



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道産アスパラガス未利用資源の有効利用に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	伊藤, 知洋
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第7198号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91865
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	ITO_Tomohiro_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博 士（農学）

氏名 伊 藤 知 洋

学 位 論 文 題 名

北海道産アスパラガス未利用資源の有効利用に関する研究

ストレスや疲労は現代社会において大きな問題となっている。特に、慢性ストレスは、うつ、睡眠障害、神経症状などの様々な疾病と関連している。ストレスは複雑な問題であり、ひとつの治療であらゆるストレスを取り除くことはできない。全ての生命体は、様々なストレスから生き残るための防御機構を有している。そのひとつが熱ショックタンパク質（heat shock protein : HSP）の発現である。

HSP は生物がストレスを受けた場合に細胞内に誘導されるタンパク質であり、熱及び細菌感染などの様々なストレス条件に曝された際に発現が上昇して細胞を保護する。一方で、生体は外界からのストレス刺激に対して、自律神経系、内分泌系、免疫系の応答を示すことが知られており、ストレスを評価する指標としては、問診などによる主観評価法、血圧などの生理信号による評価法、ストレス関連物質による評価法がある。また、ストレスと睡眠は密接に関わっており、コルチゾールなどのストレスホルモンの睡眠に対する影響などが明らかとなっている。

しかし、これまで HSP70 と睡眠の関係については詳細が明らかになっておらず、既存の HSP70 誘導物質も睡眠への影響に関する研究は進んでいないため、これらを解明することは、ストレスや睡眠をコントロールするための一助になり得ると考える。

そこで本研究は、HSP70 を誘導する素材がストレスを軽減し、良質な睡眠をもたらすために有益であるという仮説のもと、*Hsp70* mRNA の発現量の上昇活性を有する素材の探索、ヒトにおける *Hsp70* mRNA 発現、自律神経、ストレス指標及び睡眠への影響を評価し、HSP70 と睡眠の関係を解明することを目的に実施した。本研究の最終的な目標は HSP70 発現増強活性を有する機能性食品を開発し、ストレスや睡眠に悩む人達に安らぎをもたらすことである。

1) *Hsp70* mRNA の発現量の上昇活性を有する素材の探索及び製造方法の確立

北海道産の農水産物を収集し、熱水抽出物を作製した。得られた抽出物を用いてヒト子宮頸がん細胞（HeLa 細胞）における *Hsp70* mRNA の発現量の上昇活性を半定量 PCR により評価した。その結果、アスパラガス（*Asparagus officinalis*）若茎熱水抽出物に最も高い活性が認められ、活性物質探索の結果、新規化合物である(S)-(2-formylfuran-5-yl)methyl 5-oxopyrrolidine-2-carboxylate を発見するに至った。また、この化合物は生アスパラガスには含有されず、熱水抽出過程で生成することを明らかにした。さらに、原料としてのアスパラガスは、流通のために切り落とされる下端部が利用できることを明らかにし、酵素処理を行うことにより、この未利用資源を *Hsp70* mRNA の発現量の上昇活性を有する素材として工業レベルで製造可能にした。

2) *In vitro* 及び *in vivo* における酵素処理アスパラガス熱水抽出物 (ETAS) の *Hsp70* 発現量及びストレス指標に対する効果

酵素処理アスパラガス熱水抽出物 (ETAS) について、*in vitro* で *Hsp70* mRNA 及び HSP70 タンパク質発現量を評価し、さらに *in vivo* でマウス断眠モデルを用いて抗ストレス効果を検討した。その結果、*in vitro* で ETAS は濃度依存的に *Hsp70* mRNA 及び HSP70 タンパク質の発現量を上昇させた。また、*in vivo* ではストレス指標であるコルチコステロン濃度を有意に減少させるとともに、酸化ストレス指標としての血中の過酸化脂質量 (血清トリグリセライド (TG) 量に対する血清過酸化脂質 (LPO) 量比 (LPO/TG)) についても有意に減少させた。さらに、脱毛の発生率を抑制した。

この結果から、ETAS が抗ストレス効果を有し、身体的及び精神的ストレスを軽減することが示唆された。

3) 健常成人における ETAS の *Hsp70* mRNA 発現、ストレス指標及び睡眠に対する効果

ETAS の安全性を検討するため、Ames 試験、マウス骨髄小核試験、ラット急性及び亜慢性経口投与毒性試験を実施した結果、ETAS に毒性は認められなかった。さらに、3 つのヒト介入試験をデザインし、ETAS の血液細胞の *Hsp70* 発現、自律神経、ストレス指標及び睡眠への影響を評価した。

まず、20 名の被験者による非盲検試験 (試験 1) の結果、ETAS 摂取群は摂取前と比較して有意に血液細胞の *Hsp70* mRNA 発現量が上昇した。

次に、20 名の被験者による無作為化二重盲検プラセボ対照試験 (試験 2) の結果、ETAS 摂取群はプラセボ群と比較して、自律神経系 (ANS) 状態を表す指標のうち、トータルパワー (エネルギー)、ANS バランス及び肉体的ストレスの指標で有意に高いスコアが認められた。

さらに、18 名の被験者による無作為化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験 (試験 3) の結果、プラセボ摂取前後では血清及び唾液コルチゾールレベルが有意に増加したが、ETAS 摂取前後では著しい変化は認められなかった。また、唾液中のクロモグラニン A (s-CgA) に関しては、ETAS の摂取前後で有意な減少が認められた。同試験において、ETAS の睡眠に対する効果を検証した結果、ETAS は睡眠効率が 90%以上の被験者の実睡眠時間を有意に減少させ、90%以下の被験者の実睡眠時間を増加させる傾向を示した。また、アンケート調査から、ETAS 摂取により早朝覚醒の減少、悪夢を見る頻度の減少、食欲の増加が認められた。

この結果から、ETAS にはストレス関連ホルモンをポジティブに変化させ、さらに、被験者の睡眠の質を改善させる効果がある可能性が示された。

以上のことから、本論文のデータは ETAS が HSP70 を誘導してストレスを軽減し、良質な睡眠をもたらすために有益であるという仮説を支持するものである。