゴマ由来水溶性画分を添加すると抗アポトーシス効果がみられることが、フローサイトメトリーおよび細胞増殖アッセイによって確認された。そこで、この効果の作用機序を検討するため、アポトーシスに関わるシグナル伝達経路を調査した結果、抗アポトーシスタンパク質の Bcl-2 の発現上昇およびアポトーシス促進性タンパク質の Bax や p53 の mRNA 発現の有意な減少を引き起こすことを見出した。

以上、本学位論文で、ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分には、抗酸化効果を発揮する化合物および神経保護効果を発揮する化合物がそれぞれ含まれていることを明らかにし、脱脂ゴマ粉末が機能性食品成分の供給源として利用できる可能性が高いことを提案した。

## 審査結果の要旨

ゴマ (*Sesamum indicum* L.) は、古くから世界中で食材として利用されており、特に 50%程度という含油率の高さから、年間世界生産量の約 70%は油の抽出のために使用されている。ゴマ油の特徴は酸化安定性にあり、これはゴマに含まれるトコフェロールとセサミンやセサモールといったゴマリグナンの存在が要因として考えられている。これらゴマリグナンは、機能性食品成分として盛んに研究が進められている。一方、ゴマ油抽出後の脱脂ゴマ粉末は、産業廃棄物として処分されており、これまで含有成分の分析や機能性評価に関する研究は行われていなかった。申請者は、本研究において、脱脂ゴマ粉末について含有成分の機能性を評価することで、脱脂ゴマ粉末が機能性食品成分の供給源として利用可能かを考察した。

白ゴマおよび金ゴマの脱脂粉末より抽出した水溶性画分を本研究では試料として使用している。先行研究において、これら水溶性画分が *in vitro* で高い抗酸化活性を示し、また、UPLC-MS 分析によってその活性がフェルラ酸とバニリン酸に由来することを同定している。そこで申請者は、まず白ゴマおよび金ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分の生理機能を検討するため、*in vitro* 細胞モデルとして、ヒト B リンパ細胞である Raji 細胞とヒト神経芽細胞である SH-SY5Y 細胞を用いて、ペルオキシラジカルおよび過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) 誘導性の酸化ストレスに対する保護効果を解析した。具体的には、ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分またはフェルラ酸やバニリン酸を細胞に添加し、その後 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH) や  $H_2O_2$  に細胞を暴露することで酸化ストレスを誘導して、ゴマ由来成分による細胞の保護効果を検討した。その結果、AAPH 由来ペルオキシラジカル誘導性の細胞膜の損傷に対して、ゴマ脱脂粉末由来水溶性画分が保護効果を有することが示された。また、この効果が AAPH と共存する際にのみ発揮されることから、細胞外においてゴマ由来成分が AAPH に直接作用していることが示唆された。一方、 $H_2O_2$  誘導性の酸化ストレスに対しては、SH-SY5Y 細胞において、細胞にゴマ脱脂粉末由来水溶性画分をあらかじめ 12 時間添加し、その後  $H_2O_2$  に細胞を暴露しても細胞の生存率が上昇したことから、ゴマ由来水溶性画分は、細胞内シグナル伝達系の活性化を介して細胞の抗酸化機構を増強させ、酸化的損傷から細胞を保護している可能性が示唆された。

さらに、白ゴマ由来水溶性画分にのみ SH-SY5Y 細胞の生存率上昇効果がみられ、Raji 細胞や腸管上皮細胞の Caco-2 細胞に対してはこの効果が見られなかったことから、白ゴマ由来水溶性画分には神経細胞保護機能を有する成分が含まれる可能性が示された。また、この神経細胞保護機能は、フェルラ酸やバニリン酸に由来する抗酸化活性には依存していないため、未知の機能性化合物が存在すると考えられる。さらに、カンプトテシンを用いてアポトーシスを誘導した SH-SY5Y 細胞に白ゴマ由来水溶性画分を添加すると抗アポトーシス効果がみられた。この効果の作用機序を検討するため、アポトーシスに関わるシグナル伝達経路を調査した結果、抗アポトーシスタンパク質の Bcl-2 の発現上昇およびアポトーシス促進性タンパク質の Bax や p53 の mRNA 発現の有意な減少を引き起こすことを見出した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

以上の結果は、以下の論文にまとめられ、学位論文の基礎となる公表論文となっている。

- Sana BEN OTHMAN, Nakako KATSUNO, Yoshihiro KANAMARU, and Tomio YABE. Water-soluble extracts from defatted sesame seed flour show antioxidant activity *in vitro*. *Food Chemistry*, **175**, 306-314, 2015.
- Sana BEN OTHMAN and Tomio YABE. Use of hydrogen peroxide and peroxy radicals to induce oxidative stress in neuronal cells. *Reviews in Agricultural Science*, **3**, 40-45, 2015.