

論文審査報告書

氏名	とみもり なみの 富森 菜美乃
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	論博生第9号
学位授与日	令和2年3月20日
論文題目	ADMET Studies for Sesamin and Episesamin (セサミンとエピセサミンの ADMET (吸収、分布、代謝、排泄、毒性) 研究)
論文審査委員	(主査) 富山県立大学 教授 榊 利之 教授 中島 範行 教授 生城 真一 東京家政大学 教授 小西 康子

内容の要旨

申請者はゴマに含まれるリグナン類であるセサミンとその立体異性体であるエピセサミンの吸収、分布、代謝、排泄および毒性について詳細な解析を行った。結果を以下の4章に示す。

(1) ラットにおける ^{14}C セサミンの吸収・分布・代謝・排泄

^{14}C セサミンを用いて、ラットにおける体内動態を定量的に明らかにした。ラットに経口投与した ^{14}C セサミンは迅速に吸収され、半減期4.7時間で速やかに血中から消失した。静脈内投与時と経口投与時のAUCとの比較により、見かけの吸収率は54%と見積もられた。

^{14}C セサミンを経口投与し全身オートラジオグラフィにより組織分布を確認したところ、 ^{14}C セサミンは広く全身に分布し、特に投与後1時間の肝臓および腎臓にはそれぞれ血液の6倍、4倍と高濃度に存在することが明らかとなった。

経口投与されたセサミンは尿および糞から排泄され、投与後72時間までの尿中排泄率は38%、糞中排泄率は59%であり、尿および糞からの回収率は97%に達した。セサミンの代謝物が胆汁中に排泄されることが報告されていたため、胆汁排泄試験により排泄率を確認した。 ^{14}C セサミンを経口投与し胆汁及び尿中の放射活性を測定したところ、投与後48時間までに胆汁中へ66%、尿中へ28%排泄された。胆汁及び尿中排泄率の合計より、投与した ^{14}C セサミンの実に94%が吸収されたことも明らかとなった。見かけの吸収率が低く見積もられた原因として、高い胆汁排泄が考えられた。

^{14}C セサミンを経口投与したラットの血漿、尿、糞、肝臓および腎臓中の代謝物プロファイルをラジオクロマトグラムを用いて検討した。その結果、セサミンはP450により1つないし2つのメチレンジオキシフェニル部分が酸化的脱メチレン化してカテコールに変換され2つの代謝物(SC1, SC2)が生成し、さらにメチル化、

グルクロン酸抱合または硫酸抱合化され、血漿のみならず肝臓および腎臓において主に抱合体代謝物として存在することがわかった。投与7～8時間後の血漿や尿中には、腸内細菌により生成するエンテロラクトンおよびエンテロジオールを検出したが、これらは主に胆汁中に排泄された抱合体代謝物から生成したもので、全代謝物に占める割合は数%であった。

本研究により、 $[^{14}\text{C}]$ セサミンを用いて、セサミンの体内での吸収・分布・代謝・排泄を定量的に把握した。経口投与した $[^{14}\text{C}]$ セサミンは90%以上が体内に吸収され、全身に広く分布し、特にセサミンのターゲット臓器である肝臓と腎臓に抱合体代謝物の形で高濃度分布していることがわかった。またセサミンの有効性に、抱合体代謝物が寄与している可能性を示唆するものである。

(2) ラット胆汁およびヒト肝マイクロソームにおけるエピセサミン代謝物の同定

エピセサミンの体内動態はほとんど知られていなかったが、セサミンと同様の代謝を受けると推測された。そこで、ラットにエピセサミンを経口投与し、胆汁中に排泄された代謝物をHPLCにより分取精製し、NMRおよびMSにて構造を同定した。その結果、エピセサミンの片方または両方のメチレンジオキシフェニル部分がP450により酸化的脱メチレン化してカテコールに変換され3つの代謝物(EC-1 2種、EC-2 1種)さらにそれらがメチル化された4つの代謝物(EC-1m 2種、EC-2m 2種)を同定した。

次に、ヒト肝マイクロソームを用いて、ヒトにおけるセサミンおよびエピセサミンの代謝物を同定した。ラット同様、ヒトにおいてもP450によりセサミンから2つの代謝物(SC-1, SC-2)、エピセサミンからは3つの代謝物(EC-1 が2種, EC-2)が生成することがわかった。

ヒトにおけるセサミンおよびエピセサミンの体内動態を調べるため、エピセサミンをアセトキシ化し、続いて加水分解することでエピセサミンの代謝物(EC-1 2種、EC-2 1種)標品を調製した。

(3) ヒトにおけるゴマリグナン(セサミンとエピセサミン)の体内動態と安全性

健康成人男女 48 名を対象に、単盲検プラセボ対照並行群間比較試験を実施し、セサミンとエピセサミンを含むサプリメントを用いて、体内動態と安全性の確認を行った。被験者は無作為に2つのグループに分け、セサミン/エピセサミン = 1/1 の混合物 50 mg またはプラセボを1日1回28日間継続摂取させ、安全性を評価した。評価は、身体検査、バイタルサイン(血圧と脈拍数)、臨床検査(血液生化学、血液学、尿検査)、および医師による問診により行った。本試験において、試験食品摂取に起因する有害事象は観察されなかった。

セサミンおよびエピセサミンの体内動態は、セサミン/エピセサミン = 1/1 の混合物を摂取した被験者24名のうち10名を用いて評価した。体内動態試験により得られた血漿中のセサミン、エピセサミンおよび代謝物濃度は β -glucuronidase/arylsulfataseを用いた加水分解処理後に固相抽出を行い、LC-MS/MSにて測定された。

血漿中のセサミン、エピセサミンは投与後5時間で最大となりその後減少した。血漿中にはセサミン、エピセサミンよりも代謝物(SC1, EC1-1 および EC1-2 のグルクロン酸または硫酸抱合体)が高濃度に存在し、セサミン、エピセサミンと同様に投与後5時間で血漿中濃度は最大となりその後速やかに減少した。このことから、セサミンとエピセサミン、特にセサミンで初回通過効果が大きいことが示唆された。

セサミンおよびエピセサミンの血漿中濃度は摂取開始7日目までに定常状態に達した。また、28日間反復投与後のセサミンおよびエピセサミンの血漿中濃度推移は、単回投与時の血漿中濃度推移から積み重ねの原理により予測された血中濃度推移とよく一致し、単回投与の単純な繰り返しにより説明できた。こと

のことから、セサミンおよびエピセサミンに蓄積性は認められなかった。

これらの結果より、ヒトにおいて、セサミンおよびエピセサミン摂取時の体内動態と安全性が確認された。

(4) CHL/IU 細胞におけるセサミン代謝物による染色体異常メカニズム

In vivo 評価(骨髄小核試験、肝コメット試験)においてセサミンに遺伝毒性はないものと判断されているが、CHL/IU 細胞用いた染色体異常試験においては代謝活性化システム(S9 mix)の存在下でのみ染色体異常を誘発することが報告されていた。

代謝活性化システム(S9 mix)の存在下ではセサミンから SC-1 が生成しており、CHL/IU 細胞において SC-1 は染色体異常を誘発することを確認した。SC-1 による染色体異常誘発作用について詳細を調べると、SC-1 は培地と一緒に 37°C でインキュベーションすると速やかに分解し、不安定であることがわかった。しかし、培地中にグルタチオンを添加しておくことで SC-1 の分解速度は顕著に抑制され、CHL /IU 細胞における染色体異常誘発は抑制された。グルタチオンと SC-1 を添加した培地中には SC-1 のグルタチオン付加体が 2 種類検出されたことから、培地中で SC-1 がセミキノン/キノン体に変換されていることが示唆された。亜硫酸ナトリウム(キノン応答化合物)の添加も SC-1 による染色体異常誘導を抑制した。

HepG2 細胞においては、SC-1 は染色体異常を誘発しなかった。CHL / IU および HepG2 細胞の NQO1 (キノンの還元を触媒する細胞内酵素)活性を測定したところ、活性はそれぞれ 0.4 ± 0.6 および 313.9 ± 47.2 nmol / min / mg タンパク質であり、HepG2 細胞の NQO1 活性は CHL / IU 細胞の NQO1 活性よりもはるかに高かった。

これらの結果から、セサミンより生成した SC-1 が培地に含まれる微量金属等との反応によりセミキノン/キノン体に酸化され、細胞内に取り込まれ、染色体異常を誘発したものと考えられた。本メカニズムは、生体内では NAD(P)H quinone dehydrogenase1 や phase II 酵素によるセミキノン/キノン体の代謝機構が働くことからセサミンは生体内においては遺伝毒性を示さなかったことを支持するものである。

審査の結果の要旨

セサミンはゴマに含まれるリグナン類の主要成分で、抗酸化作用、脂質・コレステロール低下作用、肝障害抑制作用、高血圧抑制作用などのさまざまな生理活性作用があることが知られており、セサミンを含むサプリメントが数多く市販されている。しかし、セサミンの体内動態および生理作用メカニズムについては未知な部分が多い。申請者は、セサミンおよびその立体異性体であるエピセサミンの体内動態を明らかにするとともに、サプリメント形態でのヒトにおける安全性、および代謝に着目し染色体異常試験でのセサミンによる偽陽性メカニズムを明らかにした。これらの研究は、セサミンおよびエピセサミンの安全性と有効性に科学的根拠、妥当性を付与するものであり、学問的かつ実用的にきわめて価値が高い。

令和2年1月28日に博士論文の審査及び最終試験を行った。学力の確認については、化学、生物、英語の科目について口頭試験を行い、本学大学院博士後期課程を修了した者と同等以上の学力を有すると認めた。また、申請者は学術研究にふさわしい発表、討論ができ、本研究で用いられた研究手法と得られた結果を十分に理解していること、当該分野に関して博士としての十分な学識と独立して研究を遂行する能力を有するものと判定され、博士(工学)の学位論文として合格であると認められた。